مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره سی، شماره هفت، مهر ۱۴۰۱
تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۲۱
تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۳/۲۹

مروری بر روش‌های آزمایشگاهی سنجش استرس اکسیداتیو

فاطمه اسدیان[۱]، محمدعلی تخشید[*۱،۲]

مقاله مروری

مقدمه: سیستم دفاع ضداکسیدانی شامل ترکیبات ضد اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی با خنثی‌سازی ترکیبات اکسیدان، سلول‌ها را از آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند. افزایش تولید ترکیبات اکسیدان و کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی موجب بروز استرس اکسیداتیو می‌گردد. نقش استرس اکسیداتیو در ایجاد اختلال در عملکرد اندام‌ها و بروز بیماری‌ها و در مقابل تقویت سیستم دفاع ضداکسیدانی در پیشگیری و تسکین بیماری‌ها در مطالعات مختلف نشان داده شده است. از این‌رو تعیین شاخص‌های معتبری که بتوانند به دقت وضعیت استرس اکسیداتیو را ارزیابی نمایند موضوع مطالعات متعددی در دهه‌های گذشته بوده است. اندازه‌گیری رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال به روش فلوسیتومتری، تعیین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی مایعات بدن، اندازه‌گیری محصولات اکسایش ماکرومولکول‌ها، تعیین فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیدان، و تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با سیستم ضد اکسیدان از زمره این روش‌ها می‌باشند. در این مطالعهٔ مروری، مزایا و محدودیت‌های هر یک از این روش‌ها مورد بحث قرار می‌گیرد.

نتیجه‌گیری: با توجه به محدودیت‌ها و عوامل مخدوش‌کننده بالقوه نشانگرهای فعلی استرس اکسیداتیو باید برای هر مطالعه از روش مناسب استفاده نموده و در تفسیر نتایج احتیاط کرد. علاوه بر این، برای غلبه بر محدودیت‌های هر نشانگر پیشنهاد می‌گردد از ترکیبی از روش‌های مختلف برای ارزیابی استرس اکسیداتیو استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، ضد اکسیدان، بیومارکر، پراکسایش لیپیدها

ارجاع: اسدیان فاطمه، تخشید محمدعلی. **مروری بر روش‌های آزمایشگاهی سنجش استرس اکسیداتیو**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۱؛ ۳۰ (۷): ۵۰۱۳-۴۹۹۶.

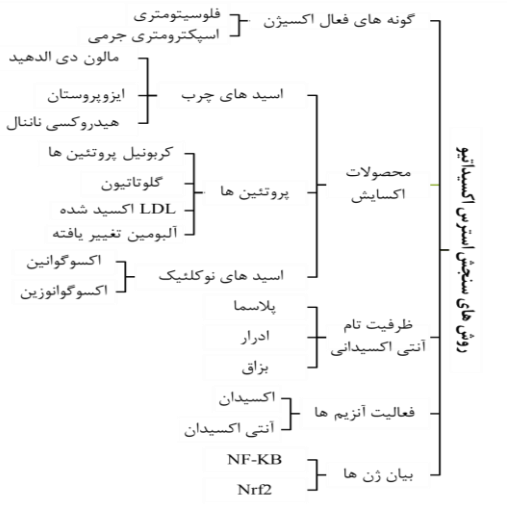
۱-گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۲- مرکز تحقیقات علوم و فناوری تشخیص آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۷۳۱۲۱۶۹۹، پست الکترونیکی: takhshidma@sums.ac.ir، کد پستی :۷۱۴۳۹۱۸۵۹۶

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

مقدمه

عوامل محیطی و واکنش‌های سلولی از علل تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن محسوب می‌شوند. سموم کشاورزی (۱،۲) داروها (۳،۴)، اشعه‌های رادیواکتیو (۵)، و فلزات سمی مانند آلومینیوم (۶،۷) از عوامل محیطی تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشند. گونه‌های فعال هم‌چنین در واکنش‌های آنزیمی بدن شامل آنزیم‌های گزانتین‌اکسیداز، نیتریک‌اکسیدسنتاز، NADPH اکسیداز، و میلوپروکسیداز به وجود می‌آیند (۸). سیستم دفاع ضداکسیدانی شامل مولکول های غیرآنزیمی (گلوتاتیون، ویتامین A، C، E و ضد اکسیدان‌های مواد غذایی)، پپتیدهای ضد اکسیدان (۴) و آنزیم‌های ضد اکسیدان سوپراکسید دیس‌موتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن را خنثی می‌کنند (۹). افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن از یک سو و کاهش توانایی سیستم دفاع ضداکسیدانی بدن در خنثی‌سازی آن‌ها موجب بروز استرس اکسیداتیو می‌گردد. تحقیقات دهه‌های اخیر نقش استرس اکسیداتیو در ایجاد بیماری‌های ریوی (۱۰)، کلیوی (۱۱)، کبدی (۱۲)، قلبی- عروقی (۱۳)، دیابت (۱۴)، سرطان‌ها (۱۵)، آلزایمر و پارکینسون (۷) و اختلالات متابولیسمی (۸،۱۶) را مورد تایید قرار داده‌اند. در مقابل مطالعات متعددی نشان داده شده‌اند که تقویت سیستم ضداکسیدانی بدن شامل آنزیم‌های ضد اکسیدان سوپراکسید دیس‌موتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ضد اکسیدآن‌های غیر آنزیمی مانند گلوتاتیون، ویتامین‌های A، C، E، و پلی‌فنل‌ها در پیشگیری و درمان بیماری‌ها موثر می‌باشند (۱۹-۱۷). از این‌رو وجود روش‌های که بتوانند به دقت شرایط اکسیداتیو بدن را تعیین و گزارش نمایند به یک ضرورت و ابزار مهم در ارزیابی پیشرفت و درمان بیماری‌ها و در نتیجه پیشبرد سلامت انسان تبدیل شده است. شاخص‌های متعددی در دهه‌های گذشته پیشنهاد شده‌اند. اگرچه فقط برخی آن‌ها دارای استانداردهای لازم و تکرارپذیری هستند. انـدازه‌گـیری مستقیم رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن با کمک نشانگرهای فلوروسنت و فلوسیتومتری (۲۰)، تعیین ظرفیت تام آنتـی‌اکسـیدانی مایعات بدن (۲۱)، اندازه‌گیری محصولات اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک (۲۲)، تعیین فعالیت آنزیم‌های اکسیدان و ضد اکسیدان (۲۳)، و سنجش بیان ژن‌های مرتبط با سیستم ضد اکسیدان (۲۴،۲۵) از زمره این روش‌ها می‌باشند. در این مطالعهٔ مروری به معرفی این روش‌ها (شکل ۱) و بررسی نقاط قوت و محدودیت‌های آن‌ها پرداخته می‌شود.



شکل ۱: روش‌های سنجش استرس اکسیداتیو

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

روش بررسی

در این مطالعه ابتدا با جستجوی متون علمی موجود در پایگاه NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov)لیستی از روش‌های سنجش استرس اکسیداتیو تهیه گردید که شامل انـدازه‌گـیری مستقیم رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن به روش فلوسیتومتری، اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتـی‌اکسـیدانی مایعات بدن، اندازه‌گیری محصولات اکسیداسیون اسیدهای چرب، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، تعیین فعالیت آنزیم‌های اکسیدان و ضد اکسیدان، و تغییر در بیان ژن‌های مرتبط با سیستم ضد اکسیدان می‌باشد. سپس در بازه زمانی بین سال ۲۰۱۲ تا ۲۰۲۲ مقالات مروری و تحقیقی مرتبط با هریک از روش‌های فوق که در آن به معرفی شرایط نمونه‌گیری، روش اندازه‌گیری، عوامل مخدوش کننده، و کاربرد بالینی روش مورد نظر پرداخته شده بود انتخاب گردید.

بررسی روش های مختلف سنجش استرس اکسیداتیو

چنانکه در شکل ۱ نشان داده شده است روش‌های مختلفی برای انـدازه‌گـیری استرس اکسیداتیو در مایعات و بافت‌های بدن وجود دارد که در ادامه به بررسی نحوه اندازه‌گیری و هم‌چنین بررسی نقاط قوت و محدودیت‌های آن‌ها پرداخته می‌شود.

