Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Plasma levels of plasminogen, fibrinogen and plasmin non-diabetic and smoker patients with coronary artery disease

Fatemeh Khaki-Khatibi[1]*, Soheila Gafarzadeh-Giaci[2]

[1]Drug Applied Research Center, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2]Students' Research Committee and Higher Education Institute of Rab-Rashidi, Tabriz, Iran
*Corresponding Author; E-mail: fatemehkhakikhatibi@yahoo.com

Received: 22 July 2016 Accepted: 1 November 2016 First Published online: 26 February 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):24-31

Abstract

Background: Coronary artery disease (CAD) is one of the major causes of mortality and morbidity. It is characterized by the activation and aggregation of the platelet, thrombus formation and myocardial infarction. During recent years, many epidemiological studies on risk factors of CAD have been performed which are fibrinogen, lipoprotein (a), and hemocystein as new CAD risk factors. The aim of the present study was to evaluate of plasminogen, fibrinogen and plasmin (PAP) levels in plasma including in patients of non-diabetic and smoker as the hemostatic parameters and their association with CAD to prevent progression of disease.

Methods: In this study selected 120 subjects including 60 patients who underwent coronary angiography and 60 controls from blood donors of blood bank who had no history of CAD and liver disease and cancer. To determined Plasma levels plasminogen and PAP used ELISA Procedure (Bioassay technology laboratory kit) and plasma level of fibrinogen used Clauss method by kit of Mahsa yaran.

Results: Plasma levels of plasminogen and plasmin anti plasmin (PAP) in patients with CAD were found to be significantly lower than control group ($p<0.05$ both of them). Moreover Plasma level of fibrinogen in patients were significantly higher than control group ($p< 0.05$).

Conclusion: Elevated plasma levels of fibrinogen participate in atherogenesis leading to CAD. These finding suggested plasma level of fibrinogen can be useful as a diagnostic and monitoring marker in patients with CAD. Plasmin and plasminogen deficiency may participate in progressing CAD and thrombus formation and impaired fibrinolysis.

Keywords: Plasminogen, Fibrinogen, Plasmin, Coronary Artery Disease, Non-diabetic, Smoker

How to cite this article: Khaki-Khatibi F, Gafarzadeh-Giaci S. [Plasma levels of plasminogen, fibrinogen and plasmin non-diabetic and smoker patients with coronary artery disease]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):24-31. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

غلظت پلاسمایی پلاسمینوژن، فیبرینوژن و پلاسمین در بیماران عروق کرونر قلبی غیردیابتی و سیگاری

فاطمه خاکی خطیبی[*1]، سهیلا غفارزاده غیاثی[2]

[1]مرکز تحقیقات کاربردی-دارویی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[2]کمیته تحقیقات دانشجویی و موسسه عالی ربع رشیدی تبریز، تبریز، ایران
[*] نویسنده رابط؛ ایمیل: fatemehkhakikhatibi@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱۱ انتشار برخط: ۱۳۹۵/۱۲/۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. فروردین ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۲۴-۳۱

چکیده

زمینه: بیماری عروق کرونر قلب (CAD) یکی از علتهای اساسی و مهم مرگ و میر انسانها در جهان است که مشخصه آن فعال شدن و تجمع پلاکت‌ها، ترومبوز و سکته قلبی می‌باشد. طی سالهای اخیر مطالعات فراوانی بر عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی صورت گرفته است که از میان آنها فیبرینوژن، لیپوپروتئین a و هموسیستئین بعنوان عوامل خطر جدید در این بیماری معرفی شده‌اند.
هدف از مطالعه حاضر اندازه‌گیری سطح پلاسمایی پلاسمینوژن، فیبرینوژن و پلاسمین بعنوان مارکرهای هموستاتیک در بیماران عروق کرونر قلبی غیر دیابتی و سیگاری می‌باشد تا با اندازه‌گیری این پارامترهای مهم هموستاتیک و بررسی ارتباط آنها با بیماری مورد نظر بتوان کمک موثری در تشخیص افراد مستعد و جلوگیری از پیشرفت این بیماری بعمل آورد.

روش کار: در این مطالعه ۱۲۰ نفر شامل ۶۰ نفر بعنوان گروه بیمار که تحت آنژیوگرافی قرار گرفته‌اند و ۶۰ نفر از دهنده‌های بانک خون که فاقد سابقه بیماری قلبی عروقی بوده و بیماری کبدی و سرطانی نداشته باشند بعنوان گروه شاهد انتخاب شدند.
سطوح پلاسمایی پلاسمینوژن و پلاسمین به روش الایزا با کیت شرکت بیواسی تکنولوژی اندازه‌گیری شد. سطح پلاسمایی فیبرینوژن نیز به روش انعقادی با کیت شرکت مهسا یاران اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: سطوح پلاسمایی پلاسمینوژن و پلاسمین (PAP) در گروه بیمار بطور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد مشاهده گردید. علاوه بر این سطح پلاسمایی فیبرینوژن در گروه بیمار در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری افزایش یافته بود.

نتیجه‌گیری: سطح بالای پلاسمایی فیبرینوژن در آترواسکلروز مشارکت می‌کند و منجر به بیماری قلبی عروقی می‌گردد. این یافته‌ها نشان می دهد که سطح پلاسمایی فیبرینوژن می‌تواند یک مارکر برای تشخیص و کنترل در بیماران CAD مفید باشد. احتمالاً کمبود پلاسمینوژن و پلاسمین در پیشرفت بیماری CAD و تشکیل ترومبوز و فیبرینولیز معیوب مشارکت می‌نماید.

