

مقایسه همزمان میزان هوموسیستئین در مایع آمنیوتیک و خون بیماران پره‌اکلامپسی شدید با گروه کنترل*

شهره ملک خسروی^{۱*}؛ نگین رضاوند^۱؛ مریم زنگنه^۱؛ فیروزه ویسی^۱؛ ندا سلیمانی ایبانه^۲؛ حمید نعمانی^۳؛ منصور رضایی^۴؛ مژگان کهزادی^۱

چکیده

زمینه: بررسی‌ها نشان می‌دهد که پره‌اکلامپسی با سطح بالای هوموسیستئین سرم مادر ارتباط دارد ولی مطالعات محدودی میزان هوموسیستئین را در مایع آمنیون بررسی کرده‌اند. هدف این مطالعه مقایسه میزان هوموسیستئین در مایع آمنیون و خون همزمان مادران باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی با گروه سالم بود.

روش‌ها: در یک مطالعه مقطعی تحلیلی، میزان هوموسیستئین در مایع آمنیون و سرم ۴۶ خانم باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید با ۴۶ خانم باردار طبیعی مقایسه شد. داده‌ها بانرم‌افزار SPSS و آزمون t مستقل تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین سطح سرمی هوموسیستئین سه‌ماهه سوم حاملگی در گروه پره‌اکلامپسی $3/965 \pm 1/8$ و در گروه سالم $3/05 \pm 1/87$ بود و تفاوت دو گروه از نظر آماری معنادار بود ($P=0/019$). میانگین سطح هوموسیستئین مایع آمنیون در سه‌ماهه سوم حاملگی در مادران مبتلا به پره‌اکلامپسی $11/11 \pm 7/41$ و در گروه سالم $8/15 \pm 5/71$ بود. از این لحاظ نیز دو گروه تفاوت معنادار آماری با هم داشتند ($P=0/035$). میانگین اختلاف بین هوموسیستئین سرم و Af در گروه پره‌اکلامپسی $7/14 \pm 6/01$ بود. این اختلاف در گروه سالم $5/1 \pm 4/34$ به دست آمد که از نظر آماری تفاوت معناداری با هم نداشتند ($P=0/065$).

نتیجه‌گیری: در افراد مبتلا به پره‌اکلامپسی، سطح هوموسیستئین در سرم و مایع آمنیون نسبت به خانم‌های باردار سالم بیشتر بود. بالاتر بودن سطح هوموسیستئین در مایع آمنیون خانم‌های پره‌اکلامپسیک می‌تواند نشان‌دهنده نقش جنین در پیدایش سندرم پره‌اکلامپسی باشد. کلیدواژه‌ها: پره‌اکلامپسی، مایع آمنیوتیک، هوموسیستئین.

«دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۱۳»

۱. مرکز تحقیقات حاملگی پرخطر، گروه زنان و مامایی، بیمارستان امام رضا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۳. گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۴. گروه آمار زیستی، مرکز تحقیقات توسعه اجتماعی و ارتقای سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

* عهده‌دار مکاتبات: کرمانشاه، بیمارستان امام رضا (ع)، گروه زنان و مامایی، تلفن: ۰۹۱۸۱۳۱۱۱۴۸

Email: dr_shmalek@yahoo.com

* این مقاله منتج از پایان‌نامه دانشجویی خانم ندا سلیمانی ایبانه جهت اخذ درجه دکترای تخصصی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.

مقدمه

فشارخون، پروتئینوری و انقباض عروقی سیستمیک در تمام ارگان‌ها مشخص می‌شود (۳). اتیولوژی این سندرم ناشناخته است، اما تحقیقات مداوم، روزنه امیدی در رابطه با بیماریابی، تشخیص و درمان این سندرم اختصاصی حاملگی ایجاد کرده است (۴ و ۵). مطالعات

پره‌اکلامپسی یکی از شایع‌ترین اختلالات دوران بارداری است که از علل اصلی مرگ و میر و عوارض مادری و جنینی محسوب می‌شود (۱). شیوع پره‌اکلامپسی در حاملگی حدود ۸-۶ درصد است (۲) و با افزایش

هوموسیستئین یک ترکیب بینابینی هنگام تبدیل متیونین به سیستئین است که در بعضی شرایط میزان آن افزایش یافته (تصویر ۱) و ثابت شده که می‌تواند موجب ضایعات اندوتلیال با مکانیزم پرولیفراسیون عضلات صاف جدار عروق و انقباض عروق و فعال کردن چسبندگی لکوسیت‌ها به جدار عروق شود (۹).