۱-اندازه‌گیری گونه‌های فعال به روش فلوسیتومتری

اندازه‌گیری کمی و مستقیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن از روش‌های با ارزش سنجش استرس اکسیداتیو می‌باشد. با این‌حال، با توجه به نیمه عمر کوتاه این گونه‌های فعال، اندازه‌گیری آن‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی یک کار پیچیده است. تاکنون رویکردهای مختلفی شامل تکنیک‌های طیف سنجی جرمی، اسپکتروفتومتری، و لومینسانس مورد استفاده قرار گرفته‌اند اما استفاده از آن‌ها اغلب به کشت سلولی و شرایط برون‌تنی محدود شده است (۲۶). فلوسیتومتری از قویترین ابزارهای بررسی سلولی است که با تعیین هویت سلولی به تشخیص و ارزیابی پیشرفت سرطان‌ها (۲۷) و عفونت‌های ویروسی مانند ایدز (۲۸) کمک می‌کند. افزون بر این، از فلوسیتومتری برای بررسی فرآیندهای سلولی مانند آپوپتوز (۲۹,۳۰)، میزان نفوذپذیری غشا میتوکندری (۳۱)، تغییر متابولیسم سلولی کلسیم (۳۱)، و ارزیابی استرس اکسیداتیو (۳۱,۳۲) نیز استفاده می‌گردد. برای اندازه‌گیری گونه‌های فعال به روش فلوسیتومتری از پروب‌های فلورسنت استفاده می‌گردد. مشتقات دی‌استات شامل دی‌هیدرو کلروفلوئورسئین دی‌استات (DCFH-DA)، دی‌آمینوفلورسئین دی استات (DAF-DA) و ۴-آمینو-۵-متیل‌آمینو-دی فلورواستات (DAF-FM DA) از زمره پروب‌های فلوروسنت هستند که به‌طور گسترده برای تشخیص رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شوند. هنگامی‌که این پروب‌ها جذب سلول‌ها می‌شوند، توسط استرازهای درون سلولی هیدرولیز شده و ترکیباتی غیرفلورسنت و غیرقابل نفوذ از غشا شامل DCFH، DAF-2 یا DAF-FM را ایجاد می‌کنند. اکسایش بعدی این ترکیبات توسط گروه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن منجر به تشکیل ترکیبات فلورسنت می شود. پلاکت‌ها (۳۳)، لکوسیت‌ها (۲۶)، و اریتروسیت‌ها (۳۱) از جمله سلول‌های خونی هستند که جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرند. از DCFH در پلاکت‌ها و لکوسیت‌ها و دی هیدروروداmین ۱۲۳ (Dihydro rodamine HR123;) و هیدرواتیدین (Hyroethidine; HE) در لکوسیت‌های پلی مورفونکلئر استفاده می‌شود. DHR123 یک کاوشگر غیرفلورسنت بدون بار است که به‌طور غیرفعال در غشای سلولی نفوذ می‌کند و پس از اکسایش به رودامین ۱۲۳ (Rho123) فلوروسنت و غیرقابل نفوذ از غشا اتبدیل شده و در میتوکندری‌ها تجمع می‌یابد (۳۴). C11-BOD IPY$^{581/591}$ تنها پروب چربی دوست است که برای ارزیابی گونه‌های فعال اکسیژن در لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها استفاده می‌شود. در ساختار این ماده یک اتصال دوگانه حساس به اکسایش وجود دارد که توسط رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل یا پراکسی اکسیدشده و موجب تغییر فلورسانس آن از قرمز به سبز می‌شود. با توجه به اینکه C11-BODIPY581/591 و محصولات اکسایش آن قادر به نشت از دو لایه لیپیدی نیستند نسبت C11-BODIPY581/591 اکسیدشده به غیر اکسیده‌شده را می‌توان

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

برای معادل‌سازی میزان پروب در سلول‌های با اندازه‌های مختلف مانند لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها استفاده نمود (۳۵). استفاده از این پروب‌ها در سنجش استرس اکسیداتیو دارای محدودیت‌های فراوانی است که در هنگام تفسیر نتایج باید مورد توجه قرار گیرند. داروی‌های شیمی‌درمانی و فلاونوئیدها می‌توانند سیگنال فلورسانس اتیدیوم را کاهش دهد و تفسیر داده‌ها را دشوار کنند. وجود ضد اکسیدان‌ها می‌تواند اکسایش پروب‌ها را بدون تأثیر بر تولید گونه‌های فعال تغییر دهند. هم‌چنین نشان داده شده است که پروتئین‌های دارای هم و Fe^{2+} می‌توانند DCFH را اکسیدکنند از این رو مناسب بودن DCFH DA برای اندازه‌گیری گونه‌های فعال داخل سلولی به طور فزاینده‌ای مورد تردید قرار گرفته است (۳۶). علاوه بر محدودیت های ذکر شده، میزان فلوروسنت به غلظت آن در سلول نیز بستگی دارد. سیستم‌های مقاومت چند دارویی با کمک به خروج پروب‌های فلوروسنت از سلول بر نتایج اثر می‌گذارند. در همین رابطه خروج DCF از لکوسیت‌های انسانی توسط این سیستم گزارش شده است (۳۶). داروها به طور خاص، آسپرین، ایندومتاسین و ایبوپروفن سوبسترای سیستم‌های مقاومت چند دارویی هستند و ممکن است با رنگ آمیزی پروب فلورسنت تداخل داشته باشند (۳۷). علاوه بر این، نشان داده شده است که در روش‌های که از خون کامل و پلاسمای غنی از پلاکت استفاده می کنند استرازهای پلاسما نیز می‌توانند با تجزیه پروب در شدت سیگنال فلورسانس تداخل ایجاد کنند (۳۶). از سنجش مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن در لوکوسیت های در نشان دادن نقش استرس اکسیداتیو در پاتوژنز همودیالیز (۳۸)، دیابت (۳۹)، و هم‌چنین بررسی اثرات سمی مواد نانو (۴۰) استفاده شده است.

۲-اندازه‌گیری محصولات اکسایش ماکرو مولکول‌ها

اندازه‌گیری محصولات اکسایش لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA از روش‌های غیرمستقیم ارزیابی استرس اکسیداتیو می‌باشند. اندازه‌گیری این محصولات به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو از دو جهت دارای مزیت است. چون استرس اکسیداتیو عملکرد بیولوژیکی ترکیبات اکسیدشده را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد این شاخص‌ها از اعتبار خوبی برای کاربردهای بالینی برخوردار هستند. مزیت دوم اندازه‌گیری محصولات ناشی از اکسایش ماکرومولکول‌ها این است که امکان اندازه‌گیری آن‌ها در نمونه‌های مایعات بدن (۴۱) و بافت‌ها (۲,۴) به سهولت وبا هزینه کم فراهم می‌باشد. در ادامه به معرفی این محصولات و برخی از کاربردهای بالینی آن‌ها پرداخته می‌شود.

۲-۱ محصولات اکسایش اسیدهای چرب

سنجش محصول نهایی اکسایش لیپیدها از پرکاربردترین روش‌های اندازه‌گیری استرس اکسیداتیو می‌باشد. وجود پیوندهای دوگانه در اسیدهای چرب غیر اشباع مانند اسید آراشیدونیک، آن‌ها را به آسیب‌های اکسیداتیو توسط رادیکال‌های آزاد مستعد نموده است. پراکسایش اسیدهای چرب غیر اشباع توسط رادیکال‌های آزاد منجر به شکست اسید چرب در محل پیوندهای دوگانه و تولید محصولات کوتاه زنجیر می‌گردد. مالون‌دی‌آلدئید، ۴-هیدروکسی-۲-نانال، و ایزوپروستان‌های F2 از متداول ترین این محصولات هستند که برای ارزیابی استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار می‌گیرند (۴۲-۴۴).

۲-۱-۱ مالون‌دی‌آلدئید

مالون‌دی‌آلدهید، آلکنال‌ها و آلکادینال‌ها با دو مولکول اسید تیوباربیتوریک واکنش داده و محصول صورتی رنگی ایجاد می‌کنند که به روش کالریمتری یا فلوریمتری قابل اندازه‌گیری است. هزینه کم، زمان کوتاه اندازه‌گیری، امکان اندازه‌گیری در مایعات مختلف بدن، و تکرارپذیری مناسب از محاسن این روش است (۴۴). با این وجود این روش دارای محدودیت‌هایی نیز می‌باشد از جمله اینکه اسید تیوباربیتوریک می تواند با برخی قندها، اسیدهای آمینه، بیلی‌روبین و آلبومین واکنش دهد که منجر به ایجاد تداخل در روش اندازه‌گیری می‌شود. تولید مالون‌دی‌آلدئید در دمای بالای هنگام اندازه‌گیری مشکل دیگر این روش است که با اضافه کردن ضد اکسیدان‌هایی مثل بوتیل هیدروکسی تولوئن و هم‌چنین کم‌کردن زمان گرمادهی می‌توان از تولید آن جلوگیری نمود. محدودیت دیگر این روش، تداخل

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

آن با همولیز است که به‌صورت کاذب موجب افزایش سطح مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. تا کنون روش‌های مختلفی برای اصلاح اشکالات روش اسید تیوباربیتوریک پیشنهاد شده است که اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC; High Performance Liquid Chromatography) و به کمک آشکارسازهای ماوراءبنفش یا فلورسانس از سایر روش‌ها قابل اطمینان و تکرارپذیر می‌باشد (۴۵،۴۶).

۲-۱-۲ هیدروکسی-۲-نانال

۴-هیدروکسی-۲-نانال به‌صورت مستقیم به روش HPLC و تکنیک‌های ایمونولوژیک و به صورت محصول مشتق شده با ۲،۴-دی نیتروفنیل هیدرازین به روش کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی (Gas chromatography mass spectroscopy ;GC-MS) قابل اندازه‌گیری است (۴۷). افزایش معنی‌دار ۴-هیدروکسی-۲-نانال در پلاسما و ادرار بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید نسبت به افراد سالم و ارتباط آن با شدت بیماری نشان داده شده است و پیشنهاد شده است که اندازه‌گیری سطح پلاسمایی این شناساگر برای پیگیری پیشرفت این بیماری روش مناسبی است (۴۸).

۲-۱-۳ ایزوپروستان های F2

ایزوپروستان‌های F2 محصولات دیگری از اکسایش اسیدهای چرب است که از واکنش اسیدآراشیدونیک با گروه‌های فعال اکسیژن در فسفولیپیدهای غشا تولید و توسط فسفولیپازها به فرم آزاد رها می‌شوند. از آنجایی‌که مقدار این ترکیبات تحت تأثیر مقدار چربی موجود در رژیم غذایی قرار نمی‌گیرد اندازه‌گیری آن‌ها در مایعات بیولوژیکی تخمینی خوبی از میزان تولید آن‌ها در بدن می‌باشد. سنجش کمی و قابل اعتماد ایزوپروستان‌های F2 نیاز به HPLC وGC-MS دارد هزینه زیاد اندازه‌گیری از محدودیت‌های این روش‌ها می‌باشد. کاربرد تکنیک‌های ایمونواسی نیز درحال گسترش است اگرچه نتایج آن‌ها دارای همسویی کامل با روش طیف‌سنجی جرمی نمی‌باشد. علاوه بر محدودیت‌های روش اندازه‌گیری، در شرایط التهابی پروستاگلاندین$F2\alpha$ به عنوان محصول آنزیمی اکسایش آراشیدونیک اسید نیز تولید می‌گردد و لازم است که به همراه ایزوپروستان‌های F2 که محصولات اکسایش غیر آنزیمی اسید اراشیدونیک ارزیابی گردد (۴۹).

