

سرولوپلاسمین به عنوان معیار ظرفیت آنتی اکسیدان در نوزادان نارس و رسیده

دکتر محمد ابراهیم رهبانی نوبر^۱، دکتر محمد رهبانی نوبر^۲

خلاصه

زمینه و اهداف: صدمه رادیکال اکسیژن ممکن است یک مکانیسم پاتوژنیک شایع در چندین بیماری نوزاد باشد. مسمومیت از اکسیژن مسأله اصلی در اثنای دوره تطابق بعد از تولد به ویژه در بین نوزادان نارس است. تولید مداوم رادیکالهای آزاد اکسیژن فعال در حالت هیپوکسی یا درمان حمایتی با اکسیژن در نوزادان نارس وجود داشته و در آنها مکانیسم دفاع آنتی اکسیدانت غیر کافی می باشد. سرولوپلاسمین (Cp) یک آنتی اکسیدانت خارج سلولی مهم بوده و در تنظیم حالت یونی آهن بویژه اکسیده کردن Fe^{2+} به Fe^{3+} اهمیت حیاتی دارد. فعالیت آنزیمی Cp می تواند اهمیت بسیار زیادی در روز اول تولد داشته باشد.

روش بررسی: فعالیت اکسیدازی Cp و غلظت پروتئین آن در خون ناف نوزادان نارس و رسیده به ترتیب به وسیله روشهای سینتیک دستی با به کارگیری پارافنیلن دی آمین به عنوان سوبسترا و ایمونوشیمیایی اندازه گیری شدند. پارامترهای فوق در نوزادان نارس بعد از اکسیژن درمانی حمایتی بررسی و با مقادیر به دست آمده قبل از آن مقایسه گردید.

یافته ها: میانگین فعالیت آنزیمی Cp در سرم خون ناف ۵۲ نوزاد رسیده ۲۰۰ واحد هنری در لیتر (۸۱ الی ۳۰۰ واحد در لیتر) در حالی که در نمونه های ۵۰ نوزاد نارس ۱۱۰ واحد هنری در لیتر (۱۰ الی ۲۹۰ واحد در لیتر) بود. غلظت Cp در گروههای فوق به ترتیب ۱۲ میلی گرم در دسی لیتر (۷ الی ۲۸ میلی گرم در دسی لیتر) و ۸ میلی گرم در دسی لیتر (۰ الی ۱۸ میلی گرم در دسی لیتر) محاسبه گردید. بعد از اکسیژن درمانی حمایتی، فعالیت آنزیمی Cp و غلظت آن مجدداً در ۲۴ مورد نوزاد نارس بررسی گردید. در مقایسه با بقیه نوزادان نارس کاهش قابل توجهی در فعالیت آنزیمی Cp ($p < 0.05$) بدون کاهش معنی دار در غلظت آنزیم مشاهده گردید.

نتیجه گیری: اندازه گیری سرولوپلاسمین در سرم خون بند ناف نوزادان می تواند یک معیار با ارزش ظرفیت آنتی اکسیدانت آنها باشد. چنین به نظر می رسد که اگر نیاز به تجویز اکسیژن حمایتی در آنها باشد لازم است به طور همزمان تزریق داخل وریدی ویتامین C را برای محافظت از اکسیژن فعال دریافت نمایند.

۱- استادیار گروه کودکان دانشگاه علوم پزشکی تبریز - نویسنده رابط
۲- استاد گروه بیوشیمی و آزمایشگاههای بالینی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

مقدمه

رادیکالهای آزاد برای تعدادی از فرآیندهای بیولوژی طبیعی ضروری بوده و به عنوان انواعی از گونه های مفید در بیشتر واکنشهای بیوشیمیایی بدن شرکت می کنند. آنها در پاسخ بافتی به میکروارگانسیمهای مهاجم شرکت نموده، فاکتور شل کننده مشتق شده از آندوتلیال یعنی نیتریک اکسید رادیکال آزاد بوده و نیز جزو مواد واسطه ای در چندین واکنش آنزیمی هستند. بدین ترتیب در پیش انسان رادیکالهای آزاد برای متابولیسم طبیعی ضروری هستند. ولی اگر رادیکالهای آزاد به طور مازاد بر آنتی اکسیدانتهای موضعی در سیستمهای جمع آوری رادیکال بافتها که خنثی کننده آنها می باشند تولید شوند سلولهای زنده و همین طور سیستمهای آنزیمی را منهدم و یا از کار می اندازند (۱). چنین حالتی که استرس اکسیداتیو نامیده شده است در چندین مورد پاتولوژیک گزارش گردیده است (۲ و ۳). نوزادان نارس جزو مواردی هستند که بررسی استرس اکسیداتیو در آنها از اهمیت بالایی برخوردار می باشد (۴).

