

اندازه‌گیری میزان سلیوم در سرم خون کودکان مبتلا به سرطان خون با روش فعال کردن نوترونی

محسن اسدی نژاد^۱، علی پذیرنده^۲، پروانه وثوق^۲
 دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه فیزیک پزشکی^۱
 دانشگاه تهران دانشکده علوم، گروه فیزیک^۲
 بیمارستان حضرت علی اصغر (ع)، بخش خون^۳
 سازمان انرژی اتمی ایران^۲

چکیده

سلیوم یکی از عناصر کم‌مقدار (trace) است. این عنصر جزء ضروری آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز می‌باشد که سلولها را از آسیب آکسیدشوندگی حفاظت می‌کند. نشان داده شده است که سلیوم دارای خواص ضد تکثیری، ضد التهابی، ضد ویروسی و بهبود ایمنی است. مقادیر سرمی سلیوم در ۳۰ کودک سالم و ۴۰ کودک مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد ALL (۲۰ نمونه L1، ۲۰ نمونه L2) قبل و بعد از شیمی درمانی، با روش فعالسازی نوترونی اندازه‌گیری شد. سن، جنس، طبقه FAB، شمارش ابتدایی گلبولهای سفید، B. U. N کراتینین و آنالیز ادرار اثر قابل توجهی بر مقدار سلیوم سرم نداشت. اختلاف قابل توجهی بین مقدار سلیوم سرم کودکان مبتلا به ALL قبل از شیمی درمانی و کودکان سالم نیز وجود نداشت. بلافاصله پس از مرحله اول شیمی درمانی در لوسمی حاد (induction)، مقدار سلیوم سرم کودکان بیمار بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت و به $15/48 \pm 80/14$ ng/ml رسید که با قبل از شیمی درمانی ($110/72 \pm 28/3$ ng/ml) سطح $P < 0/001$ اختلاف داشت.

می‌شوند [۱].

مقدمه

علت وقوع سرطان خون در انسان، با وجود تحقیقات زیاد و پیشینه قابل توجه، هنوز کاملاً تعیین نشده است. به احتمال زیاد تنها یک عامل مسئول، ایجاد این بیماری نیست بلکه مجموعی از عوامل متعدد ژنتیکی، محیطی و تغذیه‌ای ممکن است در بروز لوسمی نقش داشته باشند.

لوسمی^۱ یا سرطان خون، شایعترین بیماری بدخیم کودکان است. همه ساله تعداد زیادی از کودکان در سرتاسر جهان به این بیماری مبتلا می‌شوند که توجه و تلاش عده زیادی از پزشکان و پرستاران را بخود معطوف می‌دارند. در ایالات متحد آمریکا، بیش از ۲۰۰۰ مورد لوسمی در کودکان در هر سال به ثبت می‌رسد، یعنی تقریباً از هر ۱۰۰۰۰۰ کودک، چهار کودک مبتلا به این بیماری

۱ - Leukemia

۱۰ نمونه L2) و ۲۰ نمونه پس از مرحله اول شیمی درمانی در لوسمی حاد تهیه شد. همچنین از ۳۰ کودک سالم که از لحاظ عامل‌های مداخله‌گر مشابه شده بودند نیز نمونه‌های خونی تهیه شد. نمونه‌های خون گرفته شده در داخل لوله‌های سانتیفریژ، در دمای اتاق به مدت حداکثر سه ساعت نگهداری می‌شد تا لخته شوند. سپس سرم نمونه‌ها با دو بار سانتیفریژ کردن در ۳۵۰۰ دور در دقیقه و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه جدا می‌شد.

سرم جدا شده به کمک پیپت پاستور داخل شیشه کوچک دارویی (ویال‌های شیشه‌ای) ریخته شده و در دمای ۵- تا ۱۰- درجه سانتیگراد نگهداری می‌شد. در آخر سرمها در گرم نگهدارنده (انکوباتور) و در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده می‌شدند تا خشک شوند. نمونه‌های خشک شده سرم در هاون چینی کاملاً کوبیده و نرم می‌شدند تا همگن گردند. سپس از پودر حاصل به مقدار لازم داخل کپسول‌های پلی اتیلنی ریخته می‌شد و در کپسولها پس از بسته شدن، به کمک هویه برقی کاملاً مسدود می‌گردید.