کلید واژه‌ها: پلاسمینوژن، فیبرینوژن، پلاسمین، بیماری عروق کرونر، غیردیابتی، سیگار

نحوه استناد به این مقاله: خاکی خطیبی ف و غفارزاده غیاثی س. غلظت پلاسمایی پلاسمینوژن، فیبرینوژن و پلاسمین در بیماران عروق کرونر قلبی غیردیابتی و سیگاری. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۱۶-۲۳.

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

بیماری عروق کرونری (Disease Coronary Artery, CAD) اولین علت مرگ و میر در افراد بالای ۳۵ سال در کشورهای توسعه یافته است. پیشگیری از CAD و کاهش میزان مرگ و میر ناشی از آن بعنوان یک مشکل اساسی مطرح است. بیماری عروق کرونر در اثر آترواسکلروزیس بوجود می‌آید. براساس مطالعات جدید عوامل دیگری از جمله فیبرینوژن نیز به عنوان عامل خطر جدید مطرح شده است؛ در این راستا با توجه به شیوع روز افزون CAD در جامعه از یک سو و عدم کنترل فاکتورهای پر خطر ذکر شده، پژوهشگران را بر آن داشت که وضعیت فاکتورهای خطر جدید را مورد بررسی قرار دهند.

بیشتر ریسک فاکتورهایی قلبی که فرد را مستعد آترواسکلروز می‌کنند مانند هیپرتانسیون و مصرف سیگار، هیپرلیپیدمی، دیابت و سابقه فامیلی با اختلالات اندوتلیالی رابطه دارند (۱) بطوریکه رویداد اولیه در بیماری آترواسکلروز اختلال در عملکرد اندوتلیال می‌باشد که موجب تعدادی فرآیندهای متوالی و توسعه پلاک می‌گردد؛ این فرآیندها شامل انقباض عروقی، ترومبوز، التهاب و اکسیداسیون می‌باشد. سلولهای اندوتلیال، پلاکت‌های خونی و پروتئین های انعقادی و سیستم فیبرینولیتیک در فرآیندهای هموستاتیک شرکت دارند. در جریان فعال شدن هرکدام از مسیرهای انعقادی توسط هرفرآیندی مارکرهای مولکولی گوناگونی در مقادیر افزایش یافته‌ای درگردش خون یافت می‌شود. تغییرات در سیستم فیبرینولیتیک نقش مهمی در بیماری عروق کرونری بازی می‌کند. آسیب‌های که براثر آترواسکلروز ایجادمی‌شود، محتوی مقدار زیادی فیبرین هستند که در شکل‌گیری ترومبوز در جدار عروق دارای پلاک نقش دارند از جمله پارگی پلاک که تنها مکانیسم مسئول ترومبوز کرونری و علت اصلی مرگ ناگهانی است (۲).

شرایط شایع مستعد کننده آترواسکلروز از جمله هیپرتانسیون، هیپرکلسترولمی، دیابت، مصرف سیگار که با اختلالات اندوتلیالی همراه‌اند (۱) موجب سنتز سیتوکین‌های التهابی می‌شوند که برای محافظت سلول‌های اندوتلیال و نوسازی آنها فعالیت می‌کنند. این سیتوکین‌ها شامل IL6 (Interlukin 6) و TNFα (Tumor Necros facter α) هستند که سبب القا بافت چربی کبد برای سنتز پروتئین‌های فاز حاد از جمله CRP (C-Reactive Protein) و فیبرینوژن و سرم آمیلوئید (Serum Amiloid A) SAA می‌گردد (۳).

همچنین اختلالات اندوتلیالی باعث ایجاد شرایط مناسب برای تجمع و چسبندگی پلاکت‌ها و مونوسیت‌ها در محل صدمه می‌شوند (۴).

فیبرینوژن پیش ماده فیبرین بوده که در واکنش‌های آبشار انعقادی نیز شرکت می‌کند. لخته‌های فیبرین دائماً در فرایندی بنام فیبرینولیز تجزیه می‌شوند، پلاسمین بعنوان سرین پروتئاز اصلی در تجزیه فیبرین و فیبرینوژن به شکل زیموژن غیر فعال (پلاسمینوژن) در گردش خون وجود دارد. انواع مختلفی از فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن در اکثر بافت‌های بدن وجود دارد که همگی آنها پیوند والین–آرژینین یکسانی را در پلاسمینوژن می‌شکنند تا تولید سرین پروتئاز دو زنجیره‌ی پلاسمین نمایند.

پلاسمین آنزیم پروتئولیتیک کلیدی برای فیبرینولیز می‌باشد که رشته‌های فیبرین را در عروق تجزیه و حل می‌کند. بدلیل اینکه انعقاد نابجای خون منجر به آمبولی و ایسکمی و در نتیجه انفارکتوس میوکارد (Myocardial infraction, MI) می‌شود، حل نشدن رشته‌های فیبرینی و اختلال در فیبرینولیز ارتباط مستقیمی با CAD دارد (۵).

