

## تأثیر اتانول بر سطح پلاسمایی سرلوپلاسمین و میزان آنزیم CaMKII در بافت قلب موش‌های صحرائی

الهه حشمتی<sup>۱</sup>، محمد علیزاده<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۰۶/۲۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۰۹/۰۱

## چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** مصرف مزمن الکل سبب ایجاد ناهنجاری‌های قلبی مانند کاردیومیوپاتی، بیماری‌های عروق کرونر، فشارخون و سکتة قلبی می‌شود. باوجود اینکه اثرات مزمن الکل بر سیستم قلبی‌عروقی به‌خوبی اثبات شده است اما مکانیسم‌های مولکولی که در ایجاد این ناهنجاری‌ها نقش دارند به‌خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر مصرف اتانول بر میزان آنزیم CaMKII بافت قلب و سطح پلاسمایی سرلوپلاسمین بود.

**روش کار:** ۱۶ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار، به دو گروه کنترل و اتانول (Eth) تقسیم شدند. گروه کنترل غذای معمولی و گروه اتانول روزانه ۴/۵ گرم اتانول به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت محلول در آب ۲۰ درصد وزن به حجم از طریق گاوژ و غذای معمولی دریافت می‌کردند. پس از ۶ هفته، سطح بافتی آنزیم CaMKII و سطح پلاسمایی سرلوپلاسمین اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج به‌دست‌آمده نشان داد به‌رغم افزایش سطح بافتی آنزیم CaMKII در گروه اتانول در مقایسه با گروه کنترل، این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P=0/75$ ). افزون بر این، اختلاف معنی‌داری میان سطح پلاسمایی سرلوپلاسمین میان گروه‌های کنترل و اتانول وجود نداشت ( $P=0/993$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه بیانگر این است که این دو ماده باوجود اینکه در ناهنجاری‌های قلبی نقش مهمی دارند در آسیب قلبی ناشی از مصرف اتانول نقش ندارند.

**کلیدواژه‌ها:** اتانول، قلب، کلسیم کالمودولین پروتئین کیناز II، سرلوپلاسمین

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره دهم، ص ۶۳۶-۶۲۹، دی ۱۳۹۶

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه علوم تغذیه، تلفن: ۰۴۴-۳۲۷۸۰۸۰۳

Email: alizade85@yahoo.com

## مقدمه

اتواکسیداسیون کاتکول آمین‌ها، افزایش آنزیم‌های II و سطح نوراپی نفرین است (۵). باوجود اینکه برخی از جنبه‌های مختلف اثرات مضر مصرف اتانول بر ساختمان و عملکرد سیستم قلبی‌عروقی شناخته شده است اما مکانیسم‌های این اختلالات هنوز مورد بحث می‌باشد.

بر اساس اطلاعات موجود یکی از عوامل دخیل در پاتوژنز بیماری‌های قلبی اختلال عملکرد آنزیم کلسیم کالمودولین پروتئین کیناز II (CaMKII) می‌باشد (۶). آنزیم CaMKII در تنظیم عملکردهای سلولی گوناگون همچون رشد، تمایز، چرخه سلولی و بیان ژن نقش دارد (۷). در بافت قلب آنزیم CaMKII در تنظیم هموستاز کلسیم نقش اساسی دارد (۸). این آنزیم می‌تواند بیان ژن فاکتورهای رونویسی و جابه‌جایی کلسیم را تنظیم کند. بنابراین تحت شرایط فیزیولوژیک به عملکرد طبیعی قلب کمک می‌کند (۹).