۲-۲ محصولات اکسایش اسیدهای نوکلئیک

۸-اکسوگوانین و ۸-اکسو گوانوزین پرکاربردترین بیومارکر اکسایش DNA می‌باشند که از اکسایش بازهای آلی گوانین DNA به‌وجود می‌آید (۵۰). اندازه‌گیری ۸-اکسوگوانین در نمونه‌های ادرار، خون، و بزاق به روش‌های مختلف شامل GC-MS، HPLC با آشکارساز الکتروشیمیایی (۵۱)، و الیزا (۵۰) انجام می‌گیرد. اندازه‌گیری این دو محصول برای تعیین اثرات استرس اکسیداتیو و هم‌چنین ارزیابی خطر، تشخیص و ارزیابی درمان بیماری‌های خودایمنی، التهابی، نورودژنراتیو، قلبی عروقی، دیابت، سرطان و سایر بیماری‌های مرتبط با افزایش سن مورد استفاده قرار گرفته است (۵۱،۵۲). جمع‌آوری آسان و غیر تهاجمی نمونه‌های ادرار، کاهش تولید محصولات جانبی طی مراحل پردازش نمونه، و پایداری زیاد در نمونه‌های ادرار از مزایای اندازه‌گیری این دو محصول در نمونه‌های ادرار می‌باشد. بزاق نیز یک نمونه غیر تهاجمی و آسان برای جمع‌آوری و اندازه‌گیری این ترکیبات است. به دلیل مقدار بسیار پایین ۸-اکسو گوانوزین در بزاق (پیکوگرم در میلی‌لیتر) اندازه‌گیری دقیق آن دشوار است. اما میزان ۸- اکسوگوانین در بزاق چندین برابر بیشتر از ۸-اکسوگوانوزین و به‌طور متوسط ۳.۸۰ نانوگرم در میلی‌لیتر در افراد سالم غیر سیگاری تعیین شده است (۵۱).

۲-۳ محصولات اکسایش پروتئین‌ها

پروتئین‌ها هدف رایج گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن بوده و به عنوان پاک‌کننده این مواد عمل می‌کنند. اکسایش زنجیره جانبی سیستین، هیدروکسیلاسیون زنجیره های جانبی اسیدهای آمینه، نیتراسیون و کلراسیون تیروزین از مهمترین تغییرات شیمیایی ساختار پروتئین‌ها توسط ترکیبات اکسید کننده می‌باشند. سنجش میزان اکسایش پروتئین‌ها دارای اهمیت بیولوژیکی است و به میزان قابل‌توجهی با بالین در ارتباط است. علاوه بر این پایداری شیمیایی، فراوانی محصولات، و امکان اندازه‌گیری آن‌ها در نمونه‌های خون، ادرار و نمونه‌های

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

بافتی از دلایل دیگر اعتماد به اندازه‌گیری محصولات اکسایش پروتئین‌ها به عنوان بیومارکر استرس اکسیداتیو می‌باشد. البته اکسایش پروتئین‌ها ممکن است حین فرآیند اندازه‌گیری نیز رخ دهد که به دمای نمونه، شکل فیزیکی آن و حضور اکسیژن و یون‌های فلزی و نور بستگی دارد. از این‌رو، اندازه‌گیری محصولات اکسایش پروتئین به عنوان یک مارکر زمانی مفید است که با روش‌های با حساسیت و اختصاصیت بالا و دارای قابلیت تکرارپذیری اندازه‌گیری شوند. به دلیل محدودیت دسترسی به روش‌هایی که به صورت اختصاصی محصولات اکسایش پروتئین را اندازه‌گیری کنند، کاربرد اندازه‌گیری آن‌ها به عنوان یک بیومارکر استرس اکسیداتیو هنوز محدود است (۵۳).

۲-۳-۱ کربونیل پروتئین‌ها

اندازه‌گیری میزان کربونیل پروتئین‌ها رایج‌ترین روش سنجش آسیب اکسایشی پروتئین‌ها است. شکستگی پیوندهای پپتیدی، دآمیناسیون لیزین، و اکسایش زنجیره‌های جانبی پرولین، لیزین، آرژنین و ترئونین موجب تولید گروه‌های کربونیل می‌شوند. این بیومارکر به دلیل تشکیل نسبتاً سریع و پایدار دارای مزیت در مقایسه با اندازه‌گیری سایر محصولات اکسایش است. میزان کربونیل پروتئین‌ها با افزایش سن و هم‌چنین در بیماری‌های نورودژنراتیو، چاقی، و دیابت افزایش می‌یابد. روش‌های الیزا و HPLC بیشترین استفاده را در ارزیابی‌های بالینی کربونیل پروتئین‌ها دارند. تشخیص کربونیل پروتئین‌ها از طریق مشتق‌سازی گروه کربونیل با دی نیتروفنیل هیدرازین (Dinitrophenyl hydrazine; DNPH) و تشکیل محصول پایدار دی نیتروفنیل هیدرازون (DNP) همراه است که با چندین روش ازجمله اسپکتروفتومتری قابل تشخیص است. هم‌چنین می‌توان آن را با تکنیک‌های اختصاصی‌تر مبتنی بر آنتی‌بادی‌های ضد DNP مانند الیزا، وسترن بلات، ایمونوهیستوشیمی و HPLC اندازه‌گیری نمود (۵۴).

۲-۳-۲ نیتروتیروزین

۳-نیترو-تیروزین محصول اکسایش تیروزین می‌باشد. اندازه‌گیری نیتروتیروزین در نمونه‌های بیولوژیکی به روش‌های کروماتوگرافی مایع یا گازی همراه با طیف سنج جرمی نیاز دارد که در اغلب آزمایشگاه‌های بالینی شرایط آن مهیا نیست. برای سنجش بهتر، بایستی پروتئین استخراج شده از نمونه‌های بیولوژیکی به‌طور کامل قبل از اندازه‌گیری هیدرولیز گردد. خطایی که ممکن است در این مرحله رخ دهد نیتراسیون تیروزین موجود در نمونه است که در حضور نیتریت و شرایط اسیدی و هیدرولیز پروتئین رخ می‌دهد. روش الیزا نیز امکان‌پذیر است، اما استفاده از آن‌ها به علت گرایش متفاوت آنتی‌بادی‌ها برای پروتئین‌های نیتراته و حساسیت کم آن با محدودیت روبه‌رو است (۵۵). نیتروتیروزین به‌عنوان یک نشانگر پایدار استرس اکسیداتیو در بیماری‌های تحلیل برنده سیستم عصبی شناخته شده است، اما کاربرد آن به عنوان بیومارکر بالینی هنوز مورد تردید است (۵۶).

۲-۳-۳محصولات اکسایش پیشرفته پروتئین‌ها (AOPP)

واکنش پروتئین‌ها با اکسیدکننده‌های کلری مانند اسید هیپوکلرو که طی التهاب ایجاد می‌شوند منجر به کلردار شدن تیروزین موجود در ساختار پروتئین‌ها و تشکیل کلرو-تیروزین و دی‌کلروتیروزین می‌شود که محصولات اکسایش پیشرفته پروتئین (Advance oxidative protein product ;AOPP) نامیده می‌شوند. سطح AOPP را می‌توان به کمک روش‌های رنگ‌سنجی و با استفاده از استاندارد کلرآمین اندازه‌گیری کرد. کلروتیروزین یک بیومارکر بسیار اختصاصی است که با روش‌های بسیار حساس مانند طیف سنجی جرمی اندازه‌گیری می‌شود. AOPP یک مارکر استرس اکسیداتیو و التهاب در بسیاری از بیماری‌ها شناخته شده است و سطح آن در بیماری‌هایی مانند دیابت، اورمی، اسکلروز سیستمیک، آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی-عروقی و در بیماران با عوارض کلیوی و نیز با پیشرفت نارسایی مزمن کلیه افزایش می‌یابد (۵۷).

۲-۳-۴ LDL اکسیدشده

LDL اکسیدشده (**Oxidized LDL; oxLDL**) از اکسایش اسیدهای آمینه یا فسفاتیدیل کولین موجود در لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL) ایجاد می‌گردد. رایج‌ترین روش سنجش آن الیزا است (۵۸). استفاده از oxLDL به عنوان بیومارکر استرس اکسیداتیو به علت

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

ناهمگنی محصولات ناشی از اکسایش، اختصاصیت کم آنتی‌بادی‌ها و اختلاف در نتایج به‌دست آمده از روش‌های متفاوت، مورد انتقاد قرار گرفته است. علاوه براین، پاکسازی oxLDL و تشکیل کمپلکس‌های ایمنی نیز باید در نظر گرفته شود. افزایش جذب oxLDL در ماکروفاژها تشکیل سلول‌های کف آلود و تصلب شرایین را تحریک می‌کند (۱۳). بنابراین، oxLDL نه تنها یک مارکر استرس اکسیداتیو است بلکه یک عامل بیماری‌زا نیز هست و لازم است سودمندی آن در معاینات بالینی ارزیابی شود.