اگر پلاسمینوژن توسط فاکتورهای فعال کننده به پلاسمین تبدیل نشود غلظت پلاسمایی آن افزایش خواهد یافت که نشانه‌ای از اختلالات فیبرینولیتیک بوده و منجر به آتروترومبوزیس می شود. لازم به ذکر است که پلاسمینوژن نقش های غیرفیبرینولیتیک مهم نیز دارد که در ارتباط با التهاب می‌باشد. این گلیکوپروتئین هنگام تشکیل آتروم به مونوسیتها وصل می‌شود و IL6 بیان آنرا افزایش می‌دهد. بنابراین احتمال افزایش غلظت پلاسمینوژن در آسیب‌های آترواسکلروزی وجود دارد. همچنین سطح پلاسمایی کم پلاسمینوژن بدلیل تولید کم پلاسمین نیز منجر به اختلالات فیبرینولیتیک می‌شود، که این اختلالات منجر به ترومبوز کرونری و در نهایت MI می‌شود (۵). با توجه به اینکه در پلاک‌های پیشرفته آترواسکلروزی، فیبرینوژن در اتصال LDL و انباشتگی لیپیدها شرکت می نماید و سبب ایجاد هسته‌های لیپیدی می‌شود و با توجه به مطالعات انجام شده، افزایش سطح فیبرینوژن پلاسمایی حائز اهمیت بوده و منجر به لخته شدن خون و ترومبوز می‌گردد که در بیماران قلبی سبب ایسکمی و نهایتا منجر به سکته خواهد شد (۶). تاکنون بررسی‌های انجام شده نشان داده‌اند که فیبرینوژن نیز همانند سایر ریسک فاکتورهای دیگر در این فرآیند نقش دارند. همچنین پلاسمینوژن و پلاسمین بدلیل نقش فیبرینولیتیک در این فرآیند شرکت می‌کنند (۷).

هدف از این مطالعه این می‌باشد که ارتباط پارامترهای بیوشیمیایی فیبرینوژن، پلاسمین و پلاسمینوژن را با CAD بررسی نموده و سطح پلاسمایی پلاسمینوژن، فیبرینوژن و

پلاسمین را در بیماران غیردیابتی و سیگاری مبتلا به CAD و گروه شاهد اندازه‌گیری و با هم مقایسه نماییم.

روش کار

این مطالعه از نوع توصیفی–تحلیلی است. در این مطالعه ۶۰ نفر از بیماران مبتلا به CAD مراجعه کننده به مرکز آموزشی–درمانی شهید مدنی تبریز انتخاب شدند. گروه شاهد ۶۰ نفر از دونورهای مرکز انتقال خون تبریز انتخاب شد. گروه بیمار از افراد غیردیابتی و سیگاری بودند. در این مطالعه از فرمول مقایسه دو میانگین استفاده گردید.

افراد بیماری که به این مطالعه وارد شدند علائم بیماری قلبی داشته و بیماری آنها توسط آنژیوگرافی تایید شده بود. برخی اطلاعات دموگرافیک از قبیل سن، جنس، وزن، سابقه فامیلی، هیپرلیپیدمی افراد بیمار از طریق پرسشنامه‌های مربوطه و پرونده های پزشکی موجود در بیمارستان جمع‌آوری گردید (چک لیست ضمیمه می‌باشد)، همچنین گروه شاهد از اهدا کننده‌های خون مرکز انتقال خون تبریز انتخاب گردید که فاقد سابقه فامیلی بیماری قلبی بودند. در گروه بیمار و شاهد داشتن سن ۷۰–۴۰ و نداشتن بیماری‌های کبدی، التهابی، بدخیمی‌ها از شرایط ورود به مطالعه بود.

محل نمونه‌گیری بیماران از مرکز آموزشی–درمانی شهید مدنی تبریز و گروه کنترل از مرکز انتقال خون در مدت چند ماه بطول انجامید و انجام آزمایشات در حدود ۳ ماه صورت گرفت. از تمامی افراد مورد مطالعه ۲ میلی‌لیتر خونگیری بعمل آمد و پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون در لوله‌های سیترات-دار برای اندازه‌گیری میزان فیبرینوژن به آزمایشگاه فرستاده شد تا سطح پلاسمایی فیبرینوژن در ۶ ساعت بعد از نمونه-گیری مورد اندازه‌گیری قرار گیرد (قبل از فریز نمونه‌ها سطح فیبرینوژن تعیین شد)، سپس پلاسماها در دمای ۸۰– درجه سانتیگراد تا زمان آزمایشات بعدی نگهداری شد.

اندازه‌گیری فیبرینوژن براساس روش Clauss (روش انعقادی) با کیت Fib شرکت مهسا یاران به صورت دستی انجام گردید. روش Clauss میزان تبدیل فیبرینوژن به فیبرین را در حضور مقادیر زیاد ترومبین اندازه‌گیری می‌کند (۸)، روشی سریع، حساس و دقیق است و طبق گزارشات CDC (Center for Disease Control) در بررسی روش‌های رایج اندازه‌گیری فیبرینوژن، به عنوان روش انتخابی اندازه‌گیری معرفی شده است. در این روش غلظت بالایی از ترومبین به پلاسمای رقیق شده بیمار اضافه می‌شود که فیبرینوژن را به لخته فیبرین تبدیل می‌کند. زمان تشکیل لخته نسبت عکس با مقدار فیبرینوژن موجود در نمونه دارد. محدوده نرمال ۱۵۰–۳۵۰mg/dl می‌باشد. اندازه‌گیری پلاسمین با روش الایزا (ELISA) با کیت PAP انسانی شرکت bioassay technology با Catalog NO:E1158 انجام گردید.