نمونه‌های استاندارد خون حیوانی خشک شده، ماده مرجع تضمینی به شماره ۱۳ - A با غلظت $0.24 \mu\text{g/g}$ سلینیوم، از آژانس بین‌المللی انرژی اتمی و نمونه‌های کپسول خالی نیز تهیه شده‌اند.

مقدار سلینیوم نمونه‌ها به روش مقایسه‌ای فعالسازی نوترونی، با ۶ ساعت تاباندن نوترون با فلوی تقریبی $10^{12} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{s}$ و طی حدود یک ماه برای مرحله خشک شدن و کاهش آکتیویته عناصر مزاحمی که نیمه عمرهای کوتاه دارند، به وسیله طیف سنجی گاما اندازه‌گیری شد. طیف‌ها با استفاده از آشکارساز ژرمانیوم خالص (HPGe)، که مرتبط با یک کامپیوتر شخصی بود، به دست

نقش تغذیه در ایجاد، پیشرفت و درمان بسیاری از بیماری‌ها از دیرباز مطرح بوده است. ارتباط انواع مختلف مواد غذایی بویژه میوه‌ها، سبزیها، پروتئینها، ویتامینها و برخی از عناصر معدنی با بیماریهای مختلف در کتب و مجلات بسیاری به وضوح بیان شده است [۲].

سلینیوم یکی از عناصر معدنی است که اغلب از راه مواد غذایی وارد بدن می‌شود. این عنصر با شرکت در ترکیب چندین ماده مختلف، خواص مفید متعددی در موجودات زنده از خود نشان داده است. مهمترین این مواد، «آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز» است که سلینیوم، به عنوان قسمت فعال آنزیم، نقش مهمی را در عملکرد زیست‌شناختی (بیولوژیکی) آن ایفا می‌کند. یادآور می‌شود که سلینیوم نقش پاداکسیدکننده (آنتی‌اکسیدان) دارد. این آنزیم در تخریب H_2O_2 و هیدروپراکسیدهای آلی، مانند هیدروپراکسیدهای چربی و همچنین حذف رادیکالهای آزاد که می‌توانند اثرهای تخریبی بر غشاء سلول و مولکول DNA بگذارند، نقش حیاتی دارد و از این راه می‌تواند از تأثیر سرطان‌زاهای (کارسینوژنهای) مختلف بر سلولها و توسعه و پیشرفت انواع سرطان جلوگیری نماید [۳].

J. Ringstad, et al. در یک بررسی روی مبتلایان به انواع سرطان، مشاهده کردند که میزان سلینیوم سرم در بیماران مبتلا به لوسمی بطور قابل توجهی کمتر از گروه کنترل است [۴]. تحقیق Salonen و همکارانش نیز مؤید این مطلب بود [۵] در حالیکه گروه M.S. Bratakos چنین چیزی را ثبت نکردند [۶].

مواد و روشها

از ۲۰ کودک مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد، ۲۰ نمونه خون قبل از شیمی درمانی (۱۰ نمونه L1 و

