بررسی میزان پروتئین واکنشی C و آیریزین در بزاق و سرم بیماران مبتلا به انفارکتوس قلبی

شادی ثقفی خادم [۱]*، محمد سوختانلو [۲]، فاطمه زیدآبادی [۳]، عبدالله جوان رشید [۴]

[۱] دانشیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۲] دانشیار گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

[۳] دندانپزشک، مشهد، ایران

[۴] کارشناس ارشد آمار زیستی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۷

Evaluation of High-Sensitivity C-Reactive Protein and Irisin in Saliva and Serum of Patients with Myocardial Infarction

Shadi Saghafi Khadem [1]*, Mohammad Soukhtanloo [2], Fatemeh Zeidabadi [3], Abdollah Javan Rashid [4]

[1] Associate Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

[2] Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

[3] Dentist, Mashhad, Iran

[4] MSc in Biostatistics, School of Dentistry, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: 5 January 2022; Accepted: 28 June 2022

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading cause of mortality worldwide. Despite the importance of early diagnosis and advances in medicine, one-third of Myocardial Infarction (MI) cases remain undiagnosed. Biomarkers are a reflection of the physiologic function and pathologic changes in the body. Saliva is a refined plasma that can replace blood to facilitate and accelerate the diagnosis process given the benefits of its collection and storage. The present study aimed to investigate the correlation between serum and saliva hs-CRP and Irisin concentration in MI patients.

Materials and Methods: In this case-control study, 46 cases were selected including 24 acute MI and 22 controls. The serum and saliva samples were collected and the amount of Irisin and hs-CRP was measured in each sample in the specialized biochemistry laboratory of Mashhad Medical School. Data were analyzed using SPSS (version 22) by Pearson correlation coefficient test ($P<0.05$).

Results: The concentration of Saliva Irisin was significantly lower in the patient group than that in the control group ($P=0.021$). The levels of serum and salivary hs-CRP were significantly higher in the patient group than those in the control group (for both $P<0.001$). The concentration of marker in saliva significantly increased as the concentration of marker increased in serum ($P<0.001$).

Conclusion: Measurement and reduction of salivary Irisin concentrations can be a reliable criterion for diagnosing and predicting MI. The concentration of hs-CRP in saliva and serum is directly related to MI.

Key words: Biomarkers; C-reactive protein; Irisin; Myocardial infarction; Saliva; Serum

Corresponding Author: saghafis@mums.ac.ir

Please cite this paper as:
Saghafi Khadem S, Soukhtanloo M, Ziedabadi F, Javan Rashid A. Evaluation of High-Sensitivity C-Reactive Protein and Irisin in Saliva and Serum of Patients with Myocardial Infarction. ***J Mash Dent Sch. 2023; 47(2): 135-46 .***

چکیده

مقدمه: بیماری قلبی_عروقی علت مهم مرگ و میر در جهان می باشد. علی رغم اهمیت تشخیص زودهنگام و پیشرفتهای دانش پزشکی یک سوم موارد انفارکتوس میوکاردیال (MI) ناشناخته باقی می مانند. بیومارکرها در نتیجه اعمال فیزیولوژیک و تغییرات پاتولوژیک در بدن ایجاد می شوند. بزاق پلاسمای تصفیه شده است و مطالعه بر روی آن می تواند جایگزین آزمایشات خون و سبب تسریع و آسانتر شدن روند تشخیص بیماریها گردد. هدف از انجام این مطالعه تعیین مقدار High- Sensitivity C-Reactive Protein و آیریزین در بزاق و سرم بیماران مبتلا به انفارکتوس میوکارد و تعیین ارتباط بین hs-CRP و آیریزین موجود در بزاق و در سرم بود.

---

* مؤلف مسئول، نشانی: مشهد، میدان پارک، دانشکده دندانپزشکی، گروه آسیب شناسی دهان، تلفن: ۰۵۱-۳۸۸۲۹۵۰۱

E-mail: saghafis@mums.ac.ir

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد شاهدی، ۴۶ نمونه شامل ۲۴ نمونه از بیماران مبتلا به MI حاد و ۲۲ نمونه کنترل سالم انتخاب شدند. نمونه بزاق و سرم افراد مورد مطالعه جمع آوری شد و در آزمایشگاه تخصصی بیوشیمی دانشکده پزشکی مشهد میزان آیریزین و hs-CRP هر یک از نمونه های بزاق و سرم مورد اندازه گیری قرار گرفت. داده ها توسط SPSS با ویرایش ۲۲ با استفاده از آزمون ضریب همبستگی پیرسون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت ($P < 0.05$).

یافته ها: غلظت آیریزین سرم در گروه بیمار کمتر از گروه کنترل بود ($P=0.205$). غلظت آیریزین بزاق نیز در گروه بیمار به شکل معنی داری کمتر از گروه کنترل بود ($P=0.021$). میزان hs-CRP سرم و بزاق در گروه بیمار بطور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود ($P<0.001$). با افزایش غلظت مارکر در سرم، غلظت مارکر در بزاق نیز بطور معنی داری افزایش یافت ($P<0.001$).

نتیجه گیری: سنجش غلظت آیریزین بزاق و کاهش آن می تواند معیار قابل اعتمادی برای تشخیص و پیش بینی سکته قلبی باشد. غلظت بیومارکر hs-CRP بزاق و سرم ارتباط مستقیمی با سکته قلبی دارد.

کلمات کلیدی: hs-CRP، آیریزین، انفارکتوس میوکارد، بزاق، سرم.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۴۰۲ دوره ۴۷ / شماره ۲ : ۴۶-۱۳۵.

