تاثیرات درمان بیورزونانس بر سیستم آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت‌های مبتلایان به آرتریت روماتوئید[18] (RA)

بی. آ. اسلاموف[19]، ار. ام. بالابانووا[20]، وی. آ. فونیتکوف[21]،
یو. و. گوتووسکی[22] و ای. ای. مایزروف[23]

چکیده

ما میزان فعالیت سوپراکسید دسموتاز[24]، کاتالاز[25] و گلوتاتیون پراکسیداز[26] و گروه‌های تیول غیرپروتئینی (گلوتاتیون احیا شده) در لنفوسیت‌های خونی مبتلایان به آرتریت روماتوئید را پیش و پس از درمان بیورزونانس بررسی کردیم. شرایط سیستم آنتی‌اکسیدانی در لنفوسیت‌های مبتلایانی که درمان‌های دارویی استاندارد را دریافت می‌کنند با فعالسازی آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و کاهش محتوای گروه‌های تیول مشخص می‌شود. درمان بیورزونانس محتوای گروه‌های تیول را افزایش داد و فعالیت سوپراکسیداز دسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را به صورت نرمال درآورد.. با این‌حال، فعالیت کاتالازی بالاتر از گروه کنترل باقی ماند. تغییرات در سیستم آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت‌ها نشانگر این است که درمان بیورزونانس مکانسیم‌های محافظتی غیراختصاصی را در بیماران آتریت روماتوئید فعال کرده است.

---

[18] Rheumatoid Arthritis
[19] B. I. Islamov
[20] R. M. Balabanova
[21] V. A. Funtikov
[22] Yu. V. Gotovskii
[23] E. E. Meizerov
[24] superoxide dismutase
[25] catalase
[26] glutathione peroxidase

واژگان کلیدی: آرتریت روماتوئید، درمان بیورزونانس، سیستم آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت

مقدمه

نقش گونه‌های فعال اکسیژن[۲۷] (ROS) در ایجاد اختلالات خودایمنی از جمله آرتریت روماتوئید (RA) توجهات زیادی را بخود جلب کرده است [۵]. گونه‌های فعال اکسیژن (رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، H_2O_2، پروکسی نیتریل[۲۸] و غیره) در ایجاد آسیب در طی آرتریت روماتوئید دخیل هستند [۹]. اطلاعات کمی درباره سیستم آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت‌های خونی پیرامونی مبتلایان به آرتریت روماتوئید وجود دارد. مشخص نیست آیا درمان بیورزونانس (BRT) می‌تواند این سیستم را تنظیم کند یا خیر [۲].

ما در اینجا سیستم آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت‌های مبتلایان به آرتریت روماتوئید را بررسی و احتمال اصلاح اختلالات مربوطه با کمک درمان بیورزونانس را ارزیابی کردیم.

مواد و روش‌ها

ما ۲۰ بیمار خانم (۱۹-۶۰ ساله) مبتلا به آرتریت روماتوئید در مراحل II-III را معاینه کردیم. تمامی بیماران داروی ضد التهابی غیراستروئیدی دیکلوفوناک[۲۹] (دوز روزانه ۲۰۰-۵۰ mg) را دریافت می‌کردند، ۷ بیمار نیز پردنیزولون[۳۰] (n=7، دوز روزانه ۱۵-۵ mg) و یکی از داروهای آمینوکینولین[۳۱]،

[27] Reactive oxygen species
[28] peroxynitrite
[29] diclofenac
[30] prednisolone
[31] aminoquinoline

متوترکسات[۳۲] و سولفاسالازین[۳۳] را دریافت کردند. درمان بیورزونانس با استفاده از دستگاه IMEDIS-FOLL به مدت نه ماه یک بار در هفته و هر جلسه ۲۰-۳۰ دقیقه صورت پذیرفت. آنالوگ-های الکترونیکی درمان‌های هومیوپاتی متناسب با شرایط بیمار و متناسب با شرایط هر شخص انتخاب شدند [۷].