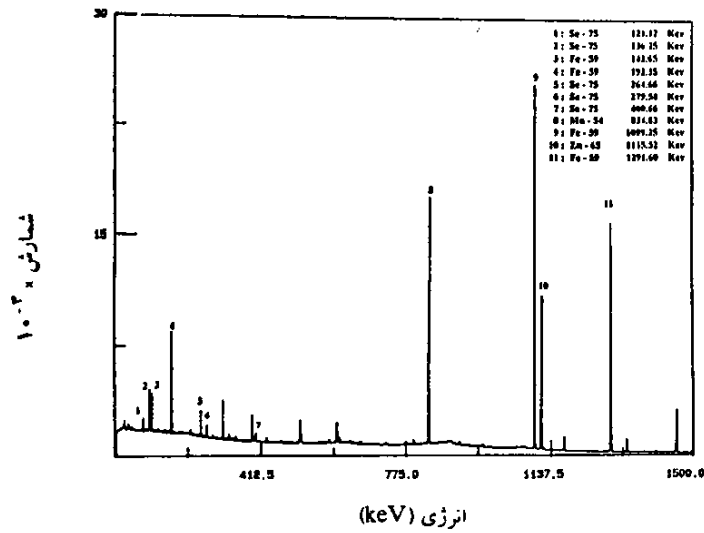
می‌گردد. به همین جهت از ^{75}Se که نیمه عمر طولانی دارد استفاده شده است. شکل ۱، طیف انرژی نمونه استاندارد و شکل ۲، نمونه‌ای از طیف انرژی گامای سرم خون آکتیو شده کودک مبتلا به سرطان خون از نوع ALL را قبل از شیمی درمانی و شکل ۳ طیف انرژی گامای سرم خون آکتیو شده کودک مبتلا به سرطان خون ALL را پس از شیمی درمانی در حالت بهبودی کامل در مغز استخوان (Complete Remission) را نشان می‌دهند.

آمدند. آنالیز طیف‌ها به کمک برنامه کامپیوتری انجام گرفت. رادیوایزوتوپ مورد بررسی ^{75}Se بود که از انرژی ۲۶۴/۶۶ Kev آن برای اندازه‌گیری مقدار سلیوم استفاده شد. جدول ۱ مشخصات ایزوتوپهای سلیوم را بدست می‌دهد. سلیوم طبیعی، طبق این جدول، دارای ۶ ایزوتوپ است. برای اندازه‌گیری سلیوم ممکن است از ایزوتوپهای ^{74}Se ، ^{76}Se ، ^{78}Se ، ^{80}Se ، ^{82}Se نیز استفاده کرد لکن بجز ^{75}Se ، بقیه ایزوتوپهای تولیدی دارای نیمه عمر کوتاه هستند و شمارش زمینه دستگاه سنجش مانع اندازه‌گیری دقیق سلیوم

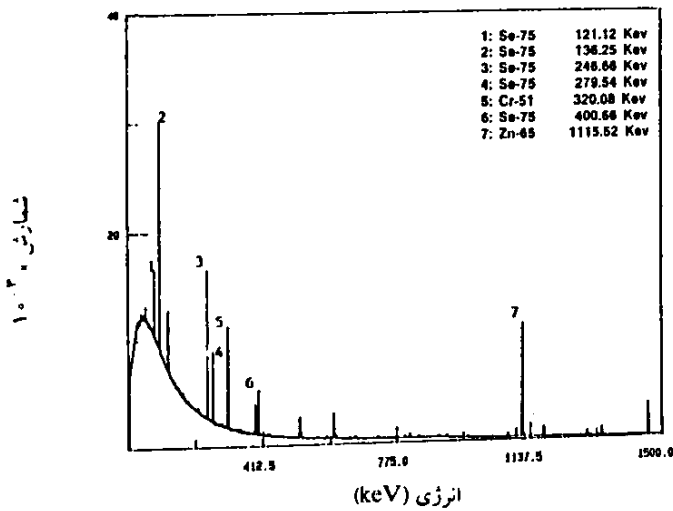
جدول ۱ مشخصات ایزوتوپهای سلیوم طبیعی و رادیوآکتیو