مقدمه

بیماری قلبی-عروقی شایعترین علت مرگ و میر در بسیاری از جوامع می باشد و حدود ۳۱ درصد مرگها در جهان به علت این بیماری می باشد.[۱و۲] آنفارکتوس میوکاردیال حاد (AMI) یک بیماری قلبی عروق کرونری است و زمانی رخ می دهد که ایسکمی قلبی باعث اختلال عمل و مرگ سلولی شود. این بیماری تهدید کننده حیات بیماران در تمام گروههای سنی و در تمام جوامع می باشد.[۳] علی رغم پیشرفتهای انجام شده در روند تشخیص و شناسایی بیماران، بسیاری همچنان بدون تشخیص باقی مانده و یا تشخیص آنها با تأخیر صورت می گیرد و در نتیجه زمان لازم جهت درمان مناسب را از دست می دهند.[٤]

در موارد اورژانسی جهت تشخیص انفارکتوس میوکارد و بررسی نکروز میوکاردیال از روش الکتروکاردیوگرام (ECG) و اندازه گیری بیومارکرهای سرم استفاده میشود. اندازه گیری تروپونین قلبی با حساسیت بالا یک روش تشخیصی دیگر در این بیماران است. در موارد اورژانس بررسی مارکرهای بیوشیمیایی و آنزیمهای قلبی نسبت به ECG ترجیح داده می شوند.[۵]

در بافتها و مایعات بدن بیومارکرها و بیومولکولهایی وجود دارند که می توانند نشانگر عمل فیزیولوژیک و تغییرات پاتولوژیک در بدن باشند. بسیاری از این مولکولها از طریق انتقال فعال یا غیرفعال و فیلتراسیون خارج سلولی، وارد جریان خون می شوند.[٦]

التهاب، نقش مهمی در روند آترواسکلروز بستر عروقی دارد و در تمام مراحل تشکیل پلاک تا عوارض ایسکمیک کلینیکی آن نقش دارد. پروتئین واکنشیC (CRP) یک پروتیین پلاسما از خانواده pentraxins است. از آنجا که CRP یک پروتیین فاز حاد ساخته شده در هپاتوسیتها در پاسخ به سیتوکاینهای پیش التهابی خصوصاً اینترلوکین ٦ می باشد، این پروتئین به طور گسترده به عنوان یک مارکر التهابی عمومی شناخته شده است.[۷] CRP در اولین ساعات آسیب بافتی یا شروع التهاب، با تحریک سایتوکاینها (اینترلوکین های ٦ و ۱ و TNF-α) توسط هپاتوسیتهای کبد تولید می شود. تحقیقات اخیر نشان می دهد CRP علاوه بر کبد، به صورت موضعی به وسیله سلولهای ماهیچه صاف دیواره عروق کرونر، مخصوصاً عروق دچار آترواسکلروزیس و سلولهای التهابی در محل تخریب بافتی، نیز بیان می شود. در واکنشهای فاز حاد مانند موارد عفونت

یا آسیب بافتی وسیع میزان CRP افزایش می یابد و در عرض ٦ ساعت به میزان ۱۰ هزار برابر و تا ٤٨ ساعت به پیک خود می رسد. نیمه عمر آن ۱۹ ساعت است.[۹و۸] میزان بالا CRP با افزایش ریسک مرگ و میر، افزایش وقوع انفارکتوس قلبی و نیاز به ریواسکولاریزاسیون اورژانسی همراه است.[۱۰]

سطح بالای CRP که در عفونتهای حاد یا التهابات بروز می نماید، در سرم توسط روش بررسی مرسوم، اندازه گیری می شود در حالی که سطوح پایین تر CRP که دلالت بر افزایش ریسک بیماری قلبی عروقی دارد، به روش حساسیت بالا high sensitive CRP تعیین می شود.[۱۱] از آنجا که hs-CRP مطمئن ترین بیومارکر خون در بیماران MI و آترواسکلروتیک است، روش مفیدی برای شناسایی گروه کنترل سالم در معرض خطر و تشخیص موارد با ریسک بالا نیز می باشد.[۱۲]

آیریزین عمدتاً به عنوان یک هورمون فعالیتی دارای ۱۱۲ اسید آمینه مشتق شده از عضلات اسکلتی شناخته می شود[۱] که اولین بار در سال ۲۰۱۲ توسط Botrom[۱۳] معرفی شد. این هورمون علاوه بر عضلات اسکلتی، در بسیاری از مکان های دیگر مثل بافت چربی، کبد، قلب و غده پاروتید نیز تولید می شود. به نظر می رسد که این پپتید به منظور تقویت فعالیت سلول های چربی قهوه ای در میان بافت چربی سفید ترشح می شود و می تواند گرمازایی و مصرف انرژی را افزایش دهد. در سال های اخیر علاوه بر تنظیم فعالیت، رابطه آیریزین و بیماری های کلینیکی نیز بررسی شده است. به عنوان مثال در افراد گروه چاق نسبت به گروه لاغر سطح پایین تری از آیریزین گزارش شده است؛ سطح سرمی آیریزین در بزرگسالان چاق با بیماری کبد چرب غیر الکلی کاهش می یابد، همچنین غلظت آیریزین در افراد با سندرم متابولیک در مقایسه با افراد سالم بالاتر است. افزایش سطح هورمون های آیریزین در گردش، با پیشرفت بیماری های مهم قلبی عروقی (MACE)[1] در بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر همراه است. با این حال، نقش ایرزین سرم به عنوان یک پیش بینی کننده برای خطر مرگ و میر در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی شناخته شده نیست.[۱۵و۱٤]