۲-۳-۵ آلبومین تغییریافته در اثر ایسکمی (IMA)

آلبومین فراوان‌ترین پروتئین سرم است که به‌عنوان ناقل بسیاری از مولکول‌های زیستی و هم‌چنین یک ترکیب ضد اکسیدان عمل می‌کند (۵۹). درایسکمی میوکارد گونه‌های فعال اکسیژن موجب ایجاد تغییرات ساختاری در انتهای آمینی آلبومین و ایجاد آلبومین تغییر یافته در اثر ایسکمی (Ischemia Modified Albumin;IMA) می‌شوند. این تغییرات توانایی آلبومین برای اتصال به فلزات واسطه به ویژه کبالت را کاهش می‌دهد که با آزمایش اتصال آلبومین به کبالت (Albumin Cobalt Binding ;ACB) قابل تشخیص و اندازه‌گیری است. این روش مقدار IMA را به‌طور غیرمستقیم و با اندازه‌گیری میزان کاهش ظرفیت اتصال آلبومین به کبالت اندازه‌گیری می‌کند (۶۰). سازمان غذا و دارو امریکا (FDA) ابتدا IMA را به عنوان روشی برای شناسایی ایسکمی میوکارد معرفی کرد (۶۱). اما شواهد روزافزون حاکی از آن است که IMA اختصاصی ایسکمی قلبی نیست، بلکه سطوح افزایش یافته آن در شرایط همراه با استرس اکسیداتیو مانند سیروز کبدی، آمبولی ریوی، دیابت شیرین، بیماری عروق مغزی و بیماری آلزایمر نیز دیده می‌شود و سطح سرمی IMA می‌تواند به‌عنوان یک مارکر استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد (۱۶،۶۲). با این وجود محدودیت‌های در استفاده از IMA به عنوان یک شاخص استرس اکسیداتیو مطرح گردیده است. از جمله نشان داده شده است که علاوه بر انتهای آمینی، آلبومین حاوی دو جایگاه دیگر برای اتصال کبالت است که جایگاه اتصال اسیدهای چرب به آلبومین نیز می‌باشند. از این‌رو، این فرضیه مطرح شده است که علت کاهش ظرفیت اتصال کبالت به البومین در ایسکمی میوکارد آزاد سازی اسیدهای چرب است (۶۳). به علاوه روش ACB به تغییرات pH و هم‌چنین دما و زمان نگهداری نمونه حساس است و این موارد موجب تغییر در ظرفیت اتصالی آلبومین به فلز می‌شود. آنالیز نمونه باید در عرض ۲ ساعت انجام شود یا اینکه سرم را باید جدا و منجمد کرد. اخیراً، چندین روش ایمونواسی مبتنی بر آنتی‌بادی‌های اختصاصی ضد IMA در بازار عرضه شده است (۶۴).

۲-۳-۶ گلوتاتیون

گلوتاتیون احیا (Reduced Glutathion; GSH) بیشترین تیول غیر پروتئینی سلولی و تری‌پپتیدی متشکل از سه اسید آمینه گلیسین، سیستئین و اسید گلوتامیک است. GSH بخشی از سیستم دفاعی ضداکسیدانی سلول‌های بدن است و با کمک آنزیم گلوتاتیون پرکسیداز موجب احیا پراکسید هیدروژن به آب می‌گردد و خود در این واکنش به گلوتاتیون اکسید (GSSG) تبدیل می‌گردد. GSSG سپس توسط گلوتاتیون ردوکتاز و با صرف NADPH، مجدداً به GSH تبدیل می‌شود. نسبت گلوتاتیون احیا شده به اکسیده شده در سلول اغلب به‌عنوان نشانگر سمیت سلولی استفاده می‌شود (۶۵). غلظت GSH در خون تام در محدوده میلی‌مولار است، در حالیکه غلظت پلاسمایی آن در محدوده میکرومولار است (۶۶). سنتز گلوتاتیون به دسترسی به سیستئین به عنوان پیش ماده محدودکننده سرعت بستگی دارد. این محدودیت استفاده از آن را به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو مورد تردید قرار داده است. با این حال، مطالعات متعددی کاهش میزان GSH و نسبت GSH به GSSG را با شرایط پاتولوژیک همراه با استرس اکسیداتیو مرتبط می‌دانند. اندازه‌گیری GSH و GSSG و نسبت آن‌ها در خون را به عنوان شاخصی از وضعیت اکسایش-احیا بدن و یک شاخص کارا برای بیماری‌های انسانی در نظر گرفته شده است (۶۷،۶۸). روش‌های مختلفی شامل روش آنزیمی (۶۹)، HPLC با آشکارساز الکتروشیمیایی (۶۶)، و طیف سنجی جرمی (۷۰) برای اندازه‌گیری GSH در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]
[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

نمونه‌های بیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته است. از آنجایی که GSH به اکسایش و تخریب در طول نمونه‌برداری و مراحل اندازه‌گیری حساس است، باید توجه دقیقی برای جلوگیری از وقوع چنین حوادثی صورت گیرد. منجمد کردن بافت‌ها با نیتروژن مایع و نگهداری در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد یا اسیدی‌کردن پلاسما یا نمونه‌های بافت در سریع‌ترین زمان ممکن، اتواکسایش و تخریب را به حداقل می‌رساند (۶۹).

۳-بیان ژن‌ها

Nrf-2 (Nuclear Factor -erythroid related factor-2) که یک فاکتور رونویسی و تنظیم‌کننده اصلی سیستم پاسخ ضداکسیدانی است که بیان بیش از ۲۵۰ ژن را کنترل می‌کند. Nrf-2 در سیتوپلاسم با پروتئین Keap1 (Kelch-likeECH-associating protein 1) کمپلکس ایجاد می‌کند، که پلی یوبیکوئیته شدن و تخریب آن به واسطه پروتئازوم را تسهیل می‌کند. Keap1 حاوی گروه‌های سیستئین اختصاصی است که به اکسایش در حضور اکسیدآن‌ها حساس است و به عنوان یک حسگر اختصاصی استرس اکسیداتیو عمل می‌کند و پس از اکسید شدن و تغییر شکل، Nrf-2 را آزاد می‌کند و موجب انتقال آن به هسته می‌شود. Nrf-2 رونویسی از مجموعه‌ای از ژن‌ها مانند گلوتاتیون S- ترانسفراز، گلوتاتیون سنتتاز و هم اکسیژناز ۱ که حاوی عناصر پاسخ ضداکسیدانی در نواحی پروموتر هستند را افزایش می‌دهد. بنابراین، Nrf-2 با دفاع سلولی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن رابطه دارد. فعالیت آن با افزایش سن و هم‌چنین با اختلالات دژنراتیو کاهش می‌یابد. به علاوه ضد اکسیدان‌ها بیان ژن آنزیم‌های ضداکسیدان را به واسطه Nrf2 افزایش می‌دهند (۲۵,۷۱). بر خلاف Nrf2، NF-kB (Nuclear factor-kB) رونویسی آنزیم‌های مولد گونه‌های فعال اکسیژن و التهابی را افزایش می‌دهد. Iκ کیناز (IKK) مانع از فعال شدن NF-kB می‌شود و به عنوان یکی از مکانیزم‌های دخیل در اثرات ضد التهابی و مهار کننده‌های Cyclooxygenase پیشنهاد شده است (۷۲).

۴- سنجش فعالیت آنزیم‌های اکسیدان و آنتی اکسیدان

نقش آنزیم‌های پرو اکسیدان شامل گزانتین اکسیداز و نیتریک اکسید سنتتاز در آسیب‌زایی بیماری‌های مختلف نشان داده شده است و مهار دارویی آن‌ها به منظور پیشگیری و درمان آسیب‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو پیشنهاد شده است. سطوح بالای میلوپراکسیداز در بیماری‌های قلبی عروقی (۷۳)، انسدادی ریوی مزمن (۷۴) و آلزایمر (۷۵) نشان داده شده است. گونه‌های اکسیدکننده مشتق شده از میلو پراکسیداز منجر به تولید محصولات اختصاصی اکسایش مانند کلروتیروزین می‌شوند. این ماده می‌تواند در برخی از بیماری‌ها به‌عنوان یک بیومارکر، مورد استفاده قرار گیرد و سطح آن با میلو پراکسیداز هماهنگ است (۷۶). با این‌حال، تجهیزات گران قیمتی برای تشخیص سطح بیومارکرهای اختصاصی وابسته به میلو پراکسیداز مورد نیاز است و این نشان‌دهنده آن است که استفاده از آن‌ها با محدودیت رو به رو است. علاوه براین، غلظت این بیومارکرها در نمونه‌های بیولوژیکی کم است، که این امر اندازه‌گیری دقیق آن‌ها را مشکل می‌کند. گزانتین اکسیداز واکنش اکسایش هیپوگزانتین و گزانتین به اسیداوریک را کاتالیز می‌کند. این آنزیم یکی از عمده ترین منابع تولید یون سوپراکسید می‌باشد. افزایش فعالیت گزانتین اکسیداز منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود. استرس اکسیداتیو ناشی از گزانتین اکسیداز در بیماری‌های کلیوی و قلبی عروقی، مانند نارسایی قلبی، بیماری انسدادی ریوی مزمن، فشارخون ریوی، بیماری داسی شکل و دیابت نشان داده شده است (۷۷). سوپراکسید دیسموتاز،کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون ترانسفراز مهم‌ترین آنزیم‌های ضد اکسیدان می‌باشند. برخلاف آنزیم‌های پرواکسیدان، نتایج متناقضی از مطالعات انسانی که رابطه بین بیماری با آنزیم‌های ضد اکسیدان را ارزیابی کرده‌اند به‌دست آمده است. با این وجود، مطالعات متاآنالیز نشان داده است که پلی‌مورفیسم آنزیم‌های ضد اکسیدان و هم‌چنین کاهش یا افزایش فعالیت آن‌ها با برخی بیماری‌ها مانند دیابت نوع دو ارتباط وجود دارد (۷۸).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