ایزوتوپهای طبیعی	فراوانی درصد	سطح مقطع جذب (بارن)	ایزوتوپهای تولیدی	نیمه عمر	انرژی گاما (Kev) و درصد نسبت شاخه
^{74}Se	۰/۹	۵۱/۸	^{75}Se	۱۲۰d	۱۲۱/۱۲ (۱۶/۴۱)، ۱۳۶/۰ (۵۶/۰۲)، ۲۶۴/۶۵ (۵۸/۶)، ۳۷۹/۵۳ (۲۴/۷۳)، ۳۰۳/۹۲ (۱/۲۹)، ۴۰۰/۶۵ (۱۱/۱۳)
^{78}Se	۲۳/۵	۰/۰۳۳	^{79}Se	۳/۹m	۱۶۰ فقط ذره بتا تابش می‌کند
^{80}Se	۴۹/۶	۰/۰۸	^{81}Se	۵۷/۳m	۸۳۰ (۰/۲)، ۵۶۰ (۰/۳)، ۲۸۰ (۰/۹)
			^{81m}Se	۱۶m	۱۰۳ (۸)، پرتو x
^{82}Se	۹/۴	۰/۰۳۹	^{83}Se	۶۹s	۲۲۰ (۴۴)، ۳۶۰ (۶۹)، ۵۲۰ (۵۹)، ۷۱۰ (۲۵)، ۱۰۶۰ (۱۶)، ۱۳۱۰ (۲۵)
-	-	۰/۰۰۶	^{83m}Se	۲۴/۴m	۳۵۰ (۱۶)، ۶۵۰ (۲۰)

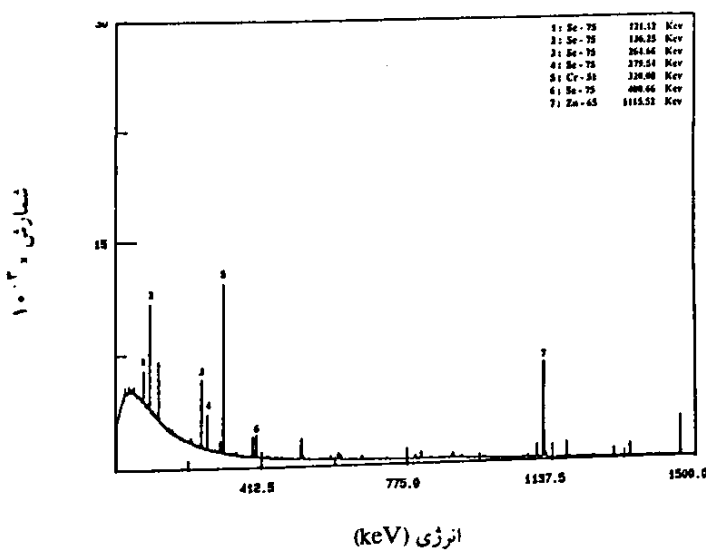
محسن اسدی نژاد و همکاران، اندازه گیری میزان سلنیوم در سرم خون کودکان مبتلا به سرطان خون با روش همال کردن نوترونی



شکل ۱- طیف انرژی گامای نمونه استاندارد خون حیوانی خشک شده



شکل ۲- طیف انرژی گامای سرم خون آکتیو شده کودک مبتلا به سرطان خونی از نوع ALL قبل از شیمی درمانی



شکل ۲- طیف انرژی گامای سرم خون آکتیو شده کودک مبتلا به سرطان خونی ALL پس از شیمی درمانی در حالت CR

نتایج

بود. بطور کلی در کودکان مبتلا به ALL میزان سلینیوم سرم، قبل و بعد از درمان به ترتیب $28/3 \pm 110/72$ ng/ml. (n=20) و $15/48 \pm 80/14$ ng/ml. (n=20) بود که در سطح $P < 0/001$ این اختلاف معنی دار است (شکل ۵).