بزاق یک منبع مهمی از بیومارکرهای خون و ادرار می باشد. امروزه توجه بیشتری به استفاده از نمونه مایع دهانی برای تشخیص انواع بیماریهای دهانی و سیستمیک معطوف شده است. بزاق یک محیط تشخیصی غیر تهاجمی است که دارای محاسنی از نظر جمع آوری ذخیره سازی و کنترل می باشد.[۱۱] از طرفی زمان اندازه گیری مارکرها در بزاق به همان سرعت نمونه خون خواهد بود. در هنگام بروز MI و مراجعه بیمار به بیمارستان در صورت به هوش نبودن بیمار، خونگیری میتواند بدون وارد کردن استرس بیشتر به بیمار انجام شود؛ اما در صورت به هوش بودن بیمار انجام خونگیری درد، استرس و فشار روحی بیشتری به بیمار وارد می کند که میتوان از روش های کم استرس تر و کم تهاجمی تری مانند بزاق جهت آزمایش مارکرها استفاده کرد. مطالعات بسیار کمی در رابطه با بیومارکرهای سرم و بزاق بیماران قلبی انجام شده است. Fu و همکاران[۱٦] نشان دادند که اختلال در عمل آیریزین در بیماریهای قلبی عروقی مانند فشار خون، بیماری عروق کرونری و انفارکتوس میوکارد نقش دارد. Liu و همکاران[۱۷] هم بیان کردند که hs-CRP سرم می تواند بیومارکر مفیدی برای بیان شدت بیماریهای قلبی عروقی بوده و به لایه بندی ریسک ابتلا به آن کمک کند. تا کنون مطالعه ای پیرامون مقایسه این دو

[1] Major Adverse Cardiovascular Events (MACE)

مارکر در بزاق و سرم بیماران مبتلا به MI حاد انجام نشده است.

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط دو مارکر hs-CRP و آیریزین موجود در بزاق و سرم با وقوع انفارکتوس حاد میوکارد می باشد که در نتیجه با تشخیص سریعتر و درمان به موقع می توان کیفیت زندگی چنین بیمارانی را بهبود بخشید.

مواد و روش ها

این پژوهش در کمیته اخلاق سازمانی دانشکده/منطقه ای دانشگاه علوم پزشکی مشهد و شماره ۹۶۰۴۷۲ مطرح و با کد IR.mums.sd.REC.1394.289 مصوب گردیده است.

در این مطالعه مورد–شاهدی، ۵۰ نمونه شامل ۲۵ نمونه بیمار مبتلا به AMI و ۲۵ نمونه کنترل سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا از هر دو گروه رضایت نامه آگاهانه گرفته شد. بیماران AMI از میان بیماران مراجعه کننده به اورژانس بیمارستان قلب و عروق جوادالائمه مشهد از مهر تا اسفند ۱۳۹۷ انتخاب شدند که طی ۴۸ ساعت گذشته با علامت درد قفسه سینه مراجعه کرده و تشخیص بیماری آنها توسط دو کاردیولوژیست پس از معاینات بالینی و پاراکلینیکی شامل بررسی ECG و آزمایش تروپونین مورد تأیید قرار گرفت.[۱۵] کنترل از بین همراهان سالم بیماران که سابقه ای از AMI نداشتند، انتخاب شدند. تمام افراد، سن بالای ۱۸ سال؛ BMI بین ۱۹ تا ۲۵ کیلوگرم بر سانتی متر مربع و رضایت شرکت در مطالعه را داشتند. معیارهای خروج افراد شامل چاقی، سابقه مصرف الکل و دخانیات، بارداری و شیردهی، مصرف داروهای ترومبولیتیک و یا سایر داروها، ابتلا به بیماری التهابی و یا ایمونولوژیک، بدخیمی و یا هر گونه بیماری زمینه ای و یا سیستمیک بود.[۱۸و۱۹] اطلاعات دموگرافیک نمونه های مورد مطالعه ثبت گردید و سپس نمونه خون و بزاق از هر دو گروه جمع آوری شد.

نمونه خون افراد مورد مطالعه در حالت نشسته از رگ فمورال یا رادیال با سرنگ ۵ سی سی و گیج ۲۱ گرفته شد.[۱۴] جهت جمع آوری نمونه بزاقی، ابتدا افراد توسط متخصص پاتولوژی دهان مورد معاینه داخل دهانی قرار گرفتند و میزان بهداشت دهانی آنها مورد بررسی قرار گرفت. سپس به بیمار توصیه شد تا دهان خود را بطور کامل با آب شستشو داده و در حالت نشسته نمونه بزاق بصورت غیر تحریکی جمع آوری گردد. نحوه جمع آوری بزاق به اینصورت بود که از افراد خواسته شد تا بزاق تحریک نشده خود را به روش Spitting به داخل ظرف جمع آوری بزاق بریزند.[۲۰] سپس نمونه ها در محیط حاوی پک های یخ بلافاصله به آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی منتقل گردیدند.

نمونه ها تا زمان انجام آنالیز در آزمایشگاه در دمای ۸۰– درجه سانتیگراد نگه داری شدند. در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی آزمایش مربوط به تعیین میزان hs-CRP و آیریزین با استفاده از کیت مربوطه به روش Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) بر روی نمونه خون و بزاق انجام شد.(۱۴)

جهت اندازه گیری hs-CRP، ابتدا نمونه های سرم و بزاق به مدت ۱۰دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس۵۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در سینی نمونه دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمی Mindray مدل Bs-800 ساخته شده توسط کشور چین، قرار داده شد. محلول شماره۱ و شماره۲ کیت سینی نمونه اضافه شد. براساس پروتکل کیت از محلول شماره ۱ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به نمونه ها و بلانک (شامل ۱۰ میکرولیتر آب مقطر) اضافه شد، پس از مخلوط شدن، به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوباسیون انجام شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول شماره ۲ کیت به نمونه ها و بلانک اضافه و پس از مخلوط شدن، به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۳۷

درجه سانتی گراد انکوبه و جذب نوری اولیه کالیبراتور و نمونه ها اندازه گیری شد. دقیقا پس از ۹۰ ثانیه جذب نوری دوم اندازه گیری شد.

جهت محاسبه تغییر جذب نوری، جذب نوری اندازه گیری شده در مرحله اول برای هر کووت از جذب نوری اندازه گیری شده در مرحله دوم کسر شد، سپس تغییرات جذب نوری به دست آمده برای کالیبراتور های مختلف، در جدول لگاریتمی وارد و بر اساس منحنی به دست آمده غلظت نمونه ها و کنترل تعیین شد.