این کیت برای اندازه‌گیری کمی پلاسمین انسانی در نمونه‌های سرم، پلاسما، بافت و سلول‌های کشت داده شده استفاده می‌شود، بطوریکه مقدار فعالیت پلاسمین بوسیله تولید کمپلکس PAP ارزیابی می‌شود چون پلاسمین در پلاسما فوراً توسط α_2 –آنتی پلاسمین مهار شده و ایجاد کمپلکس PAP می‌نماید (۹). PAP شاخص اخیر فعالیت فیبرینولیتیک است.

اساس: کیت PAP بر اساس تکنولوژی الایزای ساندویچی پایه‌گذاری و طراحی شده است. آنتی‌بادی های مونوکلونال اختصاصی پلاسمین آنتی‌پلاسمین در سطح چاهک‌ها پوشیده شده است و آنتی‌بادی اختصاصی پلاسمین انسانی بیوتینه شده‌اند. نمونه‌ها و آنتی‌بادی ها بیوتینه شده تشخیصی به چاهک‌ها اضافه می شود. کمپلکس استرپتوآویدین–HRP نیز برای تشکیل کمپلکس ایمنی اضافه شده و کونژگه‌های متصل نشده بعد از انکوباسیون بوسیله شستشو باBPS جدا می-شوند. سوبسترای مورد استفاده (TMB) کروموژن A , B است تا فعالیت آنزیم HRP قابل مشاهده باشد. TMBبوسیله HRP کاتالیز می‌شود تا رنگ آبی تولید کند که در نهایت با اضافه کردن محلول متوقف کننده اسیدی stop solution به رنگ زرد در می‌آید. غلظت رنگ زرد نشان دهنده میزان پلاسمین آنتی‌پلاسمین است که بوسیله دستگاه الایزا ریدر (اسپکتروفتومتر اختصاصی) خوانده می‌گردد.

Sensitivity: 5.13 ng/ml Range: 10-3500 ng/ml

اندازه‌گیری پلاسمینوژن با روش الایزا (ELISA) با کیت H.Plg انسانی شرکت Bioassay technology laboratory با Catalog NO: E1126 انجام گردید. برای اندازه‌گیری کمی پلاسمینوژن انسانی در نمونه‌های انسانی سرم، پلاسما خون و دیگر مایعات بیولوژیکی مرتبط استفاده می‌شود (۱۰). اساس: کیت Plgبر اساس تکنولوژی الایزای ساندویچی پایه‌گذاری و طراحی شده است. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اختصاصی پلاسمینوژن در سطح چاهک‌ها پوشیده شده‌است. آنتی‌بادی اختصاصی پلاسمینوژن انسانی بیوتینه (biotinated) شده‌اند . نمونه‌ها و آنتی‌بادی‌های بیوتینه شده تشخیصی به چاهک‌ها اضافه می‌شود، کمپلکس استرپتوآویدین–HRP نیز برای تشکیل کمپلکس ایمنی اضافه شده و کونژگه‌های متصل نشده بعد از انکوباسیون بوسیله شستشو با BPS جدا می‌شوند.

سوبسترای مورد استفاده (TMB) کروموژن A , B است تا فعالیت آنزیم HRP قابل مشاهده باشد. TMBبوسیله HRP کاتالیز می‌شود تا رنگ آبی تولید کند که در نهایت با اضافه کردن محلول متوقف کننده اسیدی stop solution به رنگ زرد در می‌آید. غلظت رنگ زرد نشان دهنده میزان

پلاسمینوژن است که بوسیله دستگاه الایزا ریدر (اسپکتروفتومتر) خوانده می‌شود.
Range: 50-300 ng/mlAssay
داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه شماره ۱۷ مورد تحلیل قرار گرفت. یافته‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار (mean± SD) نشان داده شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از روشهای آمار توصیفی (میانگین± انحراف معیار) و آزمون t (Independent samples t-test) برای گروهای مستقل و یا معادل ناپارامتری آن از آزمون یومان ویتینی (Mann-whitney U) استفاده گردید، مقدار **P** کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی-دار تلقی شد.

یافته‌ها

مطالعه حاضر برروی ۱۲۰ نفر (۶۰ نفر بیمار و ۶۰ نفر شاهد) انجام گردید و یافته‌های حاصل در بیماران با یافته‌های گروه شاهد مقایسه شد. میانگین سن در گروه بیمار ۶±۵۸ سال و در گروه شاهد ۵±۵۶ سال بود. افراد بیمار غیردیابتی و سیگاری بودند. یافته‌های آماری مربوط به گروههای بیمار و شاهد بصورت (mean±SD) و فراوانی بصورت درصد نشان داده شده است. با توجه به بررسی نتایج آزمون t برای گروه‌های مستقل، میانگین سطح پلاسمایی فیبرینوژن در گروه بیمار ۴۶±۲۵۰ ng/dl و میانگین سطح پلاسمایی فیبرینوژن درگروه شاهد ۴۰±۱۸۰ بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است (P=۰/۰۰۱). یعنی سطح فیبرینوژن پلاسما در گروه بیمار در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری افزایش یافته است (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین سطح فیبرینوژن پلاسما در دو گروه بیمار و شاهد

پارامتر	گروه بیمار	گروه شاهد	P value
فیبرینوژن (ng/dl)	۲۵۰ ± ۴۶	۱۸۰ ± ۴۰	۰/۰۰۱

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است بر اساس نتایج بدست آمده از آنالیز آماری، میانگین سطح پلاسمایی پلاسمین درگروه بیمار ۳۰۰±۱۰۵۰ ng/dl و میانگین سطح پلاسمایی پلاسمین درگروه شاهد ۴۵۰±۱۱۳۵ ng/dl می‌باشد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است (P=۰/۰۱). یعنی سطح پلاسمایی پلاسمین در گروه بیمار در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری کمتر است.

