

رابطه بین سطح سرمی مس و سرولوپلاسمین و وابستگی آنها به نمونه

دکتر احمد غلامحسینیان^۱، دکتر محمود جلالی^۲ و دکتر نرگس سلاجقه^۳

خلاصه

ارتباط بین مس و سرولوپلاسمین در ۴۶۰ نفر از کارگران مجتمع مس سرچشمه و ۲۰۰ نفر از اهداکنندگان خون مراجعه کننده به بانک خون شهر کرمان مورد بررسی قرار گرفت. مقدار مس با استفاده از روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی و میزان سرولوپلاسمین با روش رنگ سنجی تعیین گردید. غلظت سرمی مس در کارگران صنایع مس $20/4 \pm 93$ میکروگرم در دسی لیتر بود که در مقایسه با گروه کنترل ($1/31 \pm 99/2$ میکروگرم در دسی لیتر) اختلاف معنی داری را نشان داد ($P < 0/05$). برعکس میزان سرمی سرولوپلاسمین در گروه مورد آزمون، برابر $4/94 \pm 20/4$ میلی گرم در دسی لیتر بدست آمد که بطور معنی داری بیشتر از گروه کنترل ($16/54 \pm 3/16$ میلی گرم در دسی لیتر) می باشد ($P < 0/05$). رابطه مثبت متفاوتی بین میزان سرولوپلاسمین و مس در هر دو گروه بدست آمد. بنابراین گمان می رود که محاسبه یکی از عوامل از روی عامل دیگر با داشتن ارتباط فوق منحصراً تحت شرایط خاصی امکان پذیر می باشد.

واژه های کلیدی: مس خون، سرولوپلاسمین، کارگران صنایع مس

مقدمه

است (۱۳). از طرف دیگر کمبود مس تحت شرایط خاصی مثل سوء تغذیه، سوء جذب، نفروز و تغذیه کامل وریدی دیده می شود (۱۷).

کمبود مس را می توان در یک نقیصه ژنتیکی موسوم به بیماری ویلسون که با ته نشین شدن آن در بافتها بخصوص مغز و

سرولوپلاسمین متالوآنزیمی است که معمولاً ۹۰٪ مس سرم به آن متصل می باشد (۱۸). از اینرو در شرایط عادی از سرولوپلاسمین بجای شاخص مس استفاده می کنند. مسمومیت با مس بسیار کمیاب بوده و گاهی همراه با تهوع، استفراغ، همولیز، نکروز کبدی، افزایش فشارخون، البگوری، تشنج و کوما

۱- استادیار بیوشیمی دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان

۲- استادیار بیوشیمی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران

۳- دکترای حرفه ای علوم آزمایشگاهی

دارای فعالیت اکسیدازی می باشد. از این خاصیت برای اندازه گیری فعالیت و در نتیجه مقدار آن در حضور مواد اولیه مناسب مانند پارافینیل دی آمین استفاده می شود. در این روش رنگ تولید شده در طول موج ۵۲۵ نانومتر اندازه گیری و از جذب نوری بدست آمده، میزان سرولوپلاسمین با استفاده از فرمول داده شده محاسبه گردید (۱۱).

برای تعیین مقدار مس، نمونه های مربوطه ابتدا با محلول ۵٪ گلیسرول رقیق، سپس میزان جذب نوری را توسط دستگاه جذب اتمی (Shimatzu، مدل ۶۸۰) در طول موج ۳۲۴/۸ نانومتر اندازه گیری شد. منحنی استاندارد مربوطه با بکارگیری غلظتهای ۲۰۰-۵۰ میکروگرم سولفات مس در دسی لیتر تهیه و از آن برای سنجش نمونه ها استفاده گردید. برای یکسان نمودن شرایط سنجش، سرم ذخیره واحدی را در تمام دفعات بعنوان کنترل منظور گردید. در این بررسی اختلاف بین میانگینهای مس و سرولوپلاسمین در گروههای نمونه و شاهد با استفاده از آزمون آماری t و جهت مطالعه همبستگی بین دو صفت کمی، تجزیه و تحلیل آماری و رگرسیون بعمل آمد.