تصویر ۱- مسیر تبدیل سیستئین به متیونین و بالعکس

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک پژوهش مقطعی تحلیلی است که در سال ۱۳۸۹-۱۳۸۸ در بیمارستان معتضدی کرمانشاه انجام شد. از روش نمونه‌گیری در دسترس برای انتخاب نمونه‌ها استفاده شد. با توجه به انحراف معیار $S1=1/7$ و $S2=0/7$ در دو گروه و حداقل اختلاف ۰/۷ در سطح هوموسیستئین در دو گروه با سطح اطمینان ۹۵ درصد و توان ۸۰ درصد و با در نظر گرفتن فرض یک دامنه، حجم نمونه در هر گروه ۴۴ نفر محاسبه شد (۱۶). ۴۶ نفر خانم باردار در سه ماهه سوم حاملگی با تشخیص پره‌اکلامپسی شدید جزء گروه مورد دسته‌بندی شدند. معیارهای تعیین پره‌اکلامپسی شدید شامل افزایش فشارخون مساوی یا بیشتر از ۱۶۰/۱۱۰ میلی‌متر جیوه همراه با دو تا از علائم ذیل بود: پروتئینوری بیش از ۲ گرم در ۲۴ ساعت و یا بیش از ۲+ در نوار ادراری، سردرد، اختلالات بینایی، اولیگوری، درد قسمت فوقانی شکم، هیپر بیلی روبینمی، افزایش سطح کراتینین سرم، ترومبوسیتوپنی و افزایش آنزیم‌های کبدی. ۴۶ مورد خانم باردار سالم در سه‌ماهه سوم حاملگی نیز به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. هر دو گروه در سن حاملگی ترم بوده (۳۷ هفته کامل تا ۴۲ هفته) و به‌دلایل مامایی کاندید سزارین شده بودند. سن حاملگی براساس اولین روز آخرین پریود و

قبلی، اختلالات عملکرد اندوتلیوم و تهاجم ناکافی تروفوبلاست به عروق اسپیرال مادری را در ایجاد این اختلال مؤثر دانسته‌اند (۶ و ۷). مطالعات بسیاری نیز اختلالات عملکرد اندوتلیوم و سطوح بالای هوموسیستئین مادری و ارتباط مستقیم و مثبت آن‌ها با وقوع پره‌اکلامپسی را مورد بررسی قرار داده‌اند (۸).

در مطالعات قبلی نشان داده شده که سطوح هوموسیستئین در خانم‌هایی که بعداً به پره‌اکلامپسی مبتلا می‌شوند ممکن است در هفته ۲۴-۲۰ افزایش یابد (۴). علی‌رغم مطالعات فراوان در خصوص هوموسیستئین در سرم مادران باردار سالم و پره‌اکلامپتیک، در مطالعات محدودی میزان هوموسیستئین در مایع آمنیون مادران باردار بررسی شده است. بر طبق این مطالعات مشخص شد که در فرد حامله طبیعی، میزان هوموسیستئین سرم در سه‌ماهه اول حاملگی اندکی کاهش یافته و در سه‌ماهه دوم و سوم به حدود ۵۰ درصد خانم‌های غیرحامله می‌رسد. این کاهش سطح هوموسیستئین در حاملگی ممکن است به‌علت همودیولوشن یا کاهش آلبومین و اثرات کورتیزول و استروژن و افزایش نیاز به متیونین توسط جنین باشد (۱۰). برای سنتز پروتئین نیاز جنین به متیونین افزایش می‌یابد که این نیاز توسط رمتیله شدن هوموسیستئین به متیونین در مادر برطرف می‌شود. همچنین افزایش میزان هوموسیستئین در مایع آمنیون در مادران با نوزاد مبتلا به نقایص لوله عصبی (NTD) حکایت از انتقال فعال هوموسیستئین از سرم به مایع آمنیوتیک و بالعکس دارد. این مطالعه با هدف مقایسه میزان هوموسیستئین در سرم و مایع آمنیون همزمان مادران مبتلا به پره‌اکلامپسی با مادران باردار سالم انجام شد.

آمنیوتیک و خون، همزمان مورد بررسی قرار گرفتند. هر دو گروه از نظر اطلاعات جمعیت‌شناختی همسان‌سازی شده بودند (جدول ۱).

میانگین سرمی هوموسیستین در گروه پره‌اکلامپسی $3/965 \pm 1/8$ و در گروه سالم $3/05 \pm 1/87$ بود که به‌طور کلی در گروه پره‌اکلامپسی نسبت به گروه سالم بیشتر بود و تفاوت معنادار آماری داشت ($P=0/019$).