مطالعات قبلی نشان دادند که مصرف مزمن اتانول سبب بروز طیف گسترده‌ای از اختلالات ساختاری و عملکردی در سیستم قلبی‌عروقی می‌گردد. از نظر ساختاری اتانول سبب ایجاد فیبروز بافت قلبی، اختلال ساختار در میوفیبریل‌ها، هیپرتروفی بطن چپ و انفارکتوس میوکارد می‌شود (۱، ۲). علاوه بر اختلالات ساختاری، اختلالات عملکردی مانند کاهش قدرت انقباض قلب، برون‌ده قلبی، کسر تخلیه و ناهنجاری‌های عروق بزرگ در مدل‌های انسانی و حیوانی بر اثر مصرف مزمن اتانول نیز گزارش شده است (۳، ۴). برخی از مکانیسم‌های تأثیر مصرف مزمن اتانول بر سیستم قلبی‌عروقی که در مطالعات مختلف به آن‌ها اشاره شده شامل: افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) یا کاهش سطح و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، افزایش

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

<sup>۲</sup> دانشیار علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

آنزیم در بافت قلبی پرداختیم. همچنین با توجه به اینکه اتانول اثرات سوء خود را عمدتاً از طریق روندهای التهابی و استرس اکسیداتیو اعمال می‌کند و نیز پروتئین سرلوپلاسمین در اتیولوژی بیماری‌های قلبی عروقی نقش مهمی دارد تغییرات این پروتئین نیز مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

تمام آزمایش‌ها بر روی مدل‌های حیوانی بر اساس منشور اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه انجام شد. جهت انجام آزمایش‌ها تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی  $220 \pm 10$  گرم انتخاب شدند. سپس جهت جلوگیری از ایجاد استرس در موش‌ها، هر چهار سر حیوان در یک قفس مخصوص در حیوان‌خانه‌ی گروه فیزیولوژی در اتاقی با دما و رطوبت استاندارد و سیکل زمانی ۱۲ ساعت روشنایی-۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. موش‌ها به دو گروه، گروه کنترل و اتانول (Eth) تقسیم شدند. گروه کنترل غذای معمول جوندگان و گروه اتانول (Eth) غذای معمول جوندگان و روزانه  $4/5$  گرم اتانول به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت محلول در آب ۲۰ درصد وزن به حجم از طریق گاواژ دریافت کردند.

### نمونه‌گیری:

بعد از پایان ۴۲ روز مطالعه، موش‌های صحرایی وزن شده و بعد با تزریق داخل صفاقی هیدرات کلراید ۱۰ درصد (cc ۰/۵) به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن بی‌هوش شدند. سپس ۲ cc خون توسط سرنگ حاوی EDTA از طریق قلب جمع‌آوری شد. بعد از سانترفیوژ نمونه‌های پلاسما تا انجام آزمایش‌ها در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شد. جهت اندازه‌گیری میزان بافتی آنزیم CaMKII قسمتی از بافت قلب در بافر فسفات  $\text{PH}=7/4$  به صورت ۱۰ درصد وزن به حجم در یک چرخه سرد یا یخی اول به وسیله هموژنایزر و سپس توسط دستگاه سونیکاتور تحت تأثیر امواج مافوق صوت قرار گرفت تا سلول‌ها به طور کامل باز شوند. پس از این مرحله، نمونه‌ها سانترفیوژ شده، محلول بالایی جمع‌آوری شد و تا انجام آزمایش در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شد.

### اندازه‌گیری میزان بافتی آنزیم CaMKII:

اندازه‌گیری میزان بافتی آنزیم CaMKII بافت قلب به روش الیزا (با استفاده از کیت ZellBio GmbH ساخت کشور آلمان) با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. این آزمایش بر اساس تکنیک مستقیم ساندویچ به صورت فاز جامد آنزیم ایمنواسی، انجام گرفت. برای این کار ابتدا آنتی‌بادی مخصوص آنزیم CaMKII، streptavidin-HRP، سپس نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد بعد از آماده‌سازی مطابق دستورالعمل داخل میکروپلیت ریخته