نتایج

میزان مس سرم ۴۶۰ نفر از کارگران صنایع مس سرچشمه کرمان و ۲۰۰ نفر از مراجعه کنندگان به بانک خون کرمان با روش اسپکتروفتومتر جذب اتمی اندازه گیری شد که به ترتیب برابر 201.4 ± 93 و 311.1 ± 99.2 میکروگرم در دسی لیتر می باشد. برخلاف انتظار مقدار مس در کارگران از مقدار آن در گروه کنترل بطور معنی داری کمتر است و بی میزان سرولوپلاسمین کارگران برابر 41.94 ± 20.4 میلی گرم درصد میلی لیتر بود که از مقدار آن در گروه شاهد که به میزان 31.16 ± 16.54 میلی گرم در دسی لیتر است بیشتر می باشد.

بکمک تجزیه و تحلیل همبستگی و رگرسیون بین مس و سرولوپلاسمین ارتباط مثبت و معنی داری در هر دو گروه نمونه، نمودار ۱ ($r = 0.83$) و شاهد نمودار ۲ ($r = 0.75$) بدست آمد که در گروه آزمون معادله خط بصورت $CP = 0.18Cu + 10$ و در مورد گروه شاهد $CP = 0.23Cu + 12.8$ می باشد.

در معادلات فوق CP مقدار سرولوپلاسمین برحسب میلی گرم درصد میلی لیتر و OU غلظت مس برحسب میکروگرم درصد میلی لیتر می باشد.

کبد همراه است، دید. در این بیماری معمولاً میزان مس سرم کم شده و مقدار سرولوپلاسمین کاهش یافته یا وجود ندارد (۱۱). در کودکان سالم و طبیعی مقدار سرولوپلاسمین سرمی کم و مس کبدی بالا است. طی سال اول زندگی، سرولوپلاسمین افزایش یافته، ولی مقدار مس کبدی بحد نرمال می رسد. در بیماران هموزیگوت ویلسونی سرولوپلاسمین بمقدار ناچیزی تغییر نموده و در نتیجه مس موجود در کبد بالاتر از حد نرمال می ماند (۱۸). در نوزادان حدوداً ۴۶٪ مس سرم خون بدنناف به سرولوپلاسمین چسبیده و بقیه آن به آلبومین و پروتئین های با وزن مولکولی کم متصل است. چنین مکانیسمی را در بیماران ویلسونی نیز می توان یافت، لذا تصور می رود در این بیماران متابولیسم مس به شکل جنینی باقی می ماند (۱۰).

امروزه از سرولوپلاسمین بعنوان یکی از فاکتورهای بیوشیمیائی در پیگیری روند بیماریهای قلبی عروقی (۱۴)، در تشخیص و پیش آگهی سرطانهای کبدی (۱۷) در سوختگیها (۱۶) و از همه مهمتر در تشخیص بیماری ویلسون استفاده می شود. نظر به مشکلاتی که در تعیین مس به روش متداول اسپکتروفتومتری جذب اتمی وجود دارد و نظر بسهولت اندازه گیری سرولوپلاسمین معمولاً مقدار مس را از روی سرولوپلاسمین محاسبه می کنند (۱). در حالیکه عوامل متعددی می توانند بر میزان مس تأثیر بگذارند که اثرات متفاوتی بر فعالیت سرولوپلاسمین دارند. در این بررسی ارتباط بین مس با سرولوپلاسمین در افراد کنترل و کارگران صنایع مس سرچشمه کرمان مورد مقایسه قرار گرفته است.