از خون بیماران، پیش از شروع درمان، در پایان درمان و ۲-۳ ماه پس از [پایان] درمان نمونه برداری شد .

گروه کنترل شامل ۱۰ زن سالم در همان گروه سنی بوده است .

لنفوسیت‌ها (سلول‌های تک‌هسته‌ای) با سانتریفیوژ خون پیرامونی در شیب چگالی اوروگرافین-فیکول (p=1.077) و دوبار شستشو در بافر فسفات جداسازی شدند. فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافرهای خاص اندازه‌گیری شدند. سلول‌ها با فریز شدن ($-۲۰c^o$) و گرم شدن چندین‌باره متلاشی شدند. سپس فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی محاسبه شدند.

محاسبه غلظت گروه‌های احیاشده تیول با استفاده از ۵،۵′-دیتیو-بیس (۲-نیتروبنزوئیک) اسید[۳۴] مطابق آنچه در تحقیقات مربوطه توصیف شده است صورت گرفت [۴]. در نتیجه واکنش میان ۵، ۵′-دیتیو-بیس (۲-نیتروبنزوئیک) اسید و محلول اسیدی گروه-های SH، محصولی رنگی با حداکثر جذب نوری برابر $\lambda=$ ۴۱۲ nm بدست آمد.

فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) با توجه به گلوتاتیون احیا شده و با استفاده از ترت-بوتیل هیدروپراکسید[۳۵] به عنوان سوبسترا تخمین زده شد [۴]. میزان فعالیت کل سوپراکسید دیسموتاز (SOD) مطابق توصیفات آورده شده در تحقیقات مربوطه

---

[32] methotrexate
[33] sulfasalazine
[34] 5,5'- dithio-bis(2-nitrobenzoic) acid
[35] tert-butyl hydroperoxide

محاسبه شد [۱۰]. فعالیت کاتالاز با توجه به نرخ تجزیه H_2O_2 تعیین شد [۱۲].

نتایج با استفاده از آزمون X واندر واردن مورد تحلیل قرار گرفتند. سطح معناداری برابر $p<0.05$ تعیین شد.