۵- سنجش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی(TAC)

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (Total antioxidant capacity ;TAC) از متداول‌ترین روش‌های ارزیابی استرس اکسیداتیو در مایعات بیولوژیک شامل پلاسما، مایع مغزی نخاعی، مایع آمنیوتیک، بزاق، و ادرار می‌باشد. طبق تعریف به مول ماده اکسیدکننده که توسط یک لیتر از یک مایع بیولوژیک خنثی می‌شود TAC آن مایع گفته می‌شود. خاصیت ضداکسیدانی این مایعات به دلیل وجود انواع ضد اکسیدان‌های درون‌زا (اسیداوریک، بیلی‌روبین و تیول‌ها) و برون‌زا (توکوفرول، اسید اسکوربیک، کاروتنوئیدها و پلی‌فنول‌ها) و سایر ترکیبات ناشناخته است (۷۹). از آنجائیکه امکان اندازه‌گیری همه این ترکیبات به صورت مجزا وجود ندارد و به‌علاوه احتمالاً بین این ترکیبات اثرات هم‌افزایی و یا آنتاگونیستی وجود دارد، TAC روش جایگزین مناسبی برای ارزیابی خاصیت ضداکسیدانی تام مایعات بدن است. اندازه‌گیری TAC معمولاً به دو منظور بررسی میزان اثرگذاری مصرف یک ماده غذایی بر TAC مایعات بدن و بررسی تغییرات TAC در شرایط بیماری یا به‌دنبال استفاده از یک رژیم غذایی در درمان بیماری انجام می‌پذیرد (۸۰). روش‌های مختلفی برای سنجش TAC وجود دارد که بر اساس نوع واکنش به دو گروه انتقال اتم هیدروژن (Hydrogen atom transfer; HAT) و انتقال تک الکترون (Single electron transfer; SET) تقسیم‌بندی می‌شوند. روش‌های HAT توانایی یک ضد اکسیدان را در حذف رادیکال‌های آزاد با دادن هیدروژن اندازه‌گیری می‌کند. ظرفیت ضداکسیدانی رادیکال اکسیژن (Oxygen ;ORAC Radical Absorbance Capacity) و پارامتر ضداکسیدانی به دام اندازی رادیکالی کل (Total reactive;TRAP antioxidant potential) از متداول‌ترین روش‌های HAT می‌باشند که در محلول‌های آبی انجام می‌گیرند. روش Crocin bleaching از روش‌های HAT محسوب می‌گردد که تحت شرایط آب دوست و چربی‌دوست قابل انجام است. روش‌های SET بر اساس ظرفیت احیاکنندگی ضد اکسیدان‌ها از جمله میزان توانایی آن‌ها در احیای فلزات آهن (Feric reducing FRAP; capacity of plasma) و مس (Cupric reducing antioxidant capacity ;CUPRAC) می‌باشد. روش CUPRAC برروی بخش‌های چربی دوست و آب دوست اعمال می‌گردد. در اندازه‌گیری TAC از ضد اکسیدان Trolox به عنوان مرجع استاندارد استفاده می‌شود و مقدار TAC به صورت معادل Trolox گزارش می‌گردد (۸۰). نوع نمونه، روش جمع‌آوری، و پردازش آن هنگام اندازه‌گیری TAC باید در نظر گرفته شوند. در جمع‌آوری نمونه‌های خون دو موضوع که منبع سوگیری در ارزیابی TAC هستند را بایستی مورد توجه قرار داد. اول این است که سلول‌های خون حاوی ترکیبات ضداکسیدانی محلول و سیستم‌های آنزیمی هستند که امکان نشت آن‌ها از سلول‌های خونی و ورودشان به پلاسما و سرم وجود دارد. نکته دوم انتخاب بین پلاسما و سرم است. برای جداسازی سرم، نمونه در دمای اتاق و pH خنثی قرار داده می‌شود. در این شرایط برخی ضد اکسیدان‌های با وزن مولکولی کم مانند ویتامین C ناپایدار هستند. هم‌چنین فرآیند لخته‌شدن باعث تحریک فعالیت پلاکت‌ها در تولید و انتشار گونه‌های فعال می‌شود. بنابراین، پلاسما یک جایگزین معقول برای حفظ سطح واقعی ترکیبات ضداکسیدان است. در انتخاب ضد انعقاد باید فعالیت بالقوه ضداکسیدانی نگهدارنده در نظر گرفته شود. مشخص شده است که هپارین دارای نقش در سیستم ضداکسیدانی است، اگرچه به‌نظر می‌رسد که فقط در شرایط درون‌تنی این خاصیت را داشته باشد و در شرایط برون‌تنی این خاصیت را نداشته باشد. در مقابل اتیلن-دی امین-ترا استیک اسید (Ethylene diamine tetra acetic acid ;EDTA) یک عامل مداخله‌گر است چون با اثر شلاته‌کنندگی آهن تمایل به حفظ آهن درحالت دوظرفیتی دارد. با این حال، به نظر می‌رسد اثر EDTA به روش آزمایشگاهی اندازه‌گیری TAC بستگی دارد. نسبت خون به ضد انعقاد یک چالش مهم به خصوص در مورد EDTA است. در لوله‌های جمع‌آوری پلاسما، مقدار ضد انعقاد در لوله متناسب با پر شدن لوله تنظیم شده است و اگر لوله به طور کامل پر نشود، EDTA بیش از حد غلیظ شده و باعث همولیز

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

می‌شود. در مقایسه با EDTA اسید سیتریک دارای قدرت شلاته کنندگی و پرواکسیدانی کمتری است با این حال، نشان داده شده است که استفاده از سیترات باعث کاهش ۲۰ درصدی TAC در هنگام اندازه‌گیری با روش بلیچینگ کروسین می‌شود. بنابراین، نمونه ترجیحی پلاسمای هپارینه است. با وجود این که استفاده از میکروسانتریفیوژ یخچال دار برای آماده‌سازی سریع پلاسما می‌تواند از تنش حرارتی و بی ثباتی ضد اکسیدان‌ها در نمونه بیولوژیکی جلوگیری کند، نتایج نشان داده است که سانتریفیوژ در دمای اتاق روش ترجیحی است، زیرا ریزذرات و همولیز کمتری در پلاسما ایجاد می‌شود. همولیز می‌تواند بسیاری از روش‌های TAC را تحت تاثیر قرار دهد از این‌رو نمونه‌های همولیز شده به طورکلی نباید مورد استفاده قرار گیرند. اگرچه اندازه‌گیری TAC در نمونه بزاق، به دلیل جمع‌آوری ساده و غیرتهاجمی این نمونه‌ها، مورد توجه زیادی قرار دارد، عوامل زیادی می‌توانند منجر به ایجاد نتایج نادرست آن‌ها شوند. آلودگی خونی، بیماری‌های پریودنتال، وجود باکتری‌ها و میزان جریان بزاق، ازعلل اثر گذار بر نتایج TAC بزاق می‌باشند (۸۱). بزاق سرشار از پروتئین های ترشحی مانند آمیلاز، لیزوزیم، لاکتوفرین، موسین و ایمونوگلوبولین A است بنابراین سانتریفیوژ نمونه یک مرحله اجباری پس از جمع‌آوری نمونه می‌باشد با این‌حال، توافقی در مورد دمای ذخیره‌سازی وجود ندارد. برای نگهداری طولانی‌مدت، دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و ۸۰- درجه سانتی‌گراد هر دو پیشنهاد شده است اگرچه به نظر می‌رسد دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد مناسب‌تر باشد (۸۱). با توجه به سادگی جمع‌آوری، ادرار یک نمونه بیولوژیکی ارزشمند برای ارزیابی TAC است. با این‌حال، ترکیب شیمیایی ادرار صرفاً انعکاسی از ترکیب خون و فعالیت متابولیک بافت‌ها نیست و به وضعیت عملکرد کلیه و مجاری ادارای هم بستگی دارد. در واقع عملکرد کلیه‌ها و عفونت‌های دستگاه ادراری از عوامل مخدوش‌کننده اصلی هستند که بر تعادل ضداکسیدانی اثر می‌گذارند. به‌طور معمول از نمونه‌های صبحگاهی برای اندازه‌گیری TAC استفاده می‌شود، اگرچه برای در نظر گرفتن عملکرد کلیه‌ها بر غلظت ضداکسیدان‌ها نمونه‌های ۲۴ ساعته نیز استفاده می‌شود. نمونه‌های ادراری پس از جمع‌آوری باید سانتریفیوژ شده و به طور موقت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. قبل از اندازه‌گیری برای بازیابی هر چه بیشتر اسید اوریک از کریستال‌ها نمونه گرم می‌شود. جهت ذخیره‌سازی طولانی مدت نمونه‌ها باید حداقل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شود و در هنگام اندازه‌گیری نمونه‌ها با حمام گرم ذوب شوند (۸۱). در روش Crocin bleaching بیلی‌روبین و کاروتنوئیدهایی که در طول موج مورد استفاده جذب دارند در نتایج تداخل ایجاد کنند. هم‌چنین بیلی‌وردین در طول موج مورد استفاده روش FRAP جذب دارد (۴۲). سادگی انجام، هزینه کم، دسترسی آسان به نمونه‌های مورد اندازه‌گیری، و امکان ارزیابی همزمان و هم‌چنین اثرات هم‌افزایی یا متضاد ضد اکسیدان‌ها موجود در یک سیستم بیولوژیکی مزیت‌های اندازه‌گیری TAC به شمار می‌روند. با این وجود استفاده از TAC برای ارزیابی استرس اکسیداتیو محدودیت‌هایی نیز دارد. این محدودیت‌ها عمدتاً ناشی ناشی از طراحی مطالعات و تفسیر نتایج آن‌ها است. به عنوان مثال، بررسی تأثیر تجویز یک رژیم غذایی بر TAC پلاسما مستلزم وجود شرایط کاملاً کنترل شده از نظر رژیم غذایی، سبک زندگی، و عوامل محیطی است و کنترل این عوامل فقط درمطالعات کوتاه مدت امکان‌پذیر است. حتی در شرایط کنترل‌شده نیز افزایش TAC پلاسما توسط یک رژیم غذایی تحلیل‌های متفاوتی دارد ممکن است ناشی از اثر مستقیم ضداکسیدانی آن رژیم غذایی بر TAC پلاسما، اثرات غیر مستقیم ناشی از ترکیبات حاصل از متابولیسم و پردازش آن ماده غذایی در بدن، و یا اثر رژیم غذایی بر کاهش تخریب مولکول‌های با ظرفیت ضداکسیدانی موجود در پلاسما باشد. محدودیت دیگر این است که نتایج حاصل از روش های مختلف سنجش TAC ارتباط ضعیفی را با یکدیگر نشان داده‌اند. در واقع هر یک از روش‌های سنجش TAC گروه خاصی از ترکیبات ضد اکسیدان را اندازه‌گیری می‌کند. به‌علاوه مشارکت آنزیم‌های ضد اکسیدان، پروتئین‌های اتصال‌دهنده با فلزات و سایر ضد اکسیدان‌های غیر