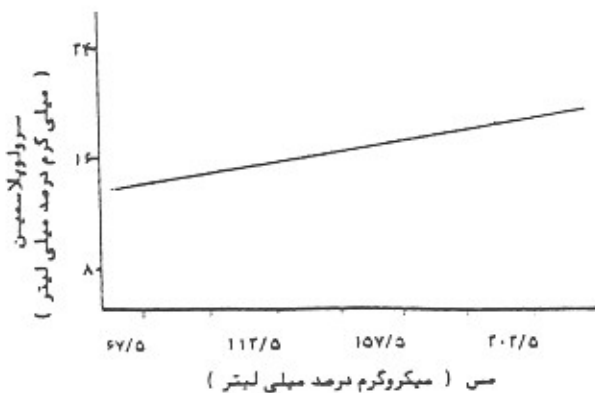
روش مطالعه

در این بررسی نمونه خون از ۴۶۰ نفر کارگر مرد مجتمع مس سرچشمه در اولین ساعات روز بروش تصادفی، نمونه گیری ساده از گروههای مختلف شغلی بعمل آمد. نمونه های مزبور در لوله های شسته شده با اسید کلریدریک ۱۰٪ و آب مقطر جمع آوری و بلافاصله سانتریفوژ شد. نمونه های سرمی در لوله های مشابهی در حرارت ۸-۲۰ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه مرکزی در کرمان منتقل و تا زمان آزمایش در فریزر ۱۸- الی ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. تعداد ۲۰۰ نفر مرد مراجعه کننده به سازمان انتقال خون کرمان که سابقه کار در صنایع مس را نداشتند و در همان محدوده سنی بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند.

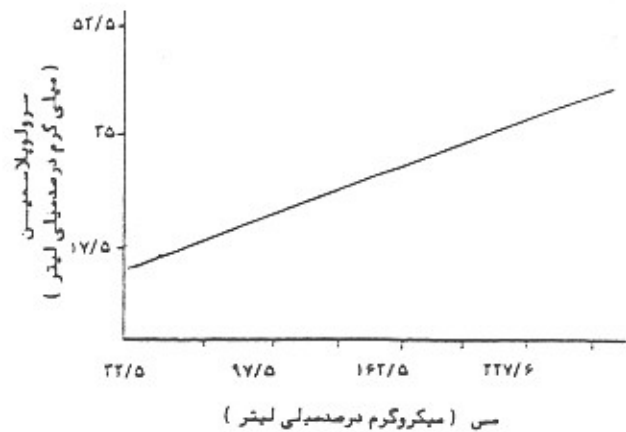
سرولوپلاسمین که یک آلفا ۲ گلوبولین حاوی مس است،

مقدار آن می باشد بطور غیر قابل برگشتی اثر می گذارند، بطوریکه اضافه کردن مس یا دیالیز نمونه ها نتوانسته است فعالیت آنزیمی را بحالت اولیه برگرداند (۸). بنابراین وجود این املاح در مکانهایی که غلظت آنها زیاد باشد در ارتباط بین مس و سرولوپلاسمین تأثیر خواهد داشت.

نمودار ۲: ارتباط بین مقدار سرولوپلاسمین و مقدار مس سرم در گروه شاهد ($r = 0/65$)



نمودار ۱: ارتباط بین مقدار سرولوپلاسمین و مقدار مس سرم در گروه مورد آزمون ($r = 0/83$)



بحث

استفاده از سرولوپلاسمین بجای مس یکی از روشهای متداولی است که بعضی مواقع جهت سهولت کار، در آزمایشگاههای تشخیص طبی (۱) و کارهای تحقیقاتی (۲) مورد استفاده قرار می گیرد. در مطالعات سیو و همکاران (۱۴) که بر روی بیماران قلبی صورت گرفته است نشان داده اند، میزان سرولوپلاسمین در چهار روز اول حمله قلبی با نسبت Cu/Zn ارتباط معکوس دارد. در مطالعه دیگری ثابت شده است نسبت مس به سرولوپلاسمین در افراد مبتلا به سرطان سینه بطور معنی داری بالاتر از افراد کنترل بوده که احتمالاً بالا بودن نسبت فوق در بیماران می تواند ناشی از اختلال در متابولیسم مس و در نتیجه افزایش مس غیر وابسته به سرولوپلاسمین باشد (۱۹).