آنزیم CaMKII در نوسان چندین پروتئین کلیدی دخیل در تنظیم حاد هموستاز کلسیم از جمله گیرنده‌های ریانودین (RyR)، کانال‌های  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase شبکه سارکوپلاسمی، فسفولامبان و کانال‌های کلسیمی نوع L در میوسیت‌های بطنی دخالت دارد (۱۰). تغییر در عملکرد CaMKII می‌تواند از طریق پیشبرد مکانیسم‌های منجر به هیپرتروفی، اختلال در عملکرد پروتئین‌های دخیل در جابه‌جایی کلسیم و یا آپوپتوزیس به ایجاد و پیشرفت نارسایی قلبی کمک کند (۱۱). در طول دو دهه اخیر Anderson و همکاران شواهدی را در زمینه نقش پاتولوژیک آنزیم CaMKII ارائه کردند. آن‌ها مشاهده کردند، فعالیت CaMKII در میکاردیوم تحت شرایطی همچون هیپرتروفی و انفارکتوس، و همچنین در شرایط استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد (۱۲-۱۴). بعلاوه افزایش سه برابری فعالیت CaMKII و افزایش دو برابری بیان ژن این آنزیم در افراد با نارسایی قلبی همراه با کاردیومیوپاتی گشاد شده گزارش شده است (۱۵).

از دیگر عوامل مؤثر در پاتوژنز بیماری‌های قلبی می‌توان به افزایش سطح سرلوپلاسمین (CP) به عنوان یک پروتئین التهابی اشاره کرد (۱۶). سرلوپلاسمین پروتئینی است که توسط سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) سنتز می‌شود. این پروتئین فاز حاد متصل شونده به مس، در شرایط التهاب افزایش می‌یابد (۱۷). در بسیاری از مطالعات اپیدمیولوژیک ارتباط میان سطح پلاسمایی افزایش یافته‌ی مارکرهای التهابی مانند C-reactive protein (CRP)، فاکتور نکروز دهنده‌ی تومور آلفا ( $\text{TNF-}\alpha$ ) و مارکرهای التهابی دیگر با بروز بیماری‌های قلبی عروقی گزارش شده است (۱۸). اگرچه مکانیسم تأثیر CP بر بروز بیماری‌های قلبی مورد بحث است، مطالعات مختلف به نقش آن در ایجاد اترواسکلروز و پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان عاملی در ایجاد ناهنجاری‌های قلبی اشاره می‌کنند (۱۹، ۲۰). مطالعات اخیر نشان داده‌اند، افزایش سطح سرلوپلاسمین می‌تواند منجر به اکسیداسیون نیتریک‌اکساید (NO) و به دنبال آن منجر به افزایش تولید گونه‌های اکسیدانت و آسیب اکسیداتیو سلولی گردد (۲۱، ۲۲). مطالعات قبلی از نقش سرلوپلاسمین در بروز فیبریلاسیون عروقی (۲۳) و اختلالات اندوتلیال سخن گفته‌اند (۲۲) و سطح بالای سرلوپلاسمین را به عنوان یک فاکتور خطر مستقل بیماری‌های عروق کرونر (CAD) گزارش کرده‌اند (۲۴). همچنین افزایش سطح سرلوپلاسمین در بیماران با نارسایی قلبی نیز گزارش شده است (۲۵، ۲۶).

با توجه به اینکه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که مصرف اتانول سبب اختلال در هموستاز کلسیم می‌گردد و آنزیم کلسیم-کالمودولین پروتئین کیناز نیز در هموستاز کلسیم نقش مهمی دارد در این مطالعه ما به بررسی تأثیر مصرف مزمن اتانول بر میزان این

دستگاه نفلومتری میزان سرولوپلاسمین به طور اتوماتیک اندازه گیری و با استفاده از منحنی استاندارد داخل دستگاه قرائت شد. در این مطالعه از نرم افزار SPSS16 تحت ویندوز روش t-test مستقل جهت مقایسه زوجی گروهها استفاده شد. در تمامی موارد  $P < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