جدول ۲: مقایسه میانگین سطح پلاسمین پلاسما در دو گروه بیمار و شاهد

پارامتر	گروه بیمار	گروه شاهد	P value
پلاسمین (ng/dl)	۱۰۵۰ ± ۳۰۰	۱۱۳۵ ± ۴۵۰	۰/۰۱

بررسی نتایج بدست آمده از آنالیز آماری نشان داد، میانگین سطح پلاسمایی پلاسمینوژن در گروه بیمار ۲۴±۸۷ ng/dl و میانگین سطح پلاسمایی پلاسمینوژن در گروه شاهد ۳۵±۹۸ ng/dl بوده و اختلاف از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (P=۰/۰۱) یعنی سطح پلاسمینوژن پلاسما در گروه بیمار در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش یافته است (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین سطح پلاسمینوژن پلاسما در دو گروه بیمار و شاهد

پارامتر	گروه بیمار	گروه شاهد	P value
پلاسمینوژن (ng/dl)	۸۷ ± ۲۴	۹۸ ± ۳۵	۰/۰۱

بحث

آترواسکلروزعبارت است از توسعه یک لایه ضخیم انتیما که کمپلکس واکنشی بین اندوتلیوم و سایتوکین‌های التهابی است و حاوی مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها و سلولهای عضلانی صاف به همراه تجمع لیپیدها و پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی بویژه گلیکوپروتئین‌ها می‌باشد (۱۱).

چندین مارکر بیولوژیکی با کاهش فیبرینولیز و عملکرد سلول‌های اندوتلیال و افزایش فعال‌سازی آبشار انعقاد بوسیله پلاکت‌ها در تشکیل ترومبوز شرکت دارند. همچنین پلاکت‌ها ارتباط نزدیکی با بیماری قلبی عروقی دارند؛ مطالعات اپیدمیولوژیک اخیر به ارزیابی اینکه آیا عوامل هموستاتیک ممکن است عوامل خطرآترواسکلروزی برای بیماری‌های قلبی عروقی باشد، پرداخته است؛ اگر چه هنو هیچ فاکتور هموستاتیک مفید برای پیش بینی CAD بوسیله آزمایشات بالینی معمول شناخته نشده است اما اطلاعات بیشتردر بسیاری از زمینه‌ها مورد نیاز است.

برای درک بهتر نقش سه عامل هموستاتیک مورد مطالعه در حوادث CAD و ارتباط این عوامل با علل مرگ و میر در این بیماران، ارزیابی سطح پلاسمایی فیبرینوژن، پلاسمین، پلاسمینوژن احتمالاً کمک شایانی در بهبود روش‌های تشخیصی و پیش‌گیری از حوادث متعاقب این بیماری خواهد کرد. فیبرینوژن یک پروتئین محلول پلاسمایی است که در هموستاز از طریق تنظیم انعقاد و فیبرینولیز نقش ایفا می‌کند.، این پروتئین به گیرنده‌های GP IIb/IIIa در سطح پلاکت‌ها اتصال یافته و چسبندگی و تجمع پلاکت‌ها را در محل آسیب عروق میانجیگری می‌کند؛ پلاکت‌ها حاوی اینتگرین‌هایی هستند که به مولکولهای چسبنده اندوتلیوم آسیب دیده متصل شده و در تماس با زیر اندوتلیوم قرار می‌گیرند؛ اینتگرین‌های پلاکت‌ها توانایی اتصال دوگانه به فیبرینوژن را می‌دهند و همچنین موجب اتصال متقاطع به پلاکت‌های دیگر می‌شوند.

از آنجا که فیبرینوژن با رسپتورهای پلاکت‌ها باند می‌شود و اثر آن بر تجمع و چسبندگی پلاکت‌ها شناخته شده است بنابراین هیپرفیبرینوژنمی باعث تشکیل ترومبوز می‌شود که شامل تجمع پلاکت‌ها و رسوب فیبرین است (۱۲). با توجه به اینکه تشکیل ترومبوز در محل ضایعات آترواسکلروتیک نقش مهمی را در آتروترومبوز دارد مطالعه فاکتورهای فیبرینولیتیک و پروترومبیک و تاثیر آن بر ترومبوز کرونری بسیار پراهمیت است؛ بعلاوه فیبرینوژن بعلت مشارکت در تشکیل پلاک آترومی و همچنین بدلیل اینکه یک پروتئین فاز حاد محسوب می‌گردد مورد توجه قرار گرفته است (۵).

در سال ۱۹۸۰ Meade و همکاران اولین گزارش در رابطه با پارامترهای هموستاتیک دخیل در بیماری‌های قلبی عروقی را ارائه کردند؛ در این مطالعه سطح پلاسمایی فیبرینوژن در بیماران CAD که مرده‌اند بیشتر از افراد بیمار زنده مانده بود و آنها نشان دادند که رابطه سطح فیبرینوژن با مرگ مستقل از بیماری CAD بوده و این رابطه بسیار قوی‌تر از سطح سرمی کلسترول است (۱۳).