تحقیقاتی که بر روی موشهای آزمایشگاهی انجام گرفته نشان دهنده تأثیر ترکیب مواد غذایی، مس و ویتامین A را در تنظیم میزان سرولوپلاسمین نشان داده است (۴). بر خلاف نظریه فوق، بلاکلی و هامیلتون (۵) در مطالعاتی بر روی گوساله و گوسفند، نشان دادند که ارتباطی خطی بین مقدار مس و سرولوپلاسمین در غلظت پائین و بالای مس وجود دارد، ولی در همین مقاله اشاره شده است که تفاوت معنی داری بین انواع گونه های جانوری دیده می شود. از عوامل محیطی دیگری که می توانند بر ارتباط بین مس و سرولوپلاسمین تأثیر داشته باشند یونهای فلزات دوظرفیتی است. وجود مواد بازدارنده مانند املاح مولیبدن بر فعالیت اکسیدازی سرولوپلاسمین که بطور معمول ملاک اندازه گیری

در موشهای آزمایشگاهی، تجویز مقادیر زیاد کادمیوم و نقره بر متالوتیونین اثر کرده، باعث جایگزین شدن نقره و کادمیوم بجای یونهای مس، آهن و روی شده بنحوی که غلظت مس در محلول استخراج شده از بافت کبدی افزایش یافته بود. این امر ناشی از اتصال کادمیوم و نقره به متالوتیونین و رها شدن مس می باشد. در چنین وضعیتی فعالیت سرولوپلاسمین در حضور کادمیوم شدیداً افزایش و بر عکس در حضور نقره به مقدار زیادی کاهش می یابد (۱۵)، که باز هم نشانگر تغییرات متفاوت سرولوپلاسمین نسبت به تغییرات مس در شرایط محیطی یکسان می باشد.

تغییر حرارت محیط نیز از عواملی است که می تواند بر میزان مس و سرولوپلاسمین اثرات متفاوتی داشته باشد. در آزمایشاتی که بر روی ۱۲ نفر مرد داوطلب که بمدت یک هفته در فاصله هر دوازده ساعت، سی دقیقه در حمام سونای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شده بودند انجام شد (۱۶)، نشان دادند که میانگین مقدار مس سرم آنها کاهش می یافت، در حالیکه مقدار سرولوپلاسمین بدون تغییر می ماند. در صدمات فیزیکی و

کلیه روشهای بکار رفته مانند روش اندازه گیری سرولوپلاسمین و مس یکسان باشند، نمی توان با استفاده از یک فرمول در دو جامعه مختلف با داشتن یک پارامتر، پارامتر دیگر را با تقریب ۹۵٪ به دست آورد. بنابراین در مجموع هنگامی می توان بجای سرولوپلاسمین مقدار مس را گذاشت که قبلاً ارتباط بین آنها مشخص شده باشد.

سپاسگزاری:

بر خود لازم می دانیم از همکاری های آقای دکتر نوروزیان در بخش شیمی دانشگاه شهید باهنر، از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی کرمان و از سازمان آب کرمان برای تسهیلات دستگاهی، از آقایان دکتر جانفریانی و دکتر یاسمی بخاطر مشارکت نمر بخش و از خانمها منشی زاده و رحیمی بخاطر همکاری صمیمانه شان تشکر نمائیم.

جراحی ها نیز سرولوپلاسمین و مس بصورت متفاوت تحت تأثیر قرار می گیرند، بطوریکه مقدار سرولوپلاسمین از نظر آماری بطور غیر معنی دار و مس بطور معنی داری کاهش داشت، ولی بقاصله سه روز میزان هر دو افزایش می یافت. در این زمان قدر مطلق افزایش سرولوپلاسمین بیشتر از مس بود که گمان می رود نتیجه سنتز سرولوپلاسمینی باشد که حاوی مقدار کمتری مس است (۱۲).

در مطالعه ای که متصوری (۳) در کرمان بر روی تعدادی از مراجعین به بخش اورژانس جراحی بیمارستان شماره یک جهت بررسی میزان مس و سرولوپلاسمین انجام داده است نیز نتیجه متفاوتی از آنچه در این مطالعه و رابطه ای که توسط ملک پور (۱) گزارش شده است بدست آمده است که یکی از دلایل آن اختلاف در روش مورد استفاده و دیگری نوع افراد تحت مطالعه می باشد. معادلات بدست آمده در این تحقیق نشان می دهند حتی زمانی که

Summary

Relationship Between Serum Copper & Ceruloplasmin Level and Its Dependence On Sample

A. Gholamhosseiniyan, PhD¹; M. Jalali, PhD²; and N. Salajegheh, Dr. Med. Tech³

1. Assistant Professor of Biochemistry, Afzalipour Medical School, Kerman University of Medical Sciences and Health Services, Kerman, Iran