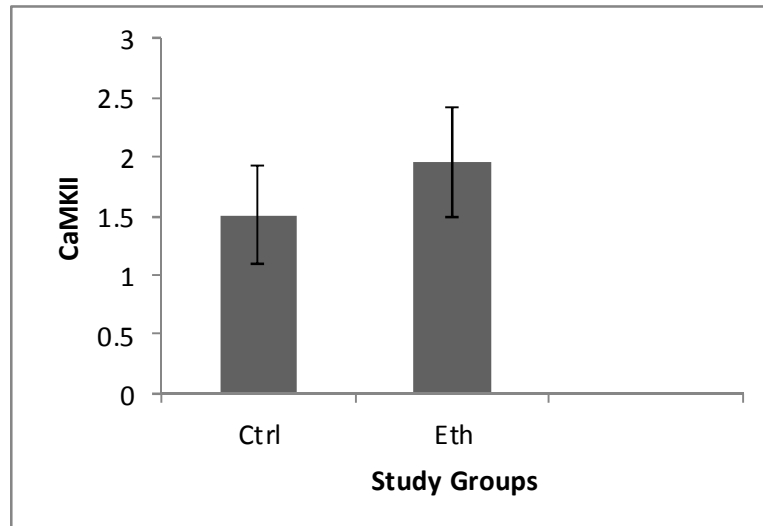
#### نتایج مربوط به اندازه گیری سطح بافتی آنزیم CaMKII:

پس از ۴۲ روز مداخله نمونه‌های بافتی جهت اندازه گیری سطح آنزیم CaMKII مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به نمودار ۱، علی‌رغم اینکه سطح آنزیم در بافت قلب در گروه اتانول  $1.95 \pm 0.46$  بود که در مقایسه با گروه کنترل با سطح بافتی آنزیم معادل  $1.42 \pm 0.42$  ۱/۵۱ بالاتر بود اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. ( $P=0.75$ )

شدند. CaMKII در نمونه‌ها با آنتی‌بادی باند شد. بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه، ۵ مرتبه شست‌وشو انجام شد که در این حالت مواد باند نشده برداشته شدند. سپس محلول Chromogen A و سپس محلول Chromogen B به هریک از خانه‌های میکروپلیت اضافه شد. بعد از انکوباسیون مجدد در دمای ۳۷ درجه، محلول Stop solution به هریک از خانه‌های میکروپلیت اضافه کردیم سپس خوانش توسط دستگاه الیزاریدر انجام شد. با توجه به غلظت محلول‌های استاندارد و جذب‌های متناظر منحنی جذب مربوط به استانداردها رسم شد. محدوده‌ی ارزیابی توسط کیت ۱-۳۲ ng/ml با حساسیت ۰/۱ ng/ml بود.

#### اندازه گیری سطح سرولوپلاسمین:

سرولوپلاسمین با روش مونوباندینگ (با استفاده از کیت Binding Site ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش که با استفاده از آنتی‌بادی مربوطه غیرمحلول بود. در



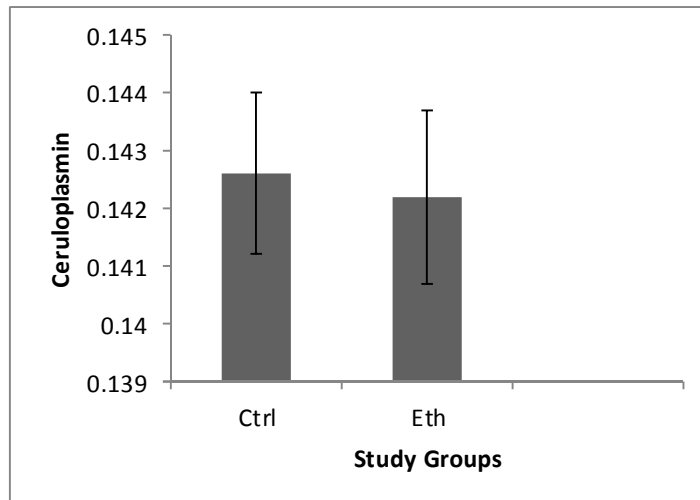
نمودار (۱): میانگین سطح بافتی آنزیم CaMKII در گروه‌های کنترل (Ctrl)، اتانول (Eth)