در طول سالهای اخیر مطالعات زیادی در این زمینه انجام شده و محققان از جمله Lima و همکاران به این نتیجه رسیده‌اند. پیشرفت بیماری CAD با تغییرات فیبرینوژن رابطه مستقیم داشته و آن را یک فاکتور خطر مستقل برای CAD معرفی کرده اند؛ همچنین این محققان به این نتیجه رسیده‌اند که سطح پلاسمایی فیبرینوژن در گروه بیمار بیشتر از گروه کنترل است و سطح فیبرینوژن رابطه مثبت با سطح پلاسمینوژن دارد، بطوریکه در این مطالعه سطح پلاسمایی پلاسمینوژن بطور معنی‌داری در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل افزایش داشت، با توجه به این که در این مطالعه همه افراد آنژیوگرافی شده‌اند و بیماران سابقه آنژین داشته و همچنین سابقه MI نداشتند، در این مطالعه سطح پلاسمایی فیبرینوژن با پیشرفت CAD افزایش داشته و همبستگی مثبتی بین سطح پلاسمایی فیبرینوژن با شدت CADگزارش شده است (۵)؛ می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا علت افزایش سطح پلاسمایی فیبرینوژن پیشرفت بیماری آترواسکلروز است. فیبرینوژن در تعدادی از مکانیسم‌ها شرکت می‌کند از جمله آسیب سلولی اندوتلیالی، تجمع پلاکتی، چسبندگی پلاکت‌ها، از این رو این گلیکوپروتئین نقش اصلی را در تشکیل ترومبوز ایفا می‌کند؛ بطوریکه با اتصال به رسپتورهای GP IIa/IIIb تعیین کننده تجمع پلاکتی بوده و در فرآیند انعقاد، سوبسترای فیزیولوژیکی ترومبین می‌باشد که در این خصوص هیپرفیبرینوژنمی منجر به انعقاد خون بیشتر شده و عدم تعادل فاکتورهای پیش انعقادی منجر به ایجاد فیبرین نامحلول می‌شود. بعلاوه فیبرینوژن به دلیل بزرگ بودن اندازه مولکولی و ظرفیت آن مهم‌ترین عامل چسبندگی خون و افزایش آن سبب کاهش جریان یافتن خون و کندی جریان خون مویرگی و مساعدت برای چسبندگی لوکوسیت‌ها و RBC بوده و در نهایت منجر به ایسکمی مویرگی می‌گردد.

در مطالعه حاضر سطح پلاسمایی فیبرینوژن در بیماران CAD بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و این مشاهدات با نتایج مطالعات قبلی همکاران مطابقت دارد و مطالعه حاضر را تایید می‌نماید و قابل ذکر است که تاکنون در هیچ مطالعه‌ای سطح پلاسمایی فیبرینوژن در بیـماران CAD کمتر از افراد سالم از نظر CAD نبوده است؛ بنابراین پیشرفت آترواسکلروز با افزایش فیبرینوژن همراه است و فیبرینوژن نقش مهمی در تشدید آترواسکلروز دارد، لذا می‌توان از فیبرینوژن بعنوان یک مارکر پیش‌اگهی در بیماری CAD و جهت پیشگیری از ترومبوز کرونری استفاده کرد.

با توجه به این که رویداد اولیه در آترو اسکلروز اختلالات اندوتلیالی است لایه اندوتلیوم در اثر عوامل محرک فعال شده و بوسیله پروتئین آنکسینII که در سطح سلولهای اندوتلیال و مونوسیت‌ها موجود است با جذب پلاسمینوژن و فعال کننده‌های آن پلاسمین را تولید می‌کند که این ماده مهمترین نقش را در فرایندهای فیبرینولیتیک به عهده دارد (۲). پلاسمینوژن پرو آنزیم پروتئولیتیک پلاسمین بوده که تحت شرایط فیزیولوژیکی خاص رشته‌های فیبرین را حل می‌کند و سبب لیز شدن لخته می‌گردد؛ تبدیل پلاسمینوژن به پلاسمین بوسیله فعال کننده‌های موجود در همه بافت‌های بدن انجام می‌شود. پلاسمین تمایل زیادی به فیبرین دارد و این تمایل توانایی لیز نمودن متوالی فیبرین را به آن می‌دهد (۷). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که لخته‌های فیبرین در حضور کم پلاسمینوژن، زمانی که در معرض فعال کننده‌ها قرار می‌گیرند به مقدار کمتر لیز می‌شوند (۷).

در مطالعه Ogston و همکاران، سطح پلاسمایی پلاسمینوژن تنها افزایش اندک با سن داشته است؛ همچنین آنها به این نتیجه رسیدند که ارتباط سطح پلاسمایی پلاسمینوژن و فیبرینوژن کم می‌باشد، بعلاوه نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ضد انعقادهای مصرفی تاثیری بر سطح فیبرینوژن و پلاسمینوژن ندارند؛ همچنین در این مطالعه نشان داده شد که سطح پلاسمایی پلاسمینوژن با افزایش سن بطور ناچیزی افزایش داشته است.

تحقیقات دیگران نشان داد هیچ تفاوت معنی‌داری درسطوح پلاسمایی پلاسمینوژن از نظر سن و جنس پیدا نکردند و البته تعداد مطالعات انجام شده در این زمینه بسیار کم است. این محققان بیان کردند که تاکنون مدرکی برای

اثبات اینکه کمبود پلاسمینوژن در بیماری‌های ترومبولیتیک مهم است وجود ندارد (۱۴).