میانگین سطح هوموسیستین مایع آمینون در مادران مبتلا به پره‌اکلامپسی $11/11 \pm 7/41$ و در گروه مادران باردار سالم $8/15 \pm 5/71$ به‌دست آمد که در گروه پره‌اکلامپسی نسبت به گروه سالم بیشتر و از نظر آماری، تفاوت بین دو گروه معنادار بود ($P=0/035$).

در بررسی به‌عمل‌آمده بین دو گروه، میانگین اختلاف بین هوموسیستین سرم و مایع آمینون در گروه پره‌اکلامپسی $7/14 \pm 6/01$ بود. این اختلاف در گروه سالم نیز $5/1 \pm 4/34$ به‌دست آمد که از نظر آماری تفاوت میانگین اختلاف بین دو گروه معنادار نبود ($P=0/065$).

برای تعیین نقطه برش هوموسیستین به‌عنوان معیاری برای تشخیص پره‌اکلامپسی از منحنی راک استفاده شد (تصویر ۲). منحنی نشان داد که نقطه برش مناسبی برای آن نمی‌توان یافت، لذا ابزار مناسبی برای تشخیص این عارضه نمی‌باشد.

جدول ۱- میانگین دامنه تغییرات اطلاعات جمعیت‌شناختی مادران باردار سالم و مادران مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید

P value	باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی	باردار طبیعی	اطلاعات جمعیت‌شناختی
0/191	28(17-41)	24(17-41)	سن مادر (سال)
0/417	37(32-40)	38(30-41)	سن حاملگی (هفت)
0/133	2(1-8)	2(1-6)	گراویدیتی
0/267	29/1 (22/1-35/4)	27/4(22/1-42)	نمایه توده بدنی

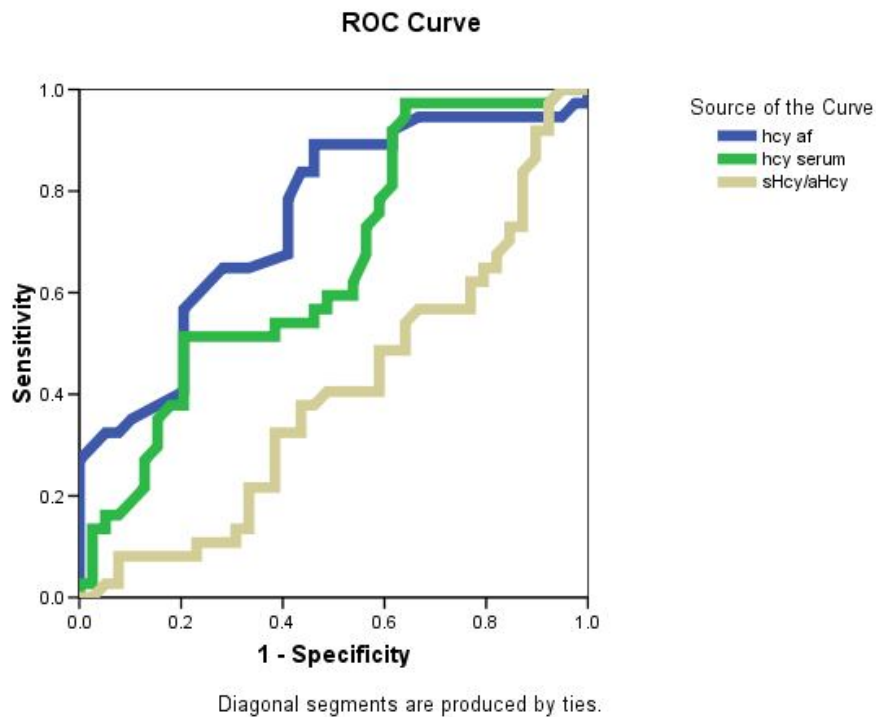
یا یافته‌های سونوگرافیک محاسبه گردید. معیارهای خروج از مطالعه، ابتلا به بیماری‌های مزمن مثل دیابت، بیماری قلبی و عروقی و کلیوی در مادر و وجود نقایص مادرزادی ثابت‌شده توسط سونوگرافی در جنین بود. آمینوستنز در این افراد بلافاصله قبل از برش Keen بر روی سگمان تحتانی رحم انجام می‌شد. به‌منظور پرهیز از ورود سوزن به جفت، قبلاً محل جفت توسط سونوگرافی در این افراد مشخص شده بود که خلفی بود. کلیه افراد با کسب رضایت‌نامه کتبی و همچنین کسب اجازه از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تحت آمینوستنز و جمع‌آوری خون همزمان در دقایقی قبل از انسزیون سزارین بر روی رحم قرار گرفتند. جهت آمینوستنز از سرسوزن نخاعی ۲۲-۲۰ استفاده شد و ۱-۲ سی‌سی ابتدای مایع اسپیره‌شده که ممکن بود با سلول‌های مادر آمیخته باشد دور ریخته می‌شد. میزان ۲۰ سی‌سی مایع اسپیره شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شد. به‌طور همزمان ۵ میلی‌لیتر خون مادر نیز جمع‌آوری شده و پس از ساتریفوژ، میزان هوموسیستین سرم آن مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری میزان هوموسیستین توسط روش ELISA انجام می‌شد.