جهت اندازه گیری آیریزین نمونه های سرم و بزاق به مدت ۱۰دقیقه سانتریفوژ شدند. ابتدا محلول های مختلف استاندارد بر اساس پروتکل کیت مصرفی آماده شدند، ۵۰ میکرولیتر از محلول های استاندارد و ۵۰ میکرو لیتر نیز از نمونه های بزاق و سرم (۴۰ میکرولیتر از نمونه بزاق و سرم به همراه ۱۰میکرولیتر از آنتی بادی) در چاهک های پلیت ریخته شده و به تمام چاهک ها ۵۰ میکرولیتر از محلول Streptavidin-HRP اضافه شد. مواد داخل پلیت با کمک دستگاه Shaker مخلوط شده، سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دستگاه انکوباتور در دمای ۳۷درجه سانتی گراد نگه داری شدند. در مرحله بعد پلیت به دقت خالی شده و توسط محلول شستشوی رقیق شده شسته و به هر خانه ابتدا ۵۰ میکرولیتر از محلول کروموژن A سوبسترا و بعد از آن ۵۰ میکرولیتر محلول کروموژن B سوبسترا اضافه شد. پس از مخلوط شدن مواد، پلیت به مدت ۱۰دقیقه در دستگاه انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و دور از نور قرار داده شد. پس از سپری شدن زمان تعیین شده، از انکوباتور خارج و به هر چاهک ۵۰ میکرولیتر محلول جهت توقف واکنش اضافه شد (رنگ آبی پلیت بلافاصله پس از افزودن محلول متوقف کننده واکنش به زرد تغییر پیدا می کند). در نهایت نتایج پلیت در دستگاه ELISA Reader در طول موج ۴۵۰ نانومتر ثبت شد.[۲۱]

توصیف داده ها با استفاده از جداول و نمودارها ی مناسب آماری جهت بیان شاخصهای پراکندگی و شاخصهای گرایش به مرکز انجام شد. تحلیل داده ها با استفاده از آزمون ضریب همبستگی پیرسن انجام شد. سطح معنی دار در عملیاتهای آماری ۰/۰۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه از میان ۵۰ نمونه بیمار و کنترل، تعداد یک مورد از بیماران و سه مورد از گروه کنترل به دلیل کمبود نمونه از مطالعه حذف شدند. از کل ۴۶ نفر مورد مطالعه، ۲۷ نفر مذکر و ۱۹ نفر مونث با میانگین سنی ۱۶/۸۴±۵۰/۴۳ سال و دامنه سنی ۲۳ تا ۸۲ سال بودند.

میانگین غلظت آیریزین سرم در گروههای بیمار و کنترل اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (P=0.205). میانگین غلظت آیریزین بزاق نیز در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری کمتر بود (P=0.021).

میانگین غلظت hs-CRP های سرم و بزاق در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری بیشتر بود (برای هر یک P<0.001). (جدول۱)

جدول ۱ : مقایسه آیریزین و hs-CRP بزاق و سرم بین دو گروه مورد مطالعه

متغیر	گروه	تعداد	میانگین*	انحراف معیار	کمترین*	بیشترین*	میانه	نتیجه آزمون تی مستقل
آیریزین سرم	بیمار	۲٤	۸/۹۰	۱/۰۳	۵/۸۰	۱۰/٦۰	۸/۸۰	T =۱/۲۹
	کنترل	۲۲	۹/۲۸	۱/۰۰	۷/٦۰	۱۱/۳۰	۹/٤۰	P =۰/۲۰۵
آیریزین بزاق	بیمار	۲٤	٦/٤۹	۰/۸٤	۵/۳۰	۸/۳۰	٦/۵۰	T =۲/٤۰
	کنترل	۲۲	۷/۱٤	۰/۹۹	٤/٦۰	۹/۰۰	٦/۹۰	P =۰/۰۲۱
hs-CRP سرم	بیمار	۲٤	۸/٦۵	۱/۰۰	۷/۲۰	۱۰/۹۰	۸/۵۵	T=۳٤/۷۹
	کنترل	۲۲	۱/۰۵	۰/۲٤	۰/۷۰	۱/٦۰	۱/۰۰	P<۰/۰۰۱
hs-CRP بزاق	بیمار	۲٤	۲/۹۹	۰/۸٤	۱/۷۰	٤/۹۰	۲/۹۵	T =۵/۸۳
	کنترل	۲۲	۰/۵۸	۰/۱۳	۰/٤۰	۰/۸۰	۰/۵۵	P<۰/۰۰۱

غلظت مارکر آیریزین در سرم، با افزایش سن در هر دو گروه بیمار و کنترل، کاهش می یافت اما مقدار همبستگی معنی دار نبود (r=-0.348 و P=0.096) و (r=-0.157 و P=0.484)

غلظت آیریزین در بزاق با افزایش سن، در گروه بیمار بطور جزئی افزایش می یافت و درگروه کنترل کاهش می یافت، اما مقدار همبستگی در هیچ یک معنی دار نبود (r=0.192 و P=0.369) و (r=-0.239 و P=0.285).

با افزایش غلظت آیریزین در سرم گروه بیمار، غلظت مارکر در بزاق بطور جزئی کاهش می یافت اما مقدار همبستگی معنی دار نبود (r=-0.048 و P=0.823) اما در گروه کنترل با افزایش غلظت آیریزین در سرم، غلظت مارکر در بزاق نیز افزایش می یافت، اما مقدار همبستگی معنی دار نبود (r=0.157 و P=0.486).

با افزایش سن، غلظت hs-CRP افزایش غیر معناداری در سرم و بزاق گروه بیمار نشان می داد به ترتیب (r=0.154، P=0.471 و r=0.127 ، P=0.554).

در گروه بیمار، با افزایش غلظت hs-CRP در سرم، غلظت مارکر در بزاق نیز افزایش می یافت و مقدار همبستگی معنی دار بود (r=0.895 و P<0.001).