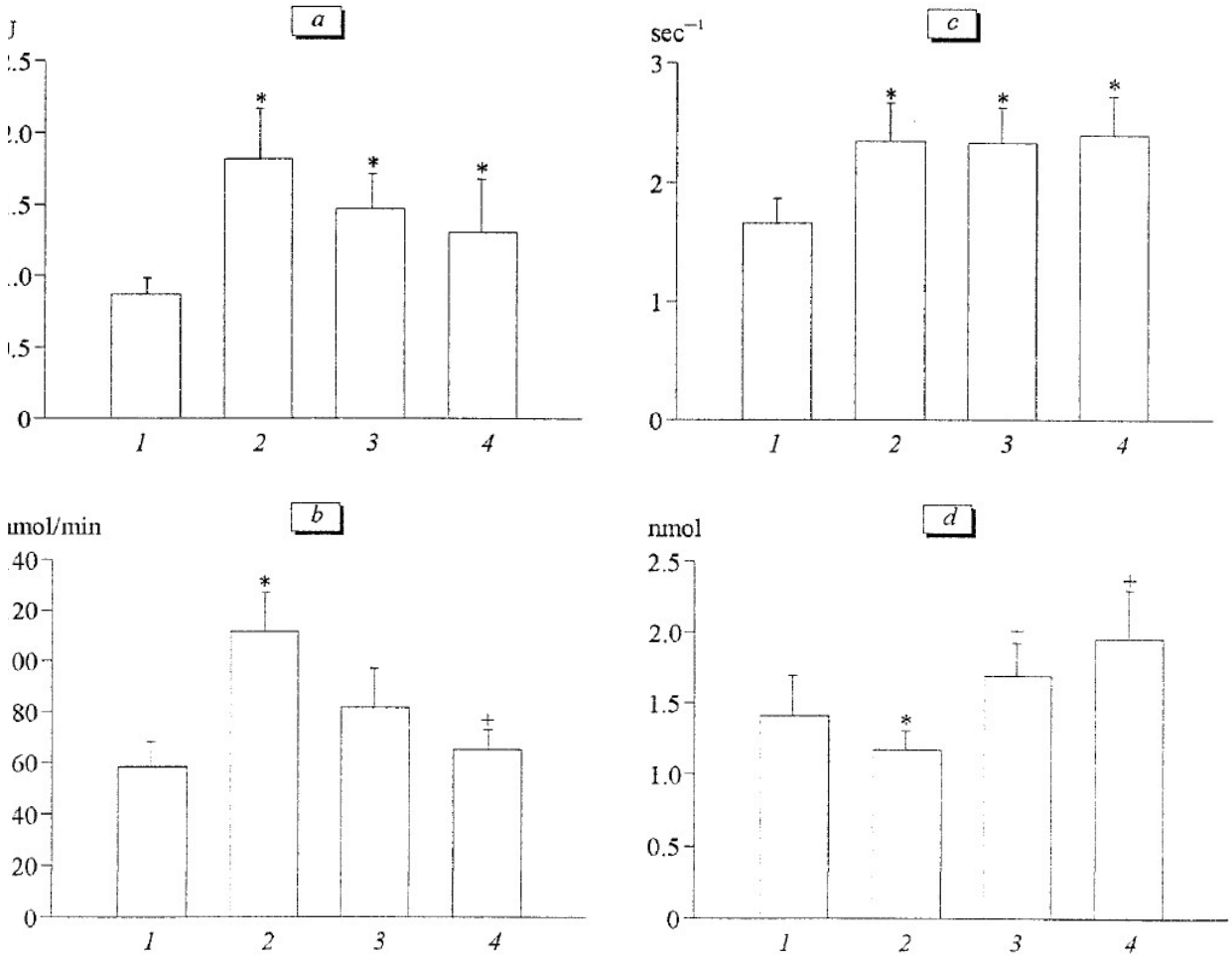
نتایج

پیش از درمان بیورزونانس، فعالیت SOD، کاتالاز و GSH-Px در لنفوسیت‌های خونی مبتلایان به آرتریت روماتوئید به ترتیب ۱۰۹%، ۴۲% و ۹۲% برابر بالاتر از سطوح نرمال بودند. محتوای گروه های تیول غیرپروتئینی در این بیماران در مقایسه با گروه کنترل ۱۷% پایین‌تر بود (تصویر ۱). در طی درمان بیورزونانس فعالیت GSH-Px تا ۳۷% کاهش یافت، اما همچنان ۴۱% بالاتر از سطح نرمال باقی ماند. فعالیت SOD که ۱۰۹% بالاتر از گروه کنترل بود، تا ۱۹% کاهش یافت. فعالیت کاتالاز بدون تغییر باقی ماند. محتوای گروه های تیول غیرپروتئینی تا ۴۴% افزایش یافت و به ۱۲۱% برابر سطح کنترل رسید (تصویر ۱).

این تغییرات در محتوای گروه های تیول غیرپروتئینی و فعالیت-های آنزیم های آنتی‌اکسیدانی پس از پایان درمان بیورزونانس ادامه یافتند. محاسبات صورت گرفته در ۲-۳ ماه پس از درمان بصورت زیر هستند. محتوای گروه های غیرپروتئینی تیول تا ۶۷% افزایش یافت و ۱۳۸% کنترل رسید. فعالیت GSH-Px به نزدیکی سطح فعالیت گروه کنترل رسید و به ۵۸% پایین‌تر از سطح مشاهده شده پیش از درمان رسید. فعالیت SOD به شکل فزاینده کاهش یافت، اما ۵۱% بالاتر از سطح فعالیت گروه کنترل باقی ماند. فعالیت کاتالاز بدون تغییر باقی ماند.