قبل از شروع شیمی درمانی، مقدار سلینیوم سرم در گروههای L1، L2 و بطور کلی ALL با مقدار این عنصر در سرم کودکان طبیعی، تفاوت قابل توجهی نداشت (شکل ۶). هنگامی که این کودکان مرحله اول شیمی درمانی را پشت سر می گذاشتند و در فاز بهبود کامل مغز استخوان (C.R) قرار می گرفتند میزان این عنصر در سرم خونشان کاهشی را نشان می داد بطوریکه میزان این عنصر در سرم گروههای یاد شده (و سطح قابل توجه بودن اختلاف آنها با کودکان سالم) به ترتیب:

$$14/47 \pm 80/39 \text{ ng/ml. (} P < 0/001 \text{)}$$

$$21/83 \pm 80/75 \text{ ng/ml. (} P < 0/03 \text{)}$$

$$15/48 \pm 80/14 \text{ ng/ml. (} P < 0/001 \text{)}$$

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش معلوم شد که اختلاف مقدار سلینیوم سرم خون پسران و دختران در کودکان سالم معنی دار نیست. در همه گروههای کودکان بیمار نیز، قبل از شروع شیمی درمانی و پس از رسیدن به حالت C.R اختلاف مقدار این عنصر در سرم خون پسران و دختران قابل توجه نیست. نتایج کارهای J. Ringstad et al. [۴]، Salonen et al. [۵] و M.S. Bratakos et al. [۶] نیز این مطلب را تأیید

در کودکان سالم، مقدار سلینیوم سرم خون $19/25 \pm 102/38$ ng/ml. اندازه گیری شد. جدول ۲ مقدار سلینیوم سرم خون افراد سالم را در تعدادی از کشورها نشان می دهد. در شکل ۴ خط مستقیم عبوری از نقاط اندازه گیری شده سلینیوم خون کودکان سالم بر حسب سن را نشان می دهد که با وجود افزایش ملایم در مقدار این عنصر با افزایش سن، این تغییر معنی دار نیست و همچنین هیچگونه اختلاف معنی داری در مقدار این عنصر در سرم خون پسران و دختران مشاهده نشد.

در کودکان مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد، هیچگونه همبستگی جالب توجهی بین مقدار سلینیوم سرم خون با B. U. N*، کراتینین، شمارش ابتدایی گلبولهای سفید و تجزیه ادرار دیده نشد. در گروههای L1، L2 و بطور کلی ALL نیز مشابه کودکان سالم، هم قبل از شیمی درمانی و هم پس از مرحله اول شیمی درمانی در لوسمی حاد، اختلاف قابل توجهی بین پسران و دختران از لحاظ میزان این عنصر در سرم دیده نشد. همچنین اختلافی بین گروههای L1 و L2 چه قبل از شیمی درمانی و چه پس از مرحله اول شیمی درمانی از این نظر مشاهده نگردید. در حالیکه اختلاف معنی دار در این عامل در هر دو گروه قبل و بعد از درمان مشاهده شد، بطوریکه میزان سلینیوم سرم در گروه L1 قبل و بعد از درمان به ترتیب