2. Assistant Professor of Biochemistry, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

3. Doctor of Medical Technology

The correlation between the serum level of copper and ceruloplasmin was determined among sarcheshmeh copper workers and compared with Kerman blood bank donors samples. Serum copper was analyzed by atomic absorption spectrophotometry and ceruloplasmin was determined by a coloric enzymatic assay. The concentration of serum copper in the test group was 93 ± 20.4 mg/dl which was significantly lower than that of the control (99.2 ± 21.1 mg/dl). In contrast the serum level of ceruloplasmin in the test group was 20.4 ± 4.94 mg/dl which was significantly greater than that of the Control group (16.54 ± 3.16 mg/dl). There was a positive correlation between the copper & ceruloplasmin level as plotted for either test or the control group. The equation for regression lines were different, suggesting that extrapolation of one parameter (Either copper or ceruloplasmin) is possible only under special circumstances.

Journal of Kerman University of Medical Sciences 1994;1:161-165

Key Words: Serum Copper, Ceruloplasmin, Copper Workers

References

- ۱- ملک پور، اکبر: اصول بیوشیمی بالینی ویژه دانشجویان علوم آزمایشگاهی. مرکز نشر دانشگاهی ۱۳۶۶، ص ۴۸۷-۴۸۶.
- ۲- رضوانی پور، مظفر: بررسی غلظت سرمی مس در مردان شاغل در واحدهای مختلف مجتمع مس شهید باهنر کرمان. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۳، سال اول شماره ۲، ص ۸۷-۸۴.
- ۳- ایرج منصوری، عبدالرضا: اندازه گیری سروتولوپلاسمین و بررسی رابطه آن با غلظت کل مس در سرم خون انسان. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه شهید باهنر کرمان، بهمن ۱۳۷۰.
4. Barber EF, Cousins RJ: Induction of ceruloplasmin synthesis by Retinoic acid in rats. *J Nutr* 1987;117:1615-1622.
5. Blakley BR, Hamilton DL: Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and sheep. *Can J Comp Med* 1985;49:405-408.
6. Bossalis MG, McCall JT, et al: Serum copper and ceruloplasmin levels and urinary copper excretion internal injury. *Am J Clin Nutr* 1986;44:899-906.
7. Casaril M, Capra F, et al: Serum copper and ceruloplasmin in early and in advanced hepatocellular carcinoma. *Tumori* 1989; 75:498-502 (Abstract).
8. Chidambaram MV, Barnes G, et al: Inhibition of ceruloplasmin and other copper oxidases by thiomolybdate. *J Inorg Biochem* 1984;22:231-240.
9. Dabek JT, Hyvonen DM, et al: Evidence for increased non-ceruloplasmin copper in early stage human breast cancer serum. *Nutr Cancer* 1992;17:195-201.
10. Delves HT: Assessment of trace element status. *Clin Endocrinol Metab* 1985;14:725-60.
11. Ghalambor MA: Experimental biochemistry. Vol 2, Shiraz Pahlave university publication, 1971;pp169-173.
12. Hallbook T, Hedelin H: Changes in serum copper and serum ceruloplasmin concentration induced by surgical trauma. *Acta Chir Scand* 1980;146:371-373 (Abstract).
13. Mason EK: A conspectus of research on copper metabolism and requirement of man. *J Nutr* 1979;109:2066-2070.
14. Suci A, Chirulescu Z, et al: Study of serum ceruloplasmin and of the copper/zinc ratio in cardiovascular disease. *Med Interne* 1992; 30:193-200 (Abstract).
15. Sugawara N, Sugawara C: Comparative study of effect of acute administration of cadmium and silver on ceruloplasmin and metallothionein: Involvement of disposition of copper, iron and zinc. *Environ Res* 1984; 35:507-515.
16. Uhare M, Pakarinen A, et al: Serum iron copper, zinc ferritin and ceruloplasmin after intense heat exposure. *Eur J Appl Physiol* 1983;51:331-335.
17. Williams DM: Copper deficiency in humans. *Semin Hematol* 1983;20:118-120.
18. Wilson JD, Braunwald, et al: Harrison's principles of internal medicine. 12th ed. New york, Mc Graw Hill, 1991;pp444-445.