آرتریت روماتوئید معمولا با فعالیت کاهش یافته SOD درون سلولی مرتبط است [۱۴]. مشاهدات ما حاکی از آن بودند که فعالیت SOD در مبتلایان به آرتریت روماتوئید به شکل معناداری بالاتر از افراد سالم است. این مورد احتمالا با درمان با داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی، هورمون‌ها و داروهای سرکوبگر ایمنی و پاسخ جبرانی سلول به تولید دایمی رادیکال-های اکسیژن آزاد مرتبط است. متاسفانه، بیشتر بیماران داروهای متداول را پیش و در طی درمان بیورزونانس دریافت کردند. در بیمارانی که دچار فعالیت پایین SOD هستند، داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی به شکل مشخصی این پارامتر را افزایش می‌دهند [۱۳]. پژوهش‌های پیشین نشان دادند که التهاب و فاگوسیتوز باکتریایی توسط SOD سرکوب می‌شوند [۱۱]. تنظیم فعالیت SOD به شکلی فعالانه شرایط بیمار را بهبود بخشید [۱۳].

طبق مشاهدات ما، شرایط بالینی مبتلایان به آرتریت روماتوئید در طی درمان بیورزونانس با وجود کاهش فعالیت SOD بهبود یافت. می‌توان این فرضیه را مطرح کرد که درمان بیورزونانس پاسخ التهابی و فشار واکنش‌های انطباقی را کاهش داده است.



تصویر ۱. فعالیت‌های SOD (a)، گلوتاتیون پراکسیداز (b) و کاتالاز (c) و محتوای غیرپروتئینی گروه‌های SH (d) در مبتلایان به آرتریت روماتوئید (در هر 10^6 سلول): کنترل (۱)، پیش از درمان (۲)، بلافاصله پس از درمان (۳) و ۲-۳ ماه پس از پایان درمان بیورزونانس (۴).

کاتالاز یک آنزیم حاوی هِم (heme) است که درون پراکسیدوزوم‌ها قرار دارد. این آنزیم H_2O_2 را تجزیه می‌کند که این‌کار به تولید متابولیت‌های فعال اکسیژن منجر می‌شود. داده‌های منتشر شده نشان دادند که ۰٫۵% O_2 پس از تجزیه H_2O_2 تشکیل می‌شود در حالت تک فعالی قرار دارد [۶]. در آزمایشات ما فعالیت کاتالاز

بدون تغییر باقی ماند. احتمالا درمان بیورزونانس منجر به کاهش تولید H_2O_2 نمی‌شود. می‌توان این احتمال را در نظر گرفت که کاتالاز آنزیم آنتی‌اکسیدانی کلیدی در لنفوسیت‌ها نیست. GSH-Px در سیتوپلاسم میتوکندری قرار گرفته است. این آنزیم با اکسید کردن گلوتاتیون و تولید کونژگه های مربوط به آن، تجزیه انواع پراکسیداز را کاتالیز می‌کند. میل ترکیبی GSH-Px برای H_2O_2 از کاتالاز بیشتر است. بنابراین GSH-Px در غلظت‌های پایین H2O2 موثرتر [از کاتالاز] عمل می‌کند. در پژوهش ما، فعالیت GSH-Px در مبتلایان به آرتریت روماتوئید به شکل معناداری از مقادیر آن در افراد سالم پیشی گرفته بود. فعالیت این آنزیم به شکلی فزاینده در طی درمان بیورزونانس کاهش یافت و پس از درمان تقریبا با مقادیر مربوطه در گروه کنترل تفاوتی نداشت. ترکیبات حاوی SH نقشی اساسی در محافظت از سلول‌ها در برابر رادیکال‌های OH تولید شده در طی واکنش فنتون[۳۶] ایفا می‌کنند. ترکیبات تیول هوموستاز فرایند اکسایش-احیا را در سلول‌ها و بافت‌ها حفظ می‌کنند. استرس باعث تعدیل اکسیداتیو برگشت پذیر گروه های تیول می‌شود که این حالت به عنوان واکنش غیراختصاصی به فاکتورهای شدید در نظر گرفته می‌شود [۱]. این تغییرات، شرایط غشا سلول، نفوذپذیری آن و ویژگی‌های چسبندگی آن را تغییر می‌دهند و بر فعالیت آنزیم‌ها و تولید مثل سلولی تاثیرگذار هستند. مطالعات پیشین نشان داده اند که ترکیبات حاوی SH اول از همه تحت اکسیداسیون قرار می‌گیرند. این اتفاق مانع اکسیداسیون سایر گروه های عملکردی و مولکول‌های [مهم] سلولی می‌شود. تغییرات در غلظت گروه های تیولی غیرپروتئینی

---

[۳۶] Fenton reaction: يكي از فرايندهاي اكسيداسيون شيميايي فنتون است كه در آن يون آهن به عنوان كاتاليست در يک محيط اسيدي با اكسيدان وارد واكنش شده و توليد راديكال هيدروكسيل مي نمايد.

با فعالیت GSH-Px در طی درمان بیورزونانس رابطه معکوس داشتند.

نسبت میان گروه‌های SH اکسید شده و احیا شده میزان مقاومت غیراختصاصی ارگانیسم‌ها را نشان می‌دهد [۷].

مشاهدات ما نشانگر آن هستند که پیش از درمان بیورزونانس، سیستم آنتی‌اکسیدانی لنفوسیت‌های مبتلایان به آرتریت روماتوئید که درمان دارویی متداول را دریافت می‌کنند تحت فشار قرار دارد؛ فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی GSH-Px، SOD و کاتالاز افزایش پیدا کرده بود، درحالی که محتوای گروه‌های تیول احیا شده کاهش یافته بود. درمان بیورزونانس محتوای گروه‌های SH احیا شده را افزایش می‌دهد و فعالیت SOD و GSH-Px را به حالت نرمال در می‌آورد. افزایش محتوای گلوتاتیون و القای سنتز پروتئین استرس، ذخایر محافظتی ارگانیسم را بهبود می‌بخشند [۳]. این داده‌ها نشان دادند که درمان بیورزونانس تاثیرات گوناگونی را بر مبتلایان به آرتریت روماتوئید برجای می‌گذارد. درمان بیورزونانس مکانیسم‌های محافظتی غیراختصاصی ارگانیسم در برابر فاکتورهای آسیب‌رسان داخلی و خارجی را شبیه سازی می‌کند.

منابع

1. M. V. Bilenko, *Ischemic and Reperfusion Damages to Organs* [in Russian], Moscow (1989).
2. *Bioresonance Therapy (Methodical Recommendations No. 2000/74)* [in Russian], Moscow (2000).
3. I.Karpishchenko, V. V. Smirnov, S. I. Glushkov, and V. L. Pastushenkov, *Klin. Lab. Diagn.*, No. 12, 41–42 (1997).

4. I.Islamov, V. A. Funtikov, R. V. Bobrovskii, and Yu. V. Gotovskii, *Byull. Eksp. Biol. Med.*, 128,No. 11, 525–528 (1999).
5. T. A. Lisitsyna, M. M. Ivanova, and A. D. Durnev, *Vestn. Ros. Akad. Med. Nauk*, No. 12, 15–19 (1996).
6. E. B. Men'shikova and N. K. Zenkov, *Usp. Sovr. Biol.*, 113, 442–455 (1993).
7. A.V. Samokhin and Yu. V. Gotovskii, *Practical Electropuncture by the Method of R. Foll* [in Russian], Moscow (1997).
8. V. V. Sokolovskii, *Vopr. Med. Khimii*, No. 6, 2 (1988).
9. K. Bauerova and S. Bezek, *Gen. Physiol. Biophys.*, 18, 15–20 (1999).
10. C. Beauchamp and I. Fridovich, *Anal. Biochem.*, 44, 276–287 (1971).
11. J. M. McCord, *Science*, 185,No. 150, 529–531 (1974).
12. *Methods of Enzymatic Analysis*, Eds. H. U. Bergmeyer *et al.*, 3rd Ed., Vol. 3, pp. 276–281.
13. M. Nivsarka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 270, 714–716 (2000).
14. M. Rister, K. Bauermeister, U. Gravert, and E. Gladtke, *Lancet*, 1,No. 8073, 1094 (1978).