Meltzer و همکاران گزارش نمودند که سطح پلاسمینوژن در بیماران CAD افزایش می یابد و سطح آن شدیداً به فاکتورهای التهابی وابسته است؛ بطوریکه آنها دلیل افزایش سنتز پلاسمینوژن را احتمالاً بدلیل سنتز سیتوکین‌های التهابی دانسته‌اند که در اثر واکنش‌های التهابی تولید می‌شوند، آنها همچنین افزایش سطح پلاسمینوژن را همراه با افزایش خطر MI بیان نمودند (۱۵).

البته Jenkins و همکاران (۱۶)، تنظیم بیان ژن‌های پلاسمینوژن در هپاتوسیت‌ها بوسیله سایتوکین‌ها از جمله IL6 را مشاهده نمودند.

Hoffmeister و همکاران گزارش کردند که سطوح پلاسمینوژن با حضور بیماری CAD رابطه نداشته و اندازه-گیری فعالیت پلاسمینون مزایای اضافی برای پیش‌گویی بیماری CAD ندارد (۱۷).

در مطالعه حاضر سطح پلاسمایی پلاسمینوژن در گروه بیمار بطور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود که این یافته با فرضیات مطالعه همخوانی داشته و نتایج حاصل این فرض را تایید می‌کند که در بیماران عروق کرونر قلبی احتمالاً سطح پلاسمایی پلاسمینوژن کمتر از حالت نرمال بوده که منجر به اختلالات در تولید پلاسمین شده و همچنین ممکن است مقدار پلاسمین و تاثیرات آن بدلیل اختلال در عوامل فعال کننده پلاسمینوژن مانند (tPA) باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری در این حیطه وجود دارد؛ از سوی دیگر مطالعه حاضر با برخی مطالعات همکاران مطابقت داشته و با برخی مطالعات تناقض دارد. اینکه در بیشتر مطالعات سطح پلاسمایی پلاسمینوژن در افراد CAD بیشتر است عمدتاً بدلیل سطح سیتوکین‌های التهابی بوده که سنتز پلاسمینوژن را القاء می‌کند. فعال‌سازی سیستم فیبرینولیتیک منجر به تولید پلاسمین می-شود. پلاسمین آنزیم مرکزی در لیز نمودن لخته می‌باشد این آنزیم یک اندوپپتیداز است که هر دو فیبرین و فیبرینوژن را به اجزاء بدون توانایی ایجاد لخته تبدیل می‌نماید. این آنزیم در پلاسما به سرعت با α۲-آنتی پلاسمین ترکیب می‌شود و تولید ترکیب کمپلکس PAP را می‌دهد؛ از این رو سطوح PAP نشان دهنده تولید پلاسمین و تشکیل فیبرین می‌باشد (۱۸).

PAP مارکر هموستاتیک بوده که میزان تعادل پیش انعقادی و واکنش‌های تجزیه فیبرین را نشان می‌دهد (۱۹).

Morange و همکاران (۲۰) در یک مطالعه آینده‌نگر کوهرت که در مدت ۶ سال انجام دادند به این نتیجه رسیدند که فعال شدن روند انعقاد، خطر مرگ قلبی عروقی داشته و در میان مارکرهای منعکس کننده تشکیل لخته و تخریب آن سطح پلاسمایی فیبرینوژن، مستقل از عوامل خطر متداول، مارکر مفید برای ارزیابی خطر قلبی عروقی می‌باشد و همچنین گزارش کردند که سطح پلاسمایی PAP با افزایش سن افزایش می‌یابد و سطح بالای PAP با افزایش خطر مرگ قلبی عروقی رابطه معنی‌داری دارد.

با توجه به مطالعات انجام شده، علت و اهمیت افزایش پلاسمینوژن کاملا مشخص نیست که احتمالا بدلیل افزایش مهارکننده‌های پلاسمینوژن (PAI) و یا مهار جذب پلاسمینوژن به فیبرین می‌باشد که هر دو عمل می‌تواند بدلیل افرایش آنتی‌پلاسمین نیز اتفاق بیفتد. از آنجا که تشکیل پلاسمین شدیداً به سطح (PAI) وابسته است تغییر در سطح آن منجر به ایجاد اختلالات می‌گردد.

در یک مطالعه کمبود پلاسمینوژن را یک نقص وراثتی دانسته‌اند که موتاسیون miss-sense در ژن‌های این پروتئین رخ داده است این نقص ژنی ممکن است منجر به اختلالات ترومبولیتیک گردد (۲۱).

در مطالعه Feinberg و همکاران (۲۲) گزارش کردند سطوح PAP در گروه بیماران CAD که داروهای ضد انعقاد مصرف نمی‌کردند، بطور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود که نشان دهنده فعالیت ضعیف فیبرینولیتیک می‌باشد.

در مطالعه حاضر سطح پلاسمایی PAP در گروه بیمار بطور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بوده و حاکی از تولید کم پلاسمین می‌باشد؛ لذا فرض مطالعه که احتمالا پلاسمین کم تولید شده صحیح بوده و البته تولید آن بستگی به غلظت فعال کننده‌های پلاسمینوژن و غلظت مهار کننده‌های فعال سازهای پلاسمینوژن نیز دارد. از این رو احتمالا مطالعه سطح پلاسمایی موارد گفته شده نیز می‌تواند در تعیین عوامل اختلال‌گر فیبرینولیز موثر باشد.