در گروه کنترل، غلظت hs-CRP، با افزایش سن، در سرم و بزاق افزایش معناداری را نشان می داد (r=0.765 ، P<0.001 و r=0.656 ، P=0.001).

در گروه کنترل با افزایش غلظت hs-CRP در سرم، غلظت مارکر در بزاق نیز افزایش می یافت و مقدار همبستگی معنی دار بود (r=0.753 و P<0.001). (جدول۲) جهت بررسی تأثیر همزمان متغیرها بر آیریزین بزاق از رگرسیون خطی با روش استاندارد استفاده شد و همه متغیرهای مورد مطالعه وارد مدل شدند. همانگونه که مشاهده می گردد هیچ یک از متغیرها تأثیر معنی داری بر مقدار آیریزین بزاق نداشتند (جدول۳).

جدول ۲ : ارتباط بین میزان بزاق و سرم با یکدیگر و با سن به تفکیک آیریزین و hs-CRP

گروه		آیریزین			hs-CRP		
		سرم و بزاق	بزاق و سن	سرم و سن	سرم و بزاق	بزاق و سن	سرم و سن
بیمار	ضریب همبستگی پیرسون	-۰/۰۴۸	£۰/۱۹۲	£-۰/۳۴۸	۰/۸۹۵	£۰/۱۲۷	£۰/۱۵۴
(تعداد=۲۴)	P-value	۰/۸۲۳	۰/۳۶۹	۰/۰۹۶	<۰/۰۰۱	۰/۵۵۴	۰/۴۷۱
کنترل	ضریب همبستگی پیرسون	۰/۱۵۷	-۰/۲۳۹	-۰/۱۵۷	£۰/۷۳۵	£۰/۶۵۶	۰/۷۶۵
(تعداد=۲۲)	P-value	۰/۴۸۶	۰/۲۸۵	۰/۴۸۴	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

£: ضریب همبستگی اسپیرمن

جدول ۳ : متغیرهای مؤثر بر آیریزین بزاق با استفاده از روش استاندارد در رگرسیون خطی

مؤلفه	ضریب رگرسیون	خطای استاندارد	t	P-value
گروه (بیمار)	-۰/۶۶۳	۰/۵۱۱	-۱/۲۹۸	۰/۲۰۲
سن	-۰/۰۰۳	۰/۰۱۵	-۰/۱۷۰	۰/۸۶۶
جنس (مرد)	۰/۳۴۱	۰/۳۰۰	۱/۱۲۰	۰/۲۷۰
سرم آیریزین	۰/۰۸۴	۰/۱۴۴	۰/۵۸۵	۰/۵۶۲

جهت بررسی تأثیر همزمان متغیرها بر hs-CRP بزاق از رگرسیون خطی با روش استاندارد استفاده شد و همه متغیرهای مورد مطالعه وارد مدل شدند. همانگونه که مشاهده می گردد هیچ یک از متغیرهای سن و جنس تأثیر معنی داری بر مقدار hs-CRP بزاق نداشتند، اما متغیرهای گروه و hs-CRP سرم تأثیر معنی داری بر hs-CRP بزاق داشتند (برای هر یک P<0.001) بطوریکه با ثابت نگهداشتن سایر متغیرها، در افراد گروه بیمار نسبت به گروه سالم بطور متوسط مقدار hs-CRP بزاق کمتر بود. همچنین به ازای هر یک واحد افزایش در hs-CRP سرم، hs-CRP بزاق بطور متوسط ۰/۷۴۲ واحد افزایش می یافت (جدول۴).

جدول ۴ : متغیرهای مؤثر بر hs-CRP بزاق با استفاده از روش استاندارد در رگرسیون خطی

مؤلفه	ضریب رگرسیون	خطای استاندارد	t	P-value
گروه (بیمار)	-۳/۱۳۳	۰/۴۷۴	-۶/۶۰۹	<۰/۰۰۱
سن	-۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	-۰/۷۰۵	۰/۴۸۵
جنس (مرد)	-۰/۰۲۳	۰/۰۹۵	-۰/۲۳۷	۰/۸۱۴
Serum HS-CRP	۰/۷۴۲	۰/۰۶۲	۱۲/۰۲۸	<۰/۰۰۱

بحث

بر اساس نتایج مطالعه حاضر غلظت آیریزین سرم در گروه کنترل به شکل غیر معنی دار (P=0.205) و غلظت آیریزین بزاق در گروه کنترل به شکل معنی داری (P=0.021) بیشتر از گروه بیمار بود. علی رغم پیشرفتهای حاصل در علم پزشکی تاکنون، AMI هنوز عامل بسیاری از موارد مرگ و میر در جهان به حساب می آید، در نتیجه تشخیص زود هنگام آن از اهمیت ویژه ای برخوردار است. مطالعات بسیار اندکی در رابطه با نقش بیومارکرهای بزاقی در تشخیص AMI تا کنون انجام شده است. در این مطالعه دلیل استفاده از بزاق این بود که می تواند به عنوان مایع استثنایی برای اهداف پژوهشی و تشخیصی مورد استفاده قرار بگیرد و جایگزین مناسبی برای خون باشد؛ چراکه روش نمونه گیری آن غیرتهاجمی است و به صورت روتین و بدون آموزش خاصی از بیمار دریافت می شود. Miller و همکاران[۱۱] سرم و بزاق را از جهت مفید بودن به عنوان مایعات تشخیصی برای MI مورد بررسی قرار دادند و هدف آن ها این بود که ببینند آیا بیومارکرهای بزاق می توانند جهت تشخیص MI مفید باشند یا خیر. نتایج نشان داد که اندازه گیری بیومارکرهای بزاق به همراه ECG می تواند برای تشخیص MI مورد استفاده قرار گیرد.

اگرچه بافت قلب محل اصلی برای تولید آیریزین است و کاهش سطح آیریزین سرم شاخصی برای شدت بیماری قلبی- عروقی می باشد، اما هنوز در رابطه با علت کاهش آیریزین بدنبال MI اطلاعات زیادی در دست نیست.