فشارخون اولیه در دو نوبت با فاصله ۶ ساعت توسط دستیار زنان به‌وسیله فشارسنج جیوه‌ای و در حالت نشسته اندازه‌گیری می‌شد. هر دو گروه از نظر سن، سن حاملگی، گراویدیتی، تغذیه، مصرف سیگار و BMI با هم همسان‌سازی شده بودند. تمام خانم‌ها روزانه ۱ میلی‌گرم اسیدفولیک در دوران بارداری استفاده کرده بودند.

آزمون‌های آماری استفاده‌شده برای بررسی تفاوت هوموسیستین بین دو گروه و در مایع آمینون و سرم مبتلایان شامل منحنی Leven's test، ROC و t مستقل با استفاده از نرم افزار SPSS 16 بود.

یافته‌ها

در مجموع ۴۶ خانم باردار در گروه سالم (شاهد) و ۴۶ خانم باردار مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید (گروه مورد) در این مطالعه از نظر میزان هوموسیستین در مایع



تصویر ۲- منحنی راک برای هوموسیستئین سرم و مایع آمنیون و نسبت آن‌ها جهت تشخیص پره‌اکلامپسی

بحث

سطح هوموسیستئین سرم در خانم‌های مبتلا به پره‌اکلامپسی شدید به‌طور معناداری نسبت به هوموسیستئین در سرم گروه شاهد بیشتر بود. با وجود تأثیر شناخته‌شده هوموسیستئین بر روی اندوتلیوم عروق می‌توان علت افزایش فشارخون در این بیماران را به بالا بودن سطوح هوموسیستئین سرم نسبت داد (۱۱).

فاکتورهای غیرآنزیماتیک که بر روی سطح هوموسیستئین خون تأثیر دارد شامل سن، رابطه جنسی، وجود استروئیدهای جنسی، تغذیه، سیگار، التهاب مزمن، مصرف قهوه و فعالیت ورزشی می‌باشد (۱۲). دو گروه مورد مطالعه از جهت این فاکتورها با یکدیگر همسان‌سازی شده و شرایط یکسانی داشتند، بنابراین بالا بودن میزان هوموسیستئین در سرم مادران پره‌اکلامپسی را می‌توان به‌عللی غیر از موارد فوق ارتباط داد. در این مطالعه میزان هوموسیستئین مایع آمنیون در سه‌ماهه سوم بارداری در مادران پره‌اکلامپتیک با اختلاف معنادار بیش

از مادران سالم بود. با توجه به منابع مایع آمنیون در سه‌ماهه سوم بارداری که از غشاء آمنیون، ادرار، بلع و استنشاق جنین می‌باشد و همچنین با توجه به انتقال فعال مواد از غشاء آمنیون می‌توان نتیجه گرفت به دنبال افزایش هوموسیستئین سرم مادر و همچنین عدم تبدیل هوموسیستئین به سیستئین توسط جنین، این افزایش هوموسیستئین در مایع آمنیون ایجاد می‌شود (۱۳).

در اکثر مطالعات قبلی در خصوص مقایسه سطح هوموسیستئین مادران سالم با پره‌اکلامپسی، میزان هوموسیستئین در سرم مادران پره‌اکلامپتیک بیشتر گزارش شده است (۴، ۵، ۱۴ و ۱۵) که همسو با مطالعه حاضر است.

با توجه به این مطالعات و همچنین یافته‌های حاضر شاید بتوان نتیجه‌گیری کرد که افزایش هوموسیستئین در مادران پره‌اکلامپتیک می‌تواند عوارض و ضایعات عروقی آنان را توجیه نموده و به‌وجودآورنده افزایش فشارخون آنان باشد.