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

مستقیم در اندازه‌گیری TAC در نظر نمی‌گیرد. و اینکه داده‌های ظرفیت ضداکسیدانی تولید شده در مطالعات برون تنی را نمی‌توان به اثرات سلامتی درون تنی از جمله در انسان تعمیم داد (۸۲).

نتیجه‌گیری

یک بیومارکر مفید بالینی از دو نقطه نظر اندازه‌گیری و ارزش تشخیصی باید ویژگی‌های لازم را داشته باشد. در بحث اندازه‌گیری پایداری مناسب، اندازه‌گیری آسان و کم هزینه، راحتی نمونه گیری، وجود روش اندازه‌گیری دقیق و صحیح از ویژگی‌ها مهم به شمار می‌روند. از نظر تشخیصی مارکر مناسب باید دارای ارزش تشخیصی و پیش‌آگهی باشد و با درجه بیماری ارتباط داشته باشد. اندازه‌گیری استرس اکسیداتیو در مایعات بدن به منظور ارزیابی وضعیت اکسایش-احیا بدن در شرایط خاص مانند بیماری و هم‌چنین در مطالعات مداخله‌ای جهت بررسی سطح ضد اکسیدان‌های مواد غذایی یا مکمل‌های مصرفی با پیشرفت وضعیت ضداکسیدانی بدن انجام می‌گیرد. علی‌رغم این واقعیت که مواد مغذی می‌توانند سلامتی را بهبود بخشند، در تفسیر داده‌های حاصل از روش‌های مختلف سنجش استرس اکسیداتیو مانند اندازه‌گیری گونه‌های فعال در سلول‌های خون با استفاده از فلوسیتومتری، ارزیابی مارکرهای مبنی بر تغییرات ناشی از گونه‌های فعال، سنجش آنزیم‌های درگیر در کنترل وضعیت اکسایش-احیا، و اندازه‌گیری TAC مایعات بدن انسان باید سوگیری این روش‌ها در نظر گرفته شود .پیشنهاد شده است که سوگیری روش‌های ارزیابی استرس اکسیداتیو را می‌توان با استفاده از بیش از یک معیار در ارزیابی استرس اکسیداتیو برطرف نمود (۸۳). در چندین مطالعات متاانالیز و مرور سیستماتیک کاربرد استفاده از مارکرهای متعدد جهت نشان دادن نقش استرس اکسیداتیو در افسردگی، الزایمر، اختلالات دو قطبی، نوروپاتی دیابتی، بیماری‌های قلبی، و اختلالات ذهنی نشان داده شده است (۸۴-۸۸).-OXY SCOREبا تفریق نمره حفاظتی (GSH، سطوح آلفا و گاما توکوفرول، و ظرفیت ضداکسیدانی) از نمره آسیبی (مالون‌دی‌آلدئید کل و آزاد پلاسما، نسبت GSSG/GSH، و F2-IsoPs ادراری) محاسبه می‌شود (۸۹). شاخص-اکسیداتیو با تفریق anti-oxidant capacity(OXY) (ظرفیت ضداکسیدانی) از ROM (Reactive oxygen metabolite) (متابولیت‌های اکسیژن فعال) محاسبه می‌شود. از شاخص-اکسیداتیو به‌طور موفقیت‌آمیزی برای بررسی استرس اکسیداتیو در بیماران کبدی، سرطان‌ها و اخیرا بیماران کووید ۱۹ استفاده شده است (۹۲-۹۰). در نتیجه، استفاده از بیومارکرها برای بررسی استرس اکسیداتیو باید براساس هدف مطالعه تعیین و طراحی شوند و شاخصی از وضعیت اکسایش-احیا در آن شرایط خاص باشند.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از سرکار خانم کیوان شکوه به خاطر بررسی نگارش خلاصه مقاله انگلیسی تشکر می‌کنند.

حامی مالی: معاونت فن‌آوری و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شیراز.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Farkhondeh T, Mehrpour O, Forouzanfar F, Roshanravan B, Samarghandian S. ***Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Organophosphate Pesticide-Induced Neurotoxicity and its Amelioration: A Review.*** Environ Sci Pollut Res Int 2020; 27(20): 24799-814.

2-Takhshid MA, Tavasuli AR, Heidary Y, Keshavarz M, Kargar H. ***Protective Effect of Vitamins E and C on***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

Endosulfan-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. Iran J Medical Sci 2012; 37(3): 173-80.

3-Donato MT, Tolosa L. ***High-Content Screening for the Detection of Drug-Induced Oxidative Stress in Liver Cells***. Antioxidants 2021; 10(1): 106.

4-Mahmoodazdeh A, Shafiee SM, Sisakht M, Khoshdel Z, Takhshid MA. ***Adrenomedullin Protects Rat Dorsal Root Ganglion Neurons Against Doxorubicin-Induced Toxicity by Ameliorating Oxidative Stress***. Iran J Basic Med Sci 2020; 23(9): 1197-206.

5-Najafi M, Fardid R, Takhshid MA, Mosleh-Shirazi MA, Rezaeyan AH, Salajegheh A. ***Radiation-Induced Oxidative Stress at Out-Of-Field Lung Tissues after Pelvis Irradiation in Rats***. Cell J 2016; 18(3): 340-5.

6-Saberzadeh J, Omrani M, Takhshid MA. ***Protective Effects of Nimodipine and Lithium against Aluminum-Induced Cell Death and Oxidative Stress in PC12 Cells.*** Iran J Basic Med Sci 2016; 19(11): 1251-57.

7-Saberzadeh J, Arabsolghar R, Takhshid MA. ***Alpha synuclein protein is involved in Aluminum-induced cell death and oxidative stress in PC12 cells***. Brain Res 2016; 1635: 153-60.

8-Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qadri SS, et al. ***Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives.*** Cells 2022; 11(3): 522.

9-Irato P, Santovito G. ***Enzymatic and Non-Enzymatic Molecules with Antioxidant Function***. Antioxidants (Basel) 2021; 10(4): 579.

10-Victoni T, Barreto E, Lagente V, Carvalho VF. ***Oxidative Imbalance as a Crucial Factor in Inflammatory Lung Diseases: Could Antioxidant Treatment Constitute a New Therapeutic Strategy?*** Oxid Med Cell Longev 2021; 2021: 6646923.

11-Coppolino G, Leonardi G, Andreucci M, Bolignano D. ***Oxidative Stress and Kidney Function: A Brief Update.*** Curr Pharm Des 2018; 24(40): 4794-9.

12-Delli Bovi AP, Marciano F, Mandato C, Siano MA, Savoia M, Vajro P. ***Oxidative Stress in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. An Updated Mini Review.*** Front Med 2021; 8: 1-14

13-Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. ***Oxidative Stress in Atherosclerosis***. Curr Atheroscler Rep 2017; 19(11): 42.

14-Luc K, Schramm-Luc A, Guzik TJ, Mikolajczyk TP. ***Oxidative Stress and Inflammatory Markers in Prediabetes and Diabetes***. J Physiol Pharmacol 2019; 70(6).

15-Jelic MD, Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. ***Oxidative Stress and Its Role in Cancer***. J Cancer Res Ther 2021; 17(1): 22-8.

16-Keshavarzi F, Rastegar M, Vessal M, Rafiei Dehbidi G, Khorsand M, Ganjkarimi AH, et al. ***Serum Ischemia Modified Albumin is a Possible New Marker of Oxidative Stress in Phenylketonuria***. Metab Brain Dis 2018; 33(3): 675-80.

17-Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, et al. ***Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation***. Oxid Med Cell Longev 2016; 2016: 5276130.

18-Varela-Lopez A, Navarro-Hortal MD, Giampieri F, Bullon P, Battino M, Quiles JL***.*** ***Nutraceuticals in Periodontal Health: A Systematic Review on the Role of Vitamins in Periodontal Health Maintenance***. Molecules 2018; 23(5): 1226.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

19- Poljsak B, Milisav I. ***The Role of Antioxidants in Cancer, Friends or Foes?*** Curr Pharm Des 2018; 24(44): 5234-44.

20- Abo M, Weerapana E. ***Chemical Probes for Redox Signaling and Oxidative Stress***. Antioxid Redox Signal 2019; 30(10): 1369-86.

21- Munteanu IG, Apetrei C. ***Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review***. Int J Mol Sci 2021; 22(7): 3380.

22- Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, et al. ***Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress.*** Antioxid Redox Signal 2015; 23(14): 1144-70.

23- Salminen LE, Paul RH. ***Oxidative Stress and Genetic Markers of Suboptimal Antioxidant Defense in the Aging Brain: A Theoretical Review***. Rev Neurosci 2014; 25(6): 805-19.

24- Lin HY, Yang YL, Wang PW, Wang FS, Huang YH. ***The Emerging Role of MicroRNAs in NAFLD: Highlight of MicroRNA-29a in Modulating Oxidative Stress, Inflammation, and Beyond***. Cells 2020; 9(4): 1041.

25- Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, Donato R. ***Nrf2-Keap1 Signaling in Oxidative and Reductive Stress.*** Biochim Biophys Acta Mol Cell Res 2018; 1865(5): 721-33.

26- Zhang Y, Dai M, Yuan Z. ***Methods for the Detection of Reactive Oxygen Species***. Analytical Methods 2018; 10(38): 4625-38.

27- Ai T, Tabe Y, Takemura H, Kimura K, Takahashi T, Yang H, et al. ***Novel Flowcytometry-Based Approach of Malignant Cell Detection in Body Fluids Using an Automated Hematology Analyzer***. PLoS One 2018; 13(2): e0190886.

28- Nkambule BB, Davison GM, Ipp H. ***The Evaluation of Platelet Function in HIV Infected, Asymptomatic Treatment-Naive Individuals Using Flow Cytometry***. Thromb Res 2015; 135(6):1131-9.

29- Alizadeh Zarei M, Rafiei Dehbidi G, Takhshid MA. ***Combination of NDRG2 Overexpression, X-Ray Radiation and Docetaxel Enhances Apoptosis and Inhibits Invasiveness Properties of Lncap Cells***. Urol Oncol 2020; 38(11): 849e1- e9.

30- Pirouzfar M, Amiri F, Dianatpour M, Takhshid MA. ***CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of MLL5 Enhances Apoptotic Effect of Cisplatin in Hela Cells in Vitro.*** EXCLI J 2020; 19: 170-82.

31- Zangeneh AR, Takhshid MA, Ranjbaran R, Maleknia M, Meshkibaf MH**.** ***Diverse Effect of Vitamin C and N-Acetylcysteine on Aluminum-Induced Eryptosis.*** Biochem Res Int 2021; 2021: 6670656.

32- Winterbourn CC. ***The Challenges of Using Fluorescent Probes to Detect and Quantify Specific Reactive Oxygen Species in Living Cells***. Biochim Biophys Acta 2014; 1840(2): 730-8.

33- Masselli E, Pozzi G, Vaccarezza M, Mirandola P, Galli D, Vitale M, et al. ***ROS in Platelet Biology: Functional Aspects and Methodological Insights.*** Int J Mol Sci 2020; 21(14): 4866.

34- Iranpak F, Saberzadeh J, Vessal M, Takhshid MA**.** ***Sodium Valproate Ameliorates Aluminum-Induced Oxidative Stress and Apoptosis of PC12 Cells***. Iran J Basic Med Sci 2019; 22(11): 1353-58.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

35-Lyamzaev KG, Sumbatyan NV, Nesterenko AM, Kholina EG, Voskoboynikova N, Steinhoff H-J, et al. ***Mitoclox: A Novel Mitochondria-Targeted Fluorescent Probe for Tracing Lipid Peroxidation***. Oxid Med Cell Longev 2019; 2019: 9710208.

36-Marrocco I, Altieri F, Peluso I. ***Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans.*** Oxid Med Cell Longev 2017; 2017: 6501046.

37-Massimi I, Guerriero R, Lotti LV, Lulli V, Borgognone A, Romani F, et al***. Aspirin Influences Megakaryocytic Gene Expression Leading to Up Regulation of Multidrug Resistance Protein- 4 in Human Platelets***. British J Clinical Pharmacol 2014; 78(6): 1343-53.

38-Okano K, Kimura K, Tanaka Y, Tsuchiya K, Akiba T, Nitta K .***Direct Measurement of Reactive Oxygen Species in Leukocytes During Hemodialysis Therapy.*** Int J Clin Exp Med 2015; 8(11): 20959-64.

39-Restaino RM, Deo SH, Parrish AR, Fadel PJ, Padilla J. ***Increased Monocyte-Derived Reactive Oxygen Species in Type 2 Diabetes: Role of Endoplasmic Reticulum Stress***. Exp Physiol 2017; 102(2): 139-53.

40-Kermanizadeh A, Jantzen K, Brown DM, Moller P, Loft S. ***A Flow Cytometry-based Method for the Screening of Nanomaterial-induced Reactive Oxygen Species Production in Leukocytes Subpopulations in Whole Blood***. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2018; 122(1):149-56.

41-Bigagli E, Lodovici M. ***Circulating Oxidative Stress Biomarkers in Clinical Studies on Type 2 Diabetes and its Complications.*** Oxid Med Cell Longev 2019; 2019: 5953685.

42-Ito F, Sono Y, Ito T. ***Measurement and Clinical Significance of Lipid Peroxidation as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation***. Antioxidants 2019; 8(3): 72.

43-Aguilar Diaz De Leon J, Borges CR. ***Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay***. J Vis Exp 2020; 159.

44-Tsikas D. ***Assessment of Lipid Peroxidation by Measuring Malondialdehyde (MDA) and Relatives in Biological Samples: Analytical and Biological Challenges***. Anal Biochem 2017; 524: 13-30.

45-Mas-Bargues C, Escrivá C, Dromant M, Borrás C, Viña J. ***Lipid Peroxidation as Measured by Chromatographic Determination of Malondialdehyde. Human Plasma Reference Values in Health and Disease.*** Arch Biochem Biophys 2021; 709: 108941.

46-Moselhy HF, Reid RG, Yousef S, Boyle SP. ***A Specific, Accurate, and Sensitive Measure of Total Plasma Malondialdehyde by HPLC.*** J Lipid Res 2013; 54(3): 852-8.

47-Chevolleau S, Noguer-Meireles M-H, Jouanin I, Naud N, Pierre F, Gueraud F, et al. ***Development and Validation of an Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry Method Using Selective Derivatisation, for the Quantification of Two Reactive Aldehydes Produced by Lipid Peroxidation, HNE (4-Hydroxy-2 (E)-Nonenal) and HHE (4-Hydroxy-2 (E)-Hexenal) In Faecal Water***. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2018; 1083: 171-9.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

48-Luczaj W, Gindzienska-Sieskiewicz E, Jarocka-Karpowicz I, Andrisic L ,Sierakowski S, Zarkovic N, et al. ***The Onset of Lipid Peroxidation in Rheumatoid Arthritis: Consequences and Monitoring***. Free Radic Res 2016; 50(3): 304-13.

49-Jadoon S, Malik A. ***A Comprehensive Review Article on Isoprostanes as Biological Markers***. Biochem Pharmacol (Los Angel) 2018; 7(2): 1-8.

50-Chao MR, Evans MD, Hu CW, Ji Y, Moller P, Rossner P, et al. ***Biomarkers of Nucleic Acid Oxidation - A Summary State-Of-The-Art***. Redox Biol 2021; 42: 101872.

51-Chiorcea-Paquim Am. ***8-Oxoguanine and 8-Oxodeoxyguanosine Biomarkers of Oxidative DNA Damage: A Review on HPLC-ECD Determination***. Molecules 2022; 27(5): 1620.

52-Poulsen HE, Nadal LL, Broedbaek K, Nielsen PE, Weimann A. ***Detection and Interpretation of 8-Oxodg and 8-Oxogua in Urine, Plasma and Cerebrospinal Fluid***. Biochim Biophys Acta 2014; 1840(2): 801-8.

53-Garcia-Garcia A, Rodriguez-Rocha H, Madayiputhiya N, Pappa A, I Panayiotidis M, Franco R. ***Biomarkers of Protein Oxidation in Human Disease***. Curr Mol Med 2012; 12(6): 681-97.

54-Colombo G, Reggiani F, Angelini C, Finazzi S, Astori E, Garavaglia ML, et al. ***Plasma Protein Carbonyls as Biomarkers of Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation***. Oxid Med Cell Longev 2020; 2020: 2975256.

55-Campolo N, Issoglio FM, Estrin DA, Bartesaghi S, Radi R. ***3-Nitrotyrosine and Related Derivatives in Proteins: Precursors, Radical Intermediates and Impact in Function.*** Essays Biochem 2020; 64(1): 111-33.

56-Bandookwala M, Sengupta P**.** ***3-Nitrotyrosine: A Versatile Oxidative Stress Biomarker for Major Neurodegenerative Diseases***. Int J Neurosc 2020; 130(10): 1047-62.

57-Gryszczyńska B, Formanowicz D, Budzyń M, Wanic-Kossowska M, Pawliczak E, Formanowicz P, et al. ***Advanced Oxidation Protein Products and Carbonylated Proteins as Biomarkers of Oxidative Stress in Selected Atherosclerosis-Mediated Diseases***. BioMed Res Int 2017; 2017: 4975264.

58-Itabe H, Kato R, Sawada N, Obama T, Yamamoto M. ***The Significance of Oxidized Low-Density Lipoprotein in Body Fluids as a Marker Related to Diseased Conditions***. Curr Med Chem 2019; 26(9): 1576-93.

59-Rabbani G, Ahn SN. ***Structure, Enzymatic Activities, Glycation and Therapeutic Potential of Human Serum Albumin: A Natural Cargo***. Int J Biol Macromol 2019; 123: 979-90.

60-Takhshid M, Kojuri J, Tabei S, Tavasouli A, Heidary S, Tabandeh M. ***Early Diagnosis of Acute Coronary Syndrome with Sensitive Troponin I and Ischemia Modified Albumin***. Iranian Cardiovascular Res J 2010; 144-51.