به طور کلی نتایج مطالعه کلینیکی ما در توافق با مطالعات حیوانی گذشته می باشد که نشان داده بودند غلظت آیریزین در موارد مبتلا به انفارکتوس میوکارد در مقایسه با گروه کنترل به تدریج کاهش می یابد. مطالعه Sarioglu و همکاران[۲۲] با بررسی ایمونوهیستوشیمیایی، افزایش معنی دار آیریزین را، در بافت قلب ۲۱ موش که در اثر ایزوپروترنول دچار MI شدند، گزارش نمود. همچنین در مطالعه Anastasilakis و همکاران[۲۳] و Gue و همکاران[۲٤] نشان داده شد که بیماران مبتلا به MI یا بیماری قلبی- عروقی در مقایسه با گروه کنترل سطح آیریزین پایین تری داشتندکه مشابه یافته مطالعه ما می باشد. در مطالعه ای که توسط Aydin و همکاران[۲۱] بر روی ۱۱ بیمار مبتلا به AMI و ١٤ بیمار کنترل انجام شد، کاهش آیریزین سرم و بزاق در بیماران MI در مقایسه با گروه کنترل گزارش شد.

Emanuele و همکاران[۲۵] بیان کردند سطح آیریزین در افراد جوان مبتلا به انفارکتوس میوکارد به طور قابل توجهی پایین تر است. Huh و همکاران[۲٦] نیز ارتباط مثبت بین آیریزین با سن را گزارش کردند. اما در مطالعه ی ما، همانند مطالعه ی Liu و همکاران[۲۷] بین سن و آیریزین رابطه معکوس بود، به این صورت که سطح آیریزین سرمی با افزایش سن بیمار کاهش یافت. Rana و همکاران[۲۸] بیان کردند که سطح آیریزین در گردش به طور مثبتی با طول تلومر در ارتباط است زیرا طول تلومر کوتاهتر نه تنها با سن مرتبط است؛ بلکه با ریسک انفارکتوس میوکاردیال هم در ارتباط می باشد. بر اساس این نتایج ارتباط بین افزایش سن و کاهش آیریزین سرمی در مطالعه ما توجیه می شود.

فتاحیان و همکاران[١٤] اعلام کردند که احتمال میرود، کاهش آیریزین در افرادی که سکته قلبی در آنها رخ داده است، یک مکانیسم محافظتی برای قلب محسوب شود، چرا که به دلیل اثرات آیریزین در افزایش ترموژنز، اگر آیریزین کاهش نیابد، این احتمال وجود دارد که خسارت بافتی در اثر کمبود انرژی بیشتر باشد. همچنین در مقالات اشاره شده است که سلول های آسیب دیده قلبی بعد از MI به انرژی بیشتری نسبت به قبل نیاز دارند تا میوسیت ها بازسازی شوند. بنابراین تولید آیریزین و آزاد سازی آن محدود

می شود و بافت های تولید کننده اصلی بواسطه از دست دادن ATP از طریق خواص پروتئین های غیر مزدوج، گرمای بیشتری تولید می کنند. اگر میزان آیریزین در MI کاهش نیابد، سلول های قلبی و سایر سلول ها به دنبال آزاد شدن انرژی به صورت گرما در معرض خطر بیشتری در غلظت های بالاتر آیریزین قرار می گیرند. بنابراین اینطور فرض می شود که اگر ATP در بافت های موضعی مورد نیاز باشد، تولید آیریزین آن را در این محل ها کاهش می دهد.[۲۹و۱۳]

به نظر می رسد سنتز و آزاد سازی آیریزین اساسا بوسیله فعالیت بدنی تنظیم می شود و به انرژی مورد نیاز بافت ها بستگی دارد و آیریزین ممکن است مانند هورمون به عنوان کنترل کننده انرژی عمل کند. لذا بیان کمتر آیریزین می تواند نقش مثبت در پاتوژنز وقایع حاد قلبی داشته باشد.[۳۱و۳۰و۲۱]

تغییرات در اعمال میتوکندری بر روی پاتوژنز و وقایع قلبی عروقی پس از MI تأثیرگذار می باشد. هموستاز میتوکندری سبب تعدیل آپوپتوز، استرس اکسیداتیو و بقای کاردیومیوسیت ها به دنبال هیپوکسی می شوند. مطالعات بیان کرده اند که آیریزین ممکن است از طریق تنظیم میتوکندریال از پرولیفراسیون سلولی و افزایش مصرف اکسیژن در کاردیومیوبلاست ها جلوگیری نماید.[۳۳و۳۲و۳۰] آیریزین یک محصول منفعل و غیرفعال آسیب کاردیومیوسیت ها نمی باشد بلکه یک مولکول ترشح شده با واسطه ی انرژی است، لذا شاید در وضعیت های کاهش خون و اکسیژن، میوکاردیوم آیریزین کمتری آزاد کند تا نیازهای متابولیک قلب را مهار کند و انرژی در دسترس پایین را جبران نماید.[۲۳] مطالعه Hsieh و همکاران[۳۰] نشان داد که با افزایش غلظت سرمی آیریزین، خطر ابتلا به عوارض قلبی عروقی بیشتر می شود، با این حال برای اثبات آن به مطالعات و پژوهش های بیشتری نیاز است.