هوموسیستین سرم مادر است یا عدم توانایی تبدیل هوموسیستین به سیستین توسط جنین. همچنین اختلاف هوموسیستین سرم و مایع آمنیون در خانم‌های مبتلا به پره‌اکلامپسی بیشتر از این اختلاف در مادران سالم بود ولی از نظر آماری معنادار نبود. از محدودیت‌های انجام مطالعه می‌توان به مشکلات حین عمل اشاره کرد که در صورت بروز این موارد، نمونه‌ها از مطالعه حذف و نمونه‌های دیگر جایگزین می‌شدند.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد مطالعات وسیع‌تر جهت تعیین هوموسیستین مایع آمنیون در هر دو حاملگی طبیعی و پره‌اکلامپسی لازم است تا بتواند مشخص کند نقش جنین و یا نقش مادری کدامیک در افزایش هوموسیستین در بیماران مبتلا به پره‌اکلامپسی مؤثرند.

سؤالی که مطرح می‌شود این است که منشأ افزایش هوموسیستین در سرم مادران پره‌اکلامپتیک کدام است؟ همان‌طور که قبلاً اشاره شد جنین از رمتیله کردن هوموسیستین در ساختن سیستین و سنتز پروتئین‌ها استفاده می‌کند، پس شاید در مادران پره‌اکلامپتیک در امر رمتیله کردن هوموسیستین توسط جنین، اختلالی وجود دارد و یا به عبارتی جزء جنینی در مادران پره‌اکلامپتیک به‌خوبی از عهده تبدیل هوموسیستین به سیستین و تبدیل آن به پروتئین‌ها برنیامده و این امر موجب افزایش هوموسیستین در سرم و مایع آمنیون شده و خود موجب صدمات عروقی و عوارض به دنبال آن در تمام ارگان‌ها می‌شود که می‌تواند توجه‌کننده پاتولوژی پره‌اکلامپسی در این ارگان‌ها باشد.

در مطالعه حاضر میزان هوموسیستین مایع آمنیون در مادران پره‌اکلامپتیک با اختلاف معنادار بیش از مادران سالم بود ولی مشخص نیست که علت افزایش سطح هوموسیستین در مایع آمنیون به‌علت بالا بودن

References

- Lavee M, Goldman Sh, Spiegel ED, Shalev E. Matrix metalloproteinase-2 is elevated in midtrimester amniotic fluid prior to the development of preeclampsia. *Reprod Boil Endocrinol*. 2009;7:85.
- Wang Y, Walli AK, Schulze A, Blessing F, Fraunberger P, Thaler C, et al. Heparin-mediated extracorporeal low density lipoprotein precipitation as a possible therapeutic approach in preeclampsia. *Transfus Apher Sci*. 2006;35(2):103-10.
- Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Preeclampsia. *Lancet*. 2005;365(9461):785-99.
- Malek-khosravi S, Kaboudi M, Kaboudi B, Atefi G. Plasma homocysteine concentrations and insulin resistance in preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy*. 2009;28:1-10.
- Tug N, Celik H, Cikim G, Ozelik O, Ayar A. The correlation between plasma homocysteine and malondialdehyde levels in preeclampsia. *Neuroendocrinol Lett*. 2003;24(6):445-8.
- Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy-review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000;93(2):157-65.
- Sadia AM, Zamir A, Adina S, Qurrat-ul-Ain, Koukab S. Elevated circulating homocysteine level in patients with mild preeclampsia. Department of biochemistry services institute of medical sciences. Sims.edu.pk/esculapio.html.
- Powers RW, Evans RW, Majors AK, Ojimba JI, Ness RB, Crombleholme WR, et al. Plasma homocysteine concentration is increased in preeclampsia and associated with evidence of endothelial activation. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179(6 Pt 1):1605-11.
- Hague WM. Homocystein and pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2003;17(3):459-69.
- Ingec M, Borekci B, Kadanali S. Elevated plasma homocysteine concentrations in severe preeclampsia and eclampsia. *Tohoku J*. 2005;206:225-31.
- Kajdy A, Niemiec T. Homocysteine metabolism disorders as potential predictor of preeclampsia. *Ginekol Pol*. 2008;79(11):775-9.
- Calle M. de la, Usandizaga R, Sancha M, Magdaleno F, Herranz A, Cabrillo E. Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynecology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;107(2):125-34.
- Abramovich DR, Garden A, Jandial L, Page KR. Fetal swallowing and voiding in relation to hydramnios. *Obstet Gynecol*. 1979;54(1):15-20.

14. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(3 Pt 1):660-4.
15. Hietala R, Turpeinen U, Laatikainen T. Serum homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2001;97(4):527-9.
16. Katharine D. Wenstrom, Mda, *Am J obstet Gynecol* 2001, 184(5): 812-7.