شد. با توجه به نمودار ۲، سطح پلاسمایی سرولوپلاسمین در گروه اتانول  $0.1422 \pm 0.015$  در مقایسه با گروه کنترل با سطح پلاسمایی سرولوپلاسمین  $0.1426 \pm 0.014$  اختلاف معنی داری را نشان نداد ( $P=0.993$ ).

#### نتایج مربوط به اندازه گیری سطح پلاسمایی

#### سرولوپلاسمین:

پس از پایان مداخله، اندازه‌گیری سطح پروتئین انتهایی سرولوپلاسمین در نمونه‌های پلاسمای دو گروه کنترل و اتانول انجام



نمودار (۱): میانگین سطح پلاسمایی ceruloplasmin در گروه‌های کنترل (Ctrl)، اتانول (Eth)

### بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه برای نخستین بار میزان بافتی آنزیم CaMKII در قلب موش‌های صحرایی در مواجهه با اتانول اندازه‌گیری شد. اگرچه مطالعات متعدد از مصرف مزمن الکل به‌عنوان عامل بیماری‌های بافت و عملکرد قلب سخن گفته‌اند (۱-۴)، اما مکانیسم‌های دقیق مولکولی که به‌واسطه‌ی آن‌ها الکل منجر به بروز ناهنجاری‌های قلبی می‌شود کاملاً مشخص نیست. مطالعات زیادی از تغییر میزان آنزیم CaMKII به‌عنوان عاملی در ایجاد هیپرتروفی و نارسایی قلبی سخن گفته‌اند (۱۱). تغییرات بیان این آنزیم در سطح رونویسی در شرایط پاتولوژیک همچون کاردیومیوپاتی گشاد شده، انفارکتوس قلبی، آریتمی و نارسایی قلبی گزارش شده است (۲۷، ۲۸). افزایش استرس اکسیداتیو از مشخصه‌های مهم بیماری‌های قلبی عروقی است (۶). از سوی دیگر مصرف طولانی‌مدت الکل منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو در میوکاردیوم به‌صورت مستقیم، از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و به‌صورت غیرمستقیم، از طریق فعال کردن سایر سیستم‌ها و هورمون‌ها مثل آنژیوتانسین II می‌شود (۵). در حقیقت برای بسیاری از بیماری‌های مزمن افزایش استرس اکسیداتیو ناهنجار بوده و به پیشرفت بیماری و افزایش شدت آن کمک می‌کند. آنزیم NADPH اکسیداز و میتوکندری، هر دو از منابع تولید ROS<sup>۱</sup> جهت اکسیداسیون CaMKII و تولید ox-CaMKII<sup>۲</sup> به‌حساب می‌آیند. با توجه به مطالعات قبلی، فاکتورهای دیگر مانند هیپرگلیسمی، افزایش Na<sup>+</sup> داخل سلولی، سیتوکین‌ها، اندوتوکسین‌ها، آنژیوتانسین II و آلدسترون توان افزایش ox-

CaMKII را در میوکاردیوم دارند (۶). افزایش بیان و فعالیت این آنزیم تحت تأثیر گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) می‌تواند منجر به تجمع Ca و Na داخل سلولی می‌شود (۲۹). افزایش کلسیم داخل سلولی می‌تواند از طریق افزایش بیان ژن‌های هیپرتروفیک وابسته به کلسیم منجر به بروز هیپرتروفی گردد (۱۱). باوجود شواهد موجود در زمینه ارتباط افزایش فعالیت این آنزیم با بروز هیپرتروفی و نارسایی قلبی، مطالعه‌ی ما افزایش سطح بافتی این آنزیم را تحت تأثیر مصرف اتانول نشان نداد.