آنتی اکسیدانتهای که به عنوان مواد جلوگیری کننده یا مهار کننده صدمه اکسیداتیو تعریف شده اند متنوع بوده و یکی از آنها سرولوپلاسمین می باشد. سرولوپلاسمین پروتئین اصلی حاوی مس در سرم بوده و دارای فعالیت آنتی اکسیدانت می باشد و همین طور نقش مهمی در انتقال و مصرف مس در داخل بدن دارد. خاصیت آنتی اکسیدانت سرولوپلاسمین در عمل فرواکسیدازی آن تمرکز پیدا کرده است که در آن یونهای آهن دو ظرفیتی به یونهای آهن سه ظرفیتی اکسیده می شوند (۵) که در بسیج و انتقال آهن اهمیت دارد سرولوپلاسمین علاوه بر فعالیت فرواکسیدازی، جمع کننده یونهای سوپراکسید نیز می باشد (۶).

در این مطالعه فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین و غلظت پروتئین آن در سرم خون بند ناف نوزادان نارس و رسیده اندازه گیری و بعنوان معیار ظرفیت آنتی اکسیدانت در این دو گروه با همدیگر مقایسه گردیدند. با تکرار اندازه گیری فوق در عده ای از نوزادان نارس که تحت اکسیژن تراپی حمایتی بودند تاثیر این نوع درمان بر فعالیت اکسیدازی سرولوپلاسمین و اندازه کمی پروتئین آنزیم مورد ارزیابی قرار گرفت تا در صورت کاهش فعالیت اکسیدازی سرولوپلاسمین همراه درمان به طور همزمان استفاده از داروها بویژه ویتامینهای احیا کننده پیشنهاد گردد.

مواد و روش تحقیق

نمونه ها از نوزادان متولد شده در بیمارستانهای خصوصی و دولتی شهر تبریز از سال ۱۳۷۶ لغایت ۱۳۷۸ تهیه شدند. فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین و غلظت آن در نمونه های خون بند نافی ۵۰ نوزاد نارس با میانگین سن حاملگی 0.7 ± 35 و میانگین وزن 2275 ± 150 گرم و 24 ± 39 و میانگین وزن 240 ± 3470 گرم و به ظاهر بدون استرس اکسیدانت اندازه گیری گردید. پارامترهای فوق در سرم خون ۲۴ نوزاد نارس که مدت ۲۴ ساعت تحت اکسیژن تراپی حمایتی بودند ارزیابی و با بقیه نوزادان نارس که تحت اکسیژن تراپی نبودند مقایسه گردید.

از آنجایی که سرولوپلاسمین یک پروتئین ناپایدار بوده و به زودی مس ساختمان خود را در نتیجه خاصیت اکسیدازی از دست می دهد بعد از نمونه گیری به مقدار ۳ میلی لیتر بلافاصله سرم خون جدا و سرولوپلاسمین مورد ارزیابی قرار گرفت. در صورت تاخیر در اندازه گیری، نمونه های سرمی در 70°C درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در این بررسی مقدار کمی سرولوپلاسمین در سرم به روش ایمونوشیمیایی (۷) و فعالیت آنزیمی آن با به کارگیری سوبسترای پارافینیل دی آمین به روش Henry (۸) اندازه گیری شدند. نتایج اندازه گیری کمی بر حسب میلی گرم در دسی لیتر و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد هنری در لیتر (HU/l) گزارش شدند. جهت مقایسه میانگین داده ها از آزمون (Test) استفاده شد.

نتایج

در جدول ۱، مشخصات نوزادان مورد مطالعه نشان داده شده است. میانگین وزن و سن حاملگی آنها همراه با انحراف معیار مربوطه در این جدول مشخص شده اند. جدول فوق همچنین نشان می دهد که حدود ۵۰ درصد نوزادان نارس و رسیده مورد مطالعه را جنس مذکر و ۵۰٪ بقیه را جنس مونث تشکیل می دهد. همان طوری که مشاهده می شود اختلاف قابل توجهی از لحاظ میانگین وزن و سن حاملگی در بین دو گروه وجود دارد.

جدول ۱، مشخصات نوزادان مورد مطالعه

نمونه ها	تعداد	میانگین وزن (گرم)	میانگین سن حاملگی (هفته)	مذکر	مونث
نوزادان نارس	۵۰	۲۲۷۵ ± ۱۵۰	۳۵ ± ۰/۷	۲۶	۲۴
نوزادان رسیده	۵۲	۳۴۷۰ ± ۲۴۰	۳۹ ± ۰/۹	۲۷	۲۵

فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین در نمونه های سرمی اختلاف قابل توجهی در بین نوزادان نارس و رسیده نشان داد (P کمتر از ۰/۰۵ در همه موارد) به طوری که کاهش چشمگیری در فعالیت و مقدار کمی سرولوپلاسمین در نوزادان نارس مشاهده گردید.

جدول ۲، مقایسه فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین و مقدار کمی آن در سرم نوزادان نارس و رسیده

نمونه ها	تعداد	فعالیت آنزیمی سرولو پلاسمین* HU/l	مقدار سرولوپلاسمین mg/dl
نوزادان نارس	۵۰	۱۱۰ ± ۴۸	۸ ± ۲/۷
نوزادان رسیده	۵۲	۲۰۰ ± ۲۶	۱۲ ± ۱/۶

مقایسه گردید. همان طوری که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است کاهش مشخصی در فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین به دنبال اکسیژن تراپی حمایتی مشاهده گردید ($p < 0.05$) در حالی که کاهش در مقدار کمی سرولوپلاسمین سرم از لحاظ آماری قابل توجه نبود.