$$21/48 \pm 18/45 \text{ ng/ml. و } 76/22 \pm 8/76 \text{ ng/ml.}$$

$$(P < 0/001)$$

و در گروه L2 به ترتیب

$$31/12 \pm 103/00 \text{ ng/ml. و } 84/06 \pm 19/89 \text{ ng/ml.}$$

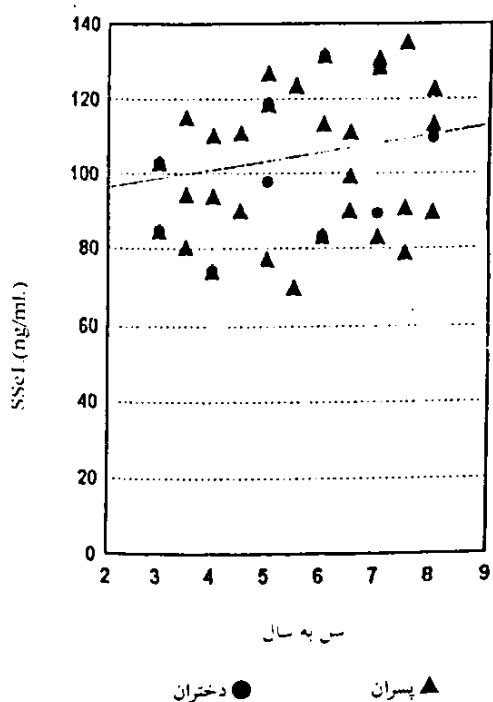
$$(P = 0/005)$$

* - Blood Urea Nitrogen

جاول ۲- میزان سلنیوم سرم خون افراد سالم در گزارشهای مختلف

SSeL ^۳ ng/ml	تعداد نمونه	سال تحقیق	محل تحقیق
۱۰۳	Ref.Man ^{**}	۱۹۷۵	-
۵۴/۳	۵۰	۱۹۸۴	فنلاند
۱۱۵±۳۰	۹۰	۱۹۸۵	کانادا
۹۷±۴	۹۸۷	۱۹۸۷	بلژیک
۵۵/۳±۰/۵	-	۱۹۸۷	فنلاند
۱۲۶/۴±۳/۱	۱۶۴	۱۹۸۷	هلند
۸۲/۹۱±۲۴/۵	۷۱	۱۹۸۸	فرانسه
۱۱۴-۱۷۷	-	۱۹۸۸	جنوب آفریقا
۱۰۸/۲±۴/۵	۱۶	۱۹۸۸	فلسطین اشغالی
۹۷±۳۵	۱۰۰	۱۹۸۹	بلژیک
۶۲/۵ مردان	۲۱۹۲	۱۹۹۰	فنلاند
۶۳/۹ زنان			
۱۰۲±۲۸ (سال ۶۰ تا ۲۰)	۶۰	۱۳۷۰	ایران
۹۹/۲±۳۴ (کودکان)	۱۰		

* Serum Selenium Level ** Reference Man



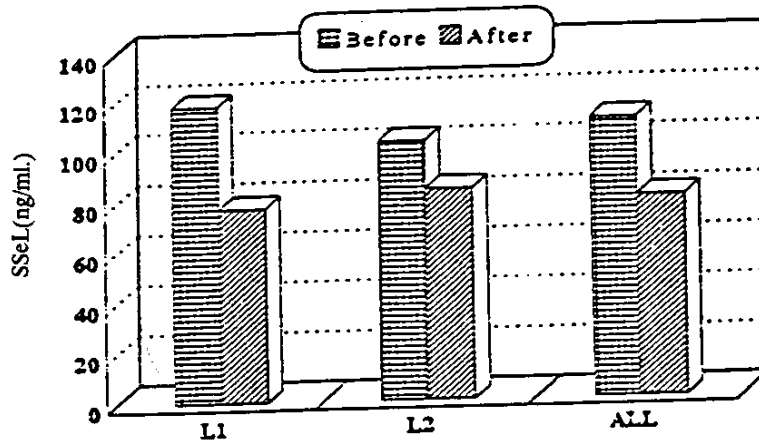
شکل ۴- ارتباط بین میزان سلنیوم سرم خون سن کودک سالم

می‌کنند. لازم به ذکر است که بجز گروه کودکان سالم، در سایر گروهها، میزان سلنیوم سرم خون پسران اندکی کمتر از دختران است. هر چند همانطور که گفته شد این اختلاف معنی‌دار نیست اما با توجه به اینکه در کودکان سالم، سلنیوم سرم خون دختران اندکی بیشتر از پسران است و همچنین با در نظر گرفتن اینکه مطالعات زیادی بیان می‌دارند که تنها در گروه جنس مذکر میزان سلنیوم سرم خون بیماران کمتر از انسانهای سالم است [۷] لزوم توجه بیشتر به این نکته آشکار می‌گردد.