متغیر دیگری که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، تغییر سطح پلاسمایی سرلوپلاسمین بود. مطالعات بالینی، افزایش سطح مارکرهای التهابی در بیماران با نارسایی قلبی (HF)<sup>۳</sup> و ارتباط میان افزایش مارکرهای التهابی با پیش‌آگهی ضعیف در این بیماران را گزارش کردند (۳۰). در مطالعه Hammadah، افزایش سرلوپلاسمین به‌عنوان ریسک فاکتور مستقل بیماری عروق کرونر (CAD)<sup>۴</sup> گزارش شد (۲۴). مطالعه‌ی دیگری افزایش بروز HF در بیماران با سطح بالای سرلوپلاسمین به همراه چهار فاکتور التهابی دیگر را در طول ۲۲ سال پیگیری نشان داد (۳۱). مکانیسم تأثیر CP بر بروز بیماری‌های قلبی هنوز به‌طور کامل مشخص نیست. اگرچه نقش فرواکسیدازی سرلوپلاسمین که Fe<sup>۲+</sup> را به Fe<sup>۳+</sup> تبدیل می‌کند، می‌تواند در جلوگیری از آسیب سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد حاصل از آهن مانند اکسیداسیون لیپیدی، آسیب پروتئین و DNA نقش داشته باشد، این تأثیرات تنها در سطح سلولی به اثبات رسیدند (۳۲). با توجه به مطالعات قبلی، به نظر می‌رسد CP نقش

<sup>3</sup> Heart failure

<sup>4</sup> Coronary Artery Disease

<sup>1</sup> Reactive Oxygen Species

<sup>2</sup> Oxidized-CaMKII

باوجود اینکه در این مطالعه سطح آنزیم CaMKII در بافت قلب در گروه اتانول افزایش معنی‌داری نداشت، بررسی تغییر بیان ایزوفرم‌های گوناگون این آنزیم در سطح رونویسی و ترجمه و همچنین استفاده از مدل‌های حیوانی تغییر ژنتیک یافته اطلاعات دقیق‌تری از تأثیر اتانول بر ایزوفرم‌های مختلف این آنزیم فراهم خواهد کرد.

### تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه که این پژوهش را تأمین مالی نموده‌اند مراتب تشکر و قدردانی را به عمل می‌آوریم. همچنین از کارکنان محترم آزمایشگاهی فیزیولوژی و بیوشیمی که همکاری ویژه‌ای در انجام این پژوهش داشته‌اند، تشکر می‌نماییم. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم تغذیه می‌باشد.

### References:

- Shirpoor A, Nemati S, Ansari MHK, Ilkhanizadeh B. The protective effect of vitamin E against prenatal and early postnatal ethanol treatment-induced heart abnormality in rats: a 3-month follow-up study. *Int Immunopharmacol* 2015;26: 72-9.
- Thomas AP, Rozanski DJ, Renard DC, Rubin E. Effects of ethanol on the contractile function of the heart: a review. *Alcoholism: Clin Experimen Res* 1994;18: 121-31.
- Shirpoor A, Salami S, Khadem-Ansari MH, Heshmatian B, Ilkhanizadeh B. Long-term ethanol consumption initiates atherosclerosis in rat aorta through inflammatory stress and endothelial dysfunction. *Vascular pharmacol* 2012;57: 72-7.
- Norouzi L, Shirpoor A, Khadem Ansari MH, Ilkhanizadeh B. Vitamin E attenuates alcohol-induced aortic wall damage in rats. *Artery Res* 2015;10: 20-6.
- Piano MR, Phillips SA. Alcoholic cardiomyopathy: pathophysiologic insights. *Cardiovascular toxicology* 2014;14: 291-308.
- Anderson ME. Oxidant stress promotes disease by activating CaMKII. *J Molecular Cellular Cardiol* 2015;89: 160-7.
- Massé T, Kelly PT. Overexpression of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II in PC12 cells alters cell growth, morphology, and nerve growth factor-induced differentiation. *J Neuroscience* 1997;17: 924-31.
- Braun AP, Schulman H. The multifunctional calcium/calmodulin-dependent protein kinase: from form to function. *Annual Rev Physiol* 1995;57: 417-45.
- Zhang T, Maier LS, Dalton ND, Miyamoto S, Ross J, Bers DM, et al. The  $\delta$ C isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circulation Res* 2003;92: 912-9.
- Zhang T, Miyamoto S, Brown JH. Cardiomyocyte calcium and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II: friends or foes? *Recent progress in hormone research* 2004;59: 141-68.
- Zhang T, Brown JH. Role of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II in cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovascular Res* 2004;63: 476-86.
- Anderson ME, Braun AP, Wu Y, Lu T, Wu Y, Schulman H, et al. KN-93, an inhibitor of multifunctional Ca<sup>++</sup>/calmodulin-dependent protein kinase, decreases early afterdepolarizations

- in rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;287(3):996–1006.
13. Wu Y, Roden DM, Anderson ME. Calmodulin kinase inhibition prevents development of the arrhythmogenic transient inward current. *Circ Res* 1999;84(8):906–12.
  14. Wu Y, MacMillan LB, McNeill RB, Colbran RJ, Anderson ME. CaM kinase augments cardiac L-type Ca<sup>2+</sup> current: a cellular mechanism for long Q-T arrhythmias. *Am J Physiol* 1999;276(6 Pt 2):H2168-2178..
  15. Kirchhefer U, Schmitz W, Scholz H, Neumann J. Activity of cAMP-dependent protein kinase and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase in failing and nonfailing human hearts. *Cardiovasc Res* 1999;42(1):254–61.
  16. Hammadah M, Fan Y, Wu Y, Hazen SL, Tang WHW. Prognostic value of elevated serum ceruloplasmin levels in patients with heart failure. *J Card Fail* 2014;20(12):946–52.
  17. Qian ZM, Chang YZ, Leung G, Du JR, Zhu L, Wang Q, et al. Expression of ferroportin1, hephaestin and ceruloplasmin in rat heart. *Biochim Biophys Acta* 2007;1772(5):527–32.
  18. Lowe GDO. Circulating inflammatory markers and risks of cardiovascular and non-cardiovascular disease. *J Thromb Haemost* 2005;3(8):1618–27.
  19. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med* 2000;28(12):1735–44.
  20. Giurgea N, Constantinescu MI, Stanciu R, Suciuc S, Muresan A. Ceruloplasmin - acute-phase reactant or endogenous antioxidant? The case of cardiovascular disease. *Med Sci Monit* 2005;11(2):RA48-51.
  21. Shiva S, Wang X, Ringwood LA, Xu X, Yuditskaya S, Annavajhala V, et al. Ceruloplasmin is a NO oxidase and nitrite synthase that determines endocrine NO homeostasis. *Nat Chem Biol* 2006;2(9):486–93.
  22. Cappelli-Bigazzi M, Ambrosio G, Musci G, Battaglia C, Bonaccorsi di Patti MC, Golino P, et al. Ceruloplasmin impairs endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *Am J Physiol* 1997;273(6 Pt 2):H2843-2849..
  23. Adamsson Eryd S, Sjögren M, Smith JG, Nilsson PM, Melander O, Hedblad B, et al. Ceruloplasmin and atrial fibrillation: evidence of causality from a population-based Mendelian randomization study. *J Intern Med* 2014;275(2):164–71.
  24. Reunanen A, Knekt P, Aaran RK. Serum ceruloplasmin level and the risk of myocardial infarction and stroke. *Am J Epidemiol* 1992;136(9):1082–90.
  25. Xu Y, Lin H, Zhou Y, Cheng G, Xu G. Ceruloplasmin and the extent of heart failure in ischemic and nonischemic cardiomyopathy patients. *Mediators Inflamm* 2013;2013:348145.
  26. Kaya Z, Kaya BC, Sezen H, Bilinc H, Asoglu R, Yildiz A, et al. Serum ceruloplasmin levels in acute decompensated heart failure. *Clin Ter* 2013;164(3):e187-191.
  27. Erickson JR, Joiner MA, Guan X, Kutschke W, Yang J, Oddis CV, et al. A dynamic pathway for calcium-independent activation of CaMKII by methionine oxidation. *Cell* 2008;133(3):462–74.
  28. Maier LS. CaMKII $\delta$  overexpression in hypertrophy and heart failure: cellular consequences for excitation-contraction coupling. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(9):1293–302.
  29. Anderson ME, Brown JH, Bers DM. CaMKII in myocardial hypertrophy and heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2011;51(4):468–73.
  30. de Virginy DRB. Novel and potential future biomarkers for assessment of the severity and prognosis of chronic heart failure: a clinical review. *Heart Fail Rev* 2006;11(4):333–4.