درعده ای از نوزادان نارس (۲۴ نفر) که تحت اکسیژن تراپی حمایتی قرار گرفته بودند بعد از ۲۴ ساعت مجدداً فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین و مقدار کمی آن در نمونه های سرم خون اندازه گیری و با نتایج به دست آمده از نوزادان نارس که تحت چنین درمانی قرار نگرفته بودند

جدول ۳، مقایسه فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین و مقدار کمی آن در سرم خون نوزادان نارس با اکسیژن تراپی حمایتی و بدون

نمونه ها	تعداد	فعالیت آنزیمی سرولو پلاسمین HU/l	مقدار سرولو پلاسمین mg/dl
نوزادان نارس بدون اکسیژن تراپی حمایتی	۲۶	۱۲۲ ± ۴۲	۹ ± ۱/۹
نوزادان نارس با اکسیژن تراپی حمایتی	۲۴	۹۰ ± ۳۳	۸/۸ ± ۲/۱

بحث

است که در آنها به کاهش آنتی اکسیدانت های همراه شونده با متابولیسم آهن اشاره گردیده است (۹ و ۱۱).

کاهش فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین در سرم خون نوزادان نارس که تحت اکسیژن تراپی حمایتی بودند و عدم تغییر قابل توجه در غلظت سرولوپلاسمین سرم خون آنها نشان دهنده این حقیقت است که به علت پایین بودن ظرفیت آنتی اکسیدانت در نوزادان نارس اکسیژن تراپی حمایتی موجب استرس اکسیداتیو و آن هم سبب جدا شدن ملکول مس از ساختمان سرولوپلاسمین (۱۲) و کاهش در فعالیت آنزیمی آن می گردد. در صورتی که با روش ایمونوشیمیایی مقدار کمی سرولوپلاسمین به طور قابل توجهی تغییر پیدا نمی کند. چنین به نظر می رسد که همراه اکسیژن تراپی حمایتی در نوزادان نارس تجویز داخل وریدی ویتامین C برای محافظت آنها از گونه های اکسیژن فعال ضروری باشد. از طرفی با در نظر گرفتن نتایج فوق در بررسی وضع ظرفیت آنتی اکسیدانت نوزادان اندازه گیری فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین به تعیین مقدار کمی آن ترجیح داده می شود.

صدمه رادیکال اکسیژن ممکن است یک مکانیسم پاتوژنیک شایع در چندین بیماری نوزادان باشد. توجه بیشتر به موضوع در نتیجه مواجه شدن با وقوع بالای خونریزی داخل مغزی، اختلاف تنفسی مزمن و رتینوپاتی در نوزادان نارس مطرح شده است (۹).

گزارش شده که نوزادان نارس ظرفیت آنتی اکسیدان پایین تر از نوزادان رسیده دارند (۱۰). اخیرا بیوشیمی رادیکال آزاد و آنتی اکسیدانت در علوم پزشکی متداول شده است و مهمترین مسأله انتخاب بهترین روش برای ارزیابی تولید رادیکال آزاد و بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانت می باشد.

سرولوپلاسمین علاوه بر داشتن خاصیت فرواکسید ازی که ممکن است در متابولیسم آهن مهم باشد جمع کننده آنیونهای سوپر اکسید نیز می باشد. در این مطالعه سرولوپلاسمین خون بندبافی نوزادان نارس به عنوان معیاری از وضعیت آنتی اکسیدانت سرم خون نوزاد اندازه گیری و با نتایج به دست آمده از نوزادان رسیده مقایسه گردید. فعالیت آنزیمی سرولوپلاسمین و غلظت آن با توجه به مقادیر به دست آمده از نوزادان رسیده کاهش قابل ملاحظه ای را نشان داد. نتایج فوق تاییدی بر گزارشهایی

References:

1. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem*, 1998; 38: 181-200.
2. Lunec J. Free radicals: their involvement in disease processes. *Ann. Clin Biochem*. 1990; 27: 173-183.
3. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet*. 1994; 344: 721-724.
4. Woodford FP, Whilehead TP. Is measuring serum antioxidant capacity clinically useful? *Ann. Clin. Biochem*. 1998; 35: 48-56.
5. Gutteridge JMC. Antioxidant activity of ceruloplasmin. In: William N.J, *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. 2nd ed. London, CRC Press, 1987; P: 303-307.
6. Goldstein IM, Kaplan HB, Edelson S, Weissmann G. Ceruloplasmin a scavenger of superoxide anion radicals. *J. Biol. Chem*. 1979; 254: 4040- 4045.
- Buffone GJ, Bren EM, Lewis SA. Limitations of immunochemical measurement of ceruloplasmin. *Clin. Chem*. 1979; 25: 794-797.