61-Shevtsova A, Gordiienko I, Tkachenko V, Ushakova G. ***Ischemia-Modified Albumin: Origins and Clinical Implications.*** Dis Markers 2021; 2021: 9945424.

62-Setoodeh S, Khorsand M, Takhshid MA. ***The Effects of Iron Overload, Insulin Resistance and***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

Oxidative Stress on Metabolic Disorders in Patients with B-Thalassemia Major. J Diabetes & Metab Disorders 2020; 19(2): 767-74.

63-Oran I, Oran B. ***Ischemia-Modified Albumin as a Marker of Acute Coronary Syndrome: The Case for Revising the Concept of "N-Terminal Modification" to "Fatty Acid Occupation" of Albumin***. Dis Markers 2017; 2017: 5692583.

64-Kaplan M, Yuksel M, Ates I, Kilic ZMY, Kilic H, Kuzu UB, et al. ***Is Ischemia Modified Albumin a Disease Activity Marker for Inflammatory Bowel Diseases?*** J Gastroenterol Hepatol 2016; 31(6): 1120-5.

65-Adeoye O, Olawumi J, Opeyemi A, Christiania O. ***Review on the Role of Glutathione on Oxidative Stress and Infertility.*** JBRA Assist Reprod. 2018; 22(1): 61-6.

66-Zitka O, Skalickova S, Gumulec J, Masarik M, Adam V, Hubalek J, et al. ***Redox Status Expressed as GSH:GSSG Ratio as a Marker for Oxidative Stress in Paediatric Tumour Patients***. Oncol Lett 2012; 4(6): 1247-53.

67-Sanchez-Rodriguez MA, Mendoza-Nunez VM. ***Oxidative Stress Indexes for Diagnosis of Health or Disease in Humans.*** Oxid Med Cell Longev 2019; 2019: 4128152.

68-Zangeneh AR, Takhshid MA, Ranjbaran R, Maleknia M, Meshkibaf MH. ***Diverse Effect of Vitamin C and N-Acetylcysteine on Aluminum-Induced Eryptosis.*** Biochem Res Inter 2021; 2021: 6670656.

69-Tipple TE, Rogers LK. ***Methods for the Determination of Plasma or Tissue Glutathione Levels***. Methods Mol Biol 2012; 889: 315-24.

70-Ma Q, Man X, Xu CY, Huo J, Qi C, Shi Q, et al. ***Simultaneous Determination of Three Endogenous Chiral Thiol Compounds in Serum from Humans at Normal and Stress States Using Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography Coupled to Quadrupole-Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry***. J Chromatogr a 2021; 1642: 462028.

71-Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. ***Transcriptional Regulation by Nrf2***. Antioxid Redox Signal 2018; 29(17): 1727-45.

72-Mitchell S, Vargas J, Hoffmann A. ***Signaling Via the Nfkappab System***. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med 2016; 8(3): 227-41.

73-Ndrepepa G. ***Myeloperoxidase - A Bridge Linking Inflammation and Oxidative Stress with Cardiovascular Disease.*** Clin Chim Acta 2019; 493: 36-51.

74-Singh S, Verma SK, Kumar S, Ahmad MK, Nischal A, Singh SK, et al. ***Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Chronic Obstructive Pulmonary Disease.*** Scand J Immunol 2017; 85(2): 130-7.

75-Pravalika K, Sarmah D, Kaur H, Wanve M, Saraf J, Kalia K, et al. ***Myeloperoxidase and Neurological Disorder: A Crosstalk.*** ACS Chem Neurosci 2018; 9(3): 421-30.

76-Song Y, Liao J, Zha C, Wang B, Liu CC. ***Simultaneous Determination of 3-Chlorotyrosine and 3-Nitrotyrosine in Human Plasma by Direct Analysis in Real Time-Tandem Mass Spectrometry***. Acta Pharm Sin B 2015; 5(5): 482-6.

77-Furuhashi M. ***New Insights into Purine Metabolism In Metabolic Diseases: Role Of Xanthine Oxidoreductase Activity***. Am J Physiol Endocrinol Metab 2020; 319(5): E827-E34.

78-Tabatabaei-Malazy O, Khodaeian M, Bitarafan F, Larijani B, Amoli MM. ***Polymorphisms of Antioxidant Genes as a Target for Diabetes Management.***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

International J Molecular and Cellular Medicine 2017; 6(3): 135-47.

79-Mirończuk-Chodakowska I, Witkowska AM, Zujko ME. Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. Adv Med Sci 2018; 63(1): 68-78

80-Gupta S, Finelli R, Agarwal A, Henkel R. ***Total Antioxidant Capacity—Relevance, Methods and Clinical Implications.*** Andrologia 2021; 53(2): e13624 .

81-Ialongo C. ***Preanalytic of Total Antioxidant Capacity Assays Performed in Serum, Plasma, Urine and Saliva.*** Clin Biochem 2017; 50(6): 356-63.

82-Fraga CG, Oteiza PI, Galleano M. ***In Vitro Measurements and Interpretation of Total Antioxidant Capacity.*** Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects 2014; 1840(2): 931-4.

83-Pinchuk I, Shoval H, Dotan Y, Lichtenberg D. ***Evaluation of Antioxidants: Scope, Limitations and Relevance of Assays.*** Chemistry and physics of lipids 2012; 165(6): 638-47.

84-Liu T, Zhong S, Liao X, Chen J, He T, Lai S, et al. ***A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression.*** PLoS One 2015; 10(10): e0138904.

85-Black CN, Bot M, Scheffer PG, Cuijpers P, Penninx BW. ***Is Depression Associated with Increased Oxidative Stress? A Systematic Review and Meta-Analysis***. Psychoneuroendocrinology 2015; 51: 164-75.

86-Tabatabaei-Malazy O, Ardeshirlarijani E, Namazi N, Nikfar S, Jalili RB, Larijani B. ***Dietary Antioxidative Supplements and Diabetic Retinopathy; A Systematic Review.*** J Diabetes Metab Disord 2019; 18(2): 705-16.

87-Zabel M, Nackenoff A, Kirsch WM, Harrison FE, Perry G, Schrag M. ***Markers of Oxidative Damage to Lipids, Nucleic Acids and Proteins and Antioxidant Enzymes Activities in Alzheimer's Disease Brain: A Meta-Analysis in Human Pathological Specimens***. Free Radic Biol Med 2018; 115: 351-60.

88-Fontana J, Zima M, Vetvicka V. ***Biological Markers of Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: after so Many Studies, What do We Know?*** Immunol Invest 2018; 47(8): 823-43.

89-Quintana-Villamandos B, Pazó-Sayós L, González del Pozo I, Rodríguez-Rodríguez P, Bellón JM, Pedraz-Prieto Á, et al. ***OXY-SCORE: A New Perspective for Left Ventricular Hypertrophy Diagnosis***. Ther Adv Chronic Dis 2020; 11: 2040622320936417.

90-Dalan R, Goh LL, Tang X, Chew DE, Boehm B. ***Total Oxidative Index is Associated with Glycated Hemoglobin, Low-Grade Inflammation, and Non-HDL Cholesterol in Type 2 Diabetes***. Diabetes 2018; 67(Supplement_1): 419.

91- Atanasovska E, Petrusevska M ,Zendelovska D, Spasovska K, Stevanovikj M, Kasapinova K, et al. ***Vitamin D Levels and Oxidative Stress Markers in Patients Hospitalized with COVID-19***. Redox Rep 2021; 26(1): 184-9.

92-Zendelovska D, Atanasovska E, Petrushevska M, Spasovska K, Stevanovikj M ,Demiri I, et al. ***Evaluation of Oxidative Stress Markers in Hospitalized Patients with Moderate and Severe COVID-19.*** Rom J Intern Med 2021; 59(4): 375-83.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences **Received: 11 May 2022**
Vol 30| Nov 7 | Oct 2022 **Accepted: 19 Jun 2022**

A Review of Laboratory Methods for Measuring Oxidative Stress

Fatemeh Asadian[1], Mohammad Ali Takhshid[*1,2]

Review Article

Introduction: Antioxidant defense system, including enzymatic and non-enzymatic antioxidants, protects cells from oxidative damage by neutralizing oxidant compounds. Increasing the production of oxidant species and decrease activity of antioxidant system causes oxidative stress. The role of oxidative stress in the pathogenesis of human diseases and strengthening of human antioxidant defense system in preventing and ameliorating of diseases have been shown in numerous studies. Therefore, identifying reliable oxidative stress markers for evaluating the beneficial effects of antioxidants in human diseases has been the focus of many studies over the past decades. Measuring free radicals and active species by flow cytometry, determining the total antioxidant capacity of body fluids, measuring the oxidation products of macromolecules, determining the activity of antioxidant enzymes, and changing the expression of genes related to the antioxidant system are among these methods. This review discussed the major advantages and limitations of these methods.

Conclusion: Due to limitations and potential confounding factors of the current markers of oxidative stress, an appropriate experimental protocol should be used for each study and caution should be taken in the interpretation of results. Furthermore, more than one method should be used to overcome the limitations of each marker.

Keywords: Oxidative stress, Antioxidants, Biomarker, Lipid peroxidation.

Citation: Asadian F, Takhshid M.A. **A Review of Laboratory Methods for Measuring Oxidative Stress.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 30(7): 4996-5013.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-05-14]

[DOI: 10.18502/ssu.v30i7.10747]

[1]Department of Medical Laboratory Sciences, Paramedical School, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

[2]Diagnostic Laboratory Sciences and Technology Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Meshkinfam Street, Shiraz, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 09173121699**, email:** takhshidma@sums.ac.ir