31. Engström G, Hedblad B, Tydén P, Lindgärde F. Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with increased incidence of heart failure: a population-based cohort study. *Atherosclerosis* 2009;202(2):617–22.
32. Cabassi A, Binno SM, Tedeschi S, Ruzicka V, Dancelli S, Rocco R, et al. Low serum ferroxidase I activity is associated with mortality in heart failure and related to both peroxynitrite-induced cysteine oxidation and tyrosine nitration of ceruloplasmin. *Circ Res* 2014;114(11):1723–32.
33. Mukhopadhyay CK, Mazumder B, Fox PL. Role of hypoxia-inducible factor-1 in transcriptional activation of ceruloplasmin by iron deficiency. *J Biol Chem* 2000;275(28):21048–54.

## THE EFFECT OF ETHANOL ON PLASMA CERULOPLASMIN LEVEL AND CAMKII IN RATS'S HEART

Elaheh Heshmati<sup>1</sup>, Mohammad Alizadeh<sup>2\*</sup>

Received: 12 Sep, 2017; Accepted: 22 Nov, 2017

### Abstract

**Background & Aims:** Chronic alcohol consumption has been associated with cardiovascular abnormalities, including cardiomyopathy, hypertension, coronary artery disease, and stroke. Although the association between chronic alcohol intake and cardiac abnormality is well-known, the exact underlying molecular mediators involved in alcohol-induced heart abnormalities remain elusive. The aim of this study was to investigate the effect of chronic alcohol intake on plasma ceruloplasmin level and calcium /calmodulin-depedent protein kinase II in male Wistar rats' heart.

**Materials & Method:** Sixteen male Wistar rats were divided into two groups, control and ethanol groups. Rats in the ethanol group received ethanol with a dose of 4.5 g/kg body weight saluted in tap water (20% w/v) and administrated intragastrically by gavage once a day. After six weeks of treatment, plasma ceruloplasmin level and CaMKII of heart tissue were measured.

**Results:** Although the results revealed an increase in CaMKII amount in the ethanol group, compared to that in the control group, it did not reach statistical significance (P-value: 0.75). In addition, there was no significant difference between plasma ceruloplasmin level in the ethanol group and control group (P-value=0.993).

**Conclusions:** According to results of the current study, although both CaMKII and ceruloplasmin have well known impact on cardiovascular abnormalities, they cannot be considered as molecular mediators involved in alcohol-induced heart disorders.

**Keywords:** Ethanol, Heart, Calcium /Calmodulin-depedent protein kinaseII, Ceruloplasmin

**Address:** Department of Nutrition, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

**Tel:** +984432780803

**Email:** alizade85@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2018; 28(10): 628 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> MSc Student in Nutrition, Department of Nutrition, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Nutrition, School of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)