نتیجه‌گیری

در کنار ریسک فاکتورهای شناخته شده از جمله مصرف سیگار و هیپرلیپیدمی و هیپرتانسیون و دیابت، مارکرهای مهم بیوشیمیایی از قبیل فیبرینوژن، پلاسمین، پلاسمینوژن و PAP نقش مهمی در ایجاد CAD و عوارض ناشی از آن دارند که می‌توان با اندازه‌گیری این مارکرها در پلاسمای افراد به یک تشخیص زود هنگام حوادث قلبی عروقی و همچنین به یک پیش آگهی در مورد ایجاد و پیشرفت بیماری عروق کرونری دست یافت و در آینده از این طریق می‌توان کمک مؤثری برای این بیماران انجام داد.

References

1. Naderi GA, Sarraf-Zadegan N, Boshtam M, Asgari S, Afyooni A, Jalali A, et al. The situation of new risk factors of cardiovascular disease in urban population of Isfahan. *Journal of Kerman University of Medical Sciences* 2004; **11**(1): 28-35.
2. Sakakura K, Nakano M, Otsuka F, Ladich E, Kolodgie FD, Virmani R. Pathophysiology of atherosclerosis plaque progression. *Heart Lung and Circulation* 2013; **22**(6): 399-411. doi: 10.1016/j.hlc.2013.03.001
3. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine* 2005; **352**(16): 1685-1695. doi: 10.1056/NEJMra043430
4. Tousoulis D. Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation. *Current Pharmaceutical Design* 2011; **17**(37): 4089-4110.
5. Lima LM, Carvalho MDG, Sousa MDO. Plasminogen and fibrinogen plasma levels in coronary artery disease. *Revista Brasileira De Hematologia E Hemoterapia* 2012; **34**(4): 298-301.
6. Tatli E, Ozcelik F, Aktoz M. Plasma fibrinogen level may predict critical coronary artery stenosis in young adults with myocardial infarction. *Cardiology Journal* 2009; **16**(4): 317-320.
7. Alkjaersig N, Fletcher AP, Sherry S. The mechanism of clot dissolution by plasmin. *Journal of Clinical Investigation* 1959; **38**(7): 1086-1087.
8. Clauss A. Gerinnungsphysiologische schnellmethode zur bestimmung des fibrinogens. *Acta Haematologica* 1957; **17**(4): 237-246.
9. Holvoet P. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the measurement of plasmin-alpha 2-antiplasmin complex in human plasma--application to the detection of in vivo activation of the fibrinolytic system. *Thrombosis and Haemostasis* 1986; **56**(2): 124-127.
10. Ploplis VA, Castellino FJ. Nonfibrinolytic functions of plasminogen. *Methods* 2000; **21**(2): 103-110. doi: 10.1006/meth.2000.0981
11. Campbell JH, Campbell GR. Cell biology of atherosclerosis. *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension* 1994; **12**(10): S129-S132.
12. Folsom AR, Delaney JAC, Lutsey PL, Zakai NA, Jenny NS, Polak JF, et al. Associations of factor VIIIc, D-dimer, and plasmin-antiplasmin with incident cardiovascular disease and all-cause mortality. *American Journal of Hematology* 2009; **84**(6): 349-353.
13. Meade TW, Chakrabarti R, Haines AP, North WRS, Stirling Y, Thompson SG, et al. Haemostatic function and cardiovascular death: early results of a prospective study. *The Lancet* 1980; **315**(8177): 1050-1054. doi: 10.1016/S0140-6736(80)91498-1
14. Ogston CM, Ogston D. Plasma fibrinogen and plasminogen levels in health and in ischaemic heart disease. *Journal of Clinical Pathology* 1966; **19**(4): 352-356.
15. Meltzer ME, Doggen CJM, Groot PG, Rosendaal FR, Lisman T. Plasma levels of fibrinolysis proteins and the risk of myocardial infarction in men. *Blood* 2010; **116**(4): 529-536.
16. Jenkins GR, Seiffert D, Parmer RJ, Miles LA. Regulation of plasminogen gene expression by interleukin-6. *Blood* 1997; **89**(7): 2394-2403.
17. Hoffmeister A, Rothenbacher D, Khuseyinova N, Brenner H, Koenig W. Plasminogen levels and risk of coronary artery disease. *The American Journal of Cardiology* 2002; 90(10): 1168-1170. doi: 10.1016/S0002-9149(02)02792-3
18. Sakkinen PA, Cushman M, Psaty BM, Rodriguez B, Boineau R, Kuller LH, et al. Relationship of plasmin generation to cardiovascular disease risk factors in elderly men and women. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1999; **19**(3): 499-504.
19. Maleki A, Mansouri K, Mirshahi M, Pourfatholah AK, Akrami M. The potential of antiplasminogen monoclonal antibodies in fibrinolysis & angiogenesis system manipulation. *Tehran University Medical Journal* 2009; **67**(1): 33-41.
20. Morange PE, Bickel C, Nicaud V, Schnabel R, Rupprecht HJ, Peetz D, et al. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease the atherogene study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2006; **26**(12): 2793-2799. doi: 10.1161/01.ATV.0000249406.92992.0d
21. Booth NA. Fibrinolysis and thrombosis. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 1999; **12**(3): 423-433. doi: 10.1053/beha.1999.0034
22. Feinberg WM, Macy E, Cornell ES, Nightingale SD, Pearce LA, Tracy RP, et al. Plasmin-a2-antiplasmin complex in patients with atrial fibrillation. *Thromb Haemost* 1999; **82**(1): 100-103.