در مطالعه حاضر غلظت آیریزین در سرم بیماران گروه کنترل به شکل غیر معنی داری بیشتر بود، دلیل غیر معنی دار بودن نتایج در رابطه با سرم برخلاف بزاق ممکن است مربوط به ترکیبات بزاق و ترشحات آن باشد. شواهد نشان می دهند که در بزاق پپتید هایی ساخته می شوند که غلظتشان بیشتر از سرم است، درثانی غدد بزاقی خود می توانند آیریزین ترشح کنند[۳۴]، لذا به دلیل غلظت بیشتر پپتید های بزاق، سنجش غلظت آیریزین ممکن است اختلاف معنی داری در محاسبات ایجاد کند. بنابراین نتیجه می گیریم بررسی بزاق بیماران از نظر غلظت آیریزین برای پیش بینی و تشخیص MI به دلیل غیر تهاجمی بودن و دقت بالا مناسب است. Rahim و همکاران[۸] نیز بررسی پروتئین های بزاق را به دلیل راحت بودن جمع آوری نمونه و مزایای بسیار آن در مقایسه با سرم در تشخیص MI مفید و کارامد توصیف کردند.

hs-CRP یک نشانگر التهاب سیستمیک است که می تواند شاخصی برای ریسک بیماری قلبی عروقی باشد. همچنین در بیماران چاق این مارکر بیشتر دیده می شود و با حوادث قلبی عروقی در ارتباط است.[۷] در مطالعه حاضر میزان hs-CRP سرم و بزاق در گروه کنترل بطور معنی داری کمتر از گروه بیمار بود. Ebersole و همکاران[۴] نیز نشان دادند که سطح سرمی و بزاقی hs-CRP در بیماران MI افزایش نشان داد. Liu و همکاران[۱۰] نیز نشان دادند که سطح سرمی hs-CRP در عرض سه روز بعد MI افزایش پیدا می کند و لذا hs-CRP می تواند یک مارکر اختصاصی جهت تشخیص ناهنجاری بطن چپ باشد. فتاحیان و همکاران[۱۴] نیز بیان کردند hs-CRP در بیمارانی که در آنها سکته ی قلبی رخ داده است و همچنین در افراد مبتلا به

تصلب شریان به صورت معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود. بر اساس نظر Koenig و همکاران[۳۵] در بین تمام بیومارکرهای خون، برای بیماران مبتلا به MI و آرترواسکلروتیک، hs-CRP مطمئن ترین انتخاب است. Battistoni و همکاران[۳۶] که تأثیرات مربوط به نقش تشخیصی، پیش آگهی دهنده و پیشگیرانه بیومارکرهای در گردش خون را در بیماران کاردیو واسکولار مورد بررسی قرار داده بودند، بیان کردند که در بین مارکرهای التهابی در گردش برای روند آرترواسکلروز، hs-CRP به دلیل سهولت اندازه گیری شاخص می باشد.

نکته ی قابل توجه در نتایج مطالعه ما، مشاهده رابطه معنادار بین غلظت hs-CRP در سرم با غلظت آن در بزاق است که نشان میدهد این مارکر در بزاق به خوبی سرم قابل تشخیص است. Ouellet و همکاران[۳۷] هم نشان دادند یک ارتباط متوسط تا قوی بین اندازه hs-CRP بزاق و سرم وجود دارد.

با توجه به فواید بررسی بزاق در مقایسه با سرم به نظر می رسد که بیومارکرهای بزاق مانند آیریزین و hs-CRP می توانند شاخص های مطلوبی در تشخیص و پیش بینی وقوع AMI باشند.

به طور کلی آیریزین و hs-CRP می توانند مارکر تشخیصی مناسب برای تشخیص و پیش بینی MI در بزاق باشند. همچنین با سنجش بیومارکر hs-CRP در سرم، می توان شانس ابتلا به MI را بررسی کرد. با این حال برای نتیجه گیری قطعی هنوز نیاز به مطالعات و پژوهش های بیشتری در این زمینه می باشد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، سنجش غلظت آیریزین بزاق و کاهش آن می تواند معیار قابل اعتمادی برای تشخیص MI باشد. همچنین غلظت بیومارکر hs-CRP بزاق و سرم می تواند با وقوع احتمالی MI در ارتباط باشد. از آنجا که تشخیص و پیش بینی حملات MI بسیار حائز اهمیت است، نتایج مطالعه ی حاضر نشان می دهد استفاده از بزاق در مقابل روش معمول تشخیصی سرم در ارتباط با سنجش بیومارکر های مرتبط با MI، می تواند مفید باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه شماره ۲۹۵۹ با حمایت معاونت پژوهشی و فناوری و بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است، که بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر پژوهشگران ابراز می گردد.

منابع

1. Jameson JL, Kasper DL, Longo DL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Harrison's. Principles of internal medicine. 20th ed. USA: McGraw-Hill Education; 2018.
2. Ma C, Ding H, Deng Y, Liu H, Xiong X, Yang Y. Irisin: a new code uncover the relationship of skeletal muscle and cardiovascular health during exercise. Front Physiol 2021; 12:620608.
3. Damiani G, Salvatori E, Silvestrini G, Ivanova I, Bojovic L, Iodice L, et al. Influence of socioeconomic factors on hospital readmissions for heart failure and acute myocardial infarction in patients 65 years and older: Evidence from a Systematic Review. Clin Interv Aging 2015; 10:237-45.
4. Ebersole JL, Kryscio RJ, Campbell C, Kinane DF, McDevitt J, Christodoulides N, et al. Salivary and serum adiponectin and c-reactive protein levels in acute myocardial infarction related to body mass index and oral health. J Periodontal Res 2017; 52(3):419-27.
5. Yaser AA, Mohammed TA. Non-ST Elevation myocardial infarction: diagnosis and management. Myocardial Infarction. UK: London;2018.