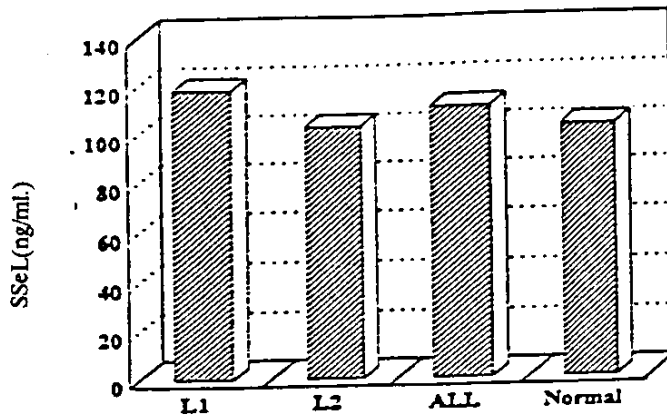
عدم مشاهده تفاوت قابل توجه در مقدار سلنیوم سرم بین کودکان سالم و کودکان مبتلا به ALL قبل از شیمی‌درمانی با گزارش Bratakos et al. [۶] مطابقت دارد و احتمالاً نشان‌دهنده عدم دخالت دادن این عنصر در علت‌شناسی امراض (اتیولوژی) است در حالیکه کاهش معنی‌دار این عنصر در سرم کودکان مبتلا به ALL پس از رسیدن به بهبودی کامل در مغز استخوان (C.R) احتمالاً نشان‌دهنده تاثیر داروهای شیمی‌درمانی است.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی در بخش فیزیک نوترون، مرکز تحقیقات هسته‌ای سازمان انرژی اتمی ایران انجام گرفته است. بر خود لازم می‌دانیم تا از همکاریهای سرپرست بخش فیزیک نوترون و دیگر اعضای بخش از جمله آقای حسین قدس سپاسگزاری نمائیم.

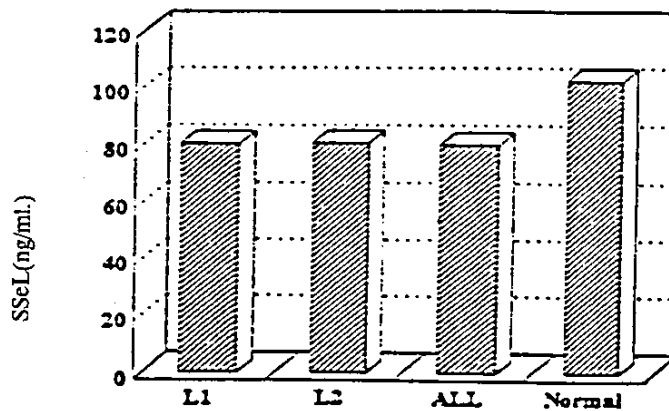


شکل ۵- میزان سسلیوم سرم خون در انواع ALL قبل و بعد از شیمی درمانی



شکل ۶- مقایسه میزان سسلیوم سرم خون کودکان طبیعی با کودکان مبتلا

به انواع لوسمی حاد قبل از شیمی درمانی



شکل ۷- مقایسه میزان سسلیوم سرم خون کودکان طبیعی با کودکان مبتلا

به انواع لوسمی حاد در فاز CR

References

1. P.A. Pizzo, D.G. Poplack; (1993), Principles and practice of PEDLATRIC ONCOLOGY; 2nd. J.B. Edition, Lippincott Company, Philadelphia.
2. M.E.Shils, J.A. LOlson, M. Shike; (1994), Modern Nutrition in Health and Disease; 8th. Edition, Lea & Febiger.
3. G. Hocman ; (1988), Chemoprevention of cancer: Selenium; Int. J. Biochem., 20(2): 123-32.
4. J. Ringstad, et al.; (1988), Serum selenium concentration associated with risk of cancer; J. Clin. Pathol, 41(4): 456-7.
5. J.T. Salonen, et al.; (1984), Association between serum selenium and the risk of cancer; Am. J. Epidemiol, 120(3): 342-9.
6. M.S. Bratakos, T.P. Vouterakos, P.V. Ioannov; (1990), Selenium status of cancer patients in Greece; Sci. Total Environ, 92:207-22.
7. F.J. Kok, et al.; (1987), Is serum selenium a risk factor for cancer in men only?; Am. J. Epidemiol