6. Abdul Rehman S, Khurshid Z, Hussain Niazi F, Naseem M, Al Waddani H, Sahibzada HA, et al. Role of salivary biomarkers in detection of cardiovascular diseases (CVD). Proteomes 2017; 5(3):21
7. Polyakova EA, Mikhaylov EN. The prognostic role of high-sensitivity C-reactive protein in patients with acute myocardial infarction .J Geriatr Cardiol 2020; 17(7):379–83
8. Rahim MA, Rahim ZH, Ahmad WA, Hashim OH. Can saliva proteins be used to predict the onset of acute myocardial infarction among high-risk patients? Int J Med Sci 2015; 12(4):329-35.
9. Kang DO, Park Y, Seo JH, Jeong MH, Chae SC, Ahn TH, et al. Time-dependent prognostic effect of high sensitivity C-reactive protein with statin therapy in acute myocardial infarction. J Cardiol 2019; 74(1):74-83.
10. Liu D, Qi X, Li Q, Jia W, Wei L, Huang A, et al. Increased complements and high-sensitivity c-reactive protein predict heart failure in acute myocardial infarction. Biomed Rep 2016; 5(6):761-5.
11. Miller CS, Foley III JD, Floriano PN, Christodoulides N, Ebersole JL, Campbell CL, et al. Utility of salivary biomarkers for demonstrating acute myocardial infarction. J Dent Res 2014; 93(7):72-9.
12. Fonseca FA, Izar MC. High-sensitivity c-reactive protein and cardiovascular disease across countries and ethnicities. Clinics 2016; 71(4):235-42.
13. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-α-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature 2012; 481(7382):463-8.
14. Fatahian A, Nayeri H, Sadeghi M. Irisin, a new biomarker in diagnosis of atherosclerosis and myocardial infarction. J Isfahan Med Sch 2015; 33(350): 1506-16.
15. Shen S, Gao R, Bei Y, Li J, Zhang H, Zhou Y, et al. Serum irisin predicts mortality risk in acute heart failure patients. Cell Physiol Biochem 2017; 42(2):615-22.
16. Fu J, Li F,Tang Y,Cai L,Zeng C,Yang Y,Yang J. The emerging role of irisin in cardiovascular diseases. J Am Heart Assoc 2021; 10:e022453.
17. Liu Y, Yao Y, Tang XF, Xu N, Jiang L, Gao Z, et al. Impact of high-sensitivity C-reactive protein on coronary artery disease severity and outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. J Cardiol 2020; 75(1):60-5.
18. Efe TH, Açar B, Ertem AG, Yayla KG, Algül E, Yayla C, et al. Serum irisin level can predict the severity of coronary artery disease in patients with stable angina. Korean Circ J 2017; 47(1):44-9.
19. Yano Y, Hoshide S, Shimada K, Kario K. The impact of cigarette smoking on 24-hour blood pressure, inflammatory and hemostatic activity, and cardiovascular risk in Japanese hypertensive patients. J Clin Hypertens 2013; 15(4):234-40
20. Glick M, William M. Burket's oral medicine. USA: People's Medical Publishing House; 2015.
21. Aydin S, Aydin S, Kobat MA, Kalayci M, Eren MN, Yilmaz M, et al. Decreased saliva/serum irisin concentrations in the acute myocardial infarction promising for being a new candidate biomarker for diagnosis of this pathology. Peptides 2014; 56:141-5
22. Güney Sarioğlu MD, Hasan Korkmaz MD, Ebru Önalan Dr TK, Mücahit Yilmaz MD, Murat Özgüler MD. Irisin levels increase during experimentally-induced acute myocardial infarction. Curr Res Cardiol 2016; 3(1):9-12.
23. Anastasilakis AD, Koulaxis D, Kefala N, Polyzos SA, Upadhyay J, Pagkalidou E, et al. Circulating irisin levels are lower in patients with either stable coronary artery disease (cad) or myocardial infarction (mi) versus healthy controls, whereas follistatin and activin A levels are higher and can discriminate mi from CAD with similar to CK-MB accuracy. Metabolism 2017; 73:1-8
24. Guo W, Zhang B, Wang X. Lower irisin levels in coronary artery disease: a meta analysis. Minerva Endocrinol 2020; 45:61–69.
25. Emanuele E, Minoretti P, Pareja-Galeano H, Sanchis-Gomar F, Garatachea N, Lucia A. Serum irisin levels, precocious myocardial infarction, and healthy exceptional longevity. Am J Med 2014; 127(9):888-90.
26. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. Metabolism 2012; 61(12):1725-38.
27. Liu JJ, Wong MD, Toy WC, Tan CS, Liu S, Ng XW, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Complicat 2013; 27(4):365-9.
28. Rana KS, Arif M, Hill EJ, Aldred S, Nagel DA, Nevill A, et al. Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. Age 2014; 36(2):995-1001.
29. Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Sahin I, Kalayci M, et al. Irisin: a potentially candidate marker for myocardial infarction. Peptides 2014; 55:85-91.
30. Hsieh IC, Ho MY, Wen MS, Chen CC, Hsieh MJ, Lin CP, et al. Serum irisin levels are associated with adverse cardiovascular outcomes in patients with acute myocardial infarction. Int J Cardiol 2018; 261:12-7.

31. Fu J, Li F, Tang Y, Cai L, Zeng C, Yang Y, Yang J. The emerging role of irisin in cardiovascular diseases. J Am Heart Assoc 2021; 10:e022453
32. Wang J, Lin F, Guo LI, Xiong XJ, Fan X. Cardiovascular disease, mitochondria, and traditional Chinese medicine. J Evid Based Complementary Altern Med 2015; 2015:143145.
33. Xie C, Zhang Y, Tran TD, Wang H, Li S, George EV, et al. Irisin controls growth, intracellular Ca2+ signals, and mitochondrial thermogenesis in cardiomyoblasts. Plos One 2015; 10(8):e0136816.
34. Altay DU, Korkmaz M, Ergon S, Korkmaz H, Noyan T. Salivary irisin: potential inflammatory biomarker in recurrent apthous stomatitis patients. Eur Rev Med Pharmacol 2021; 25:2252-9.
35. Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: from improved risk prediction to risk-guided therapy. Int J Cardiol 2013; 168(6):5126-34.
36. Battistoni A, Rubattu S, Volpe M. Circulating biomarkers with preventive, diagnostic and prognostic implications in cardiovascular diseases. Int J Cardiol 2012; 157(2):160-8.
37. Ouellet-Morin I, Danese A, Williams B, Arseneault L. Validation of a high-sensitivity assay for C-reactive protein in human saliva. Brain Behav Immun 2011; 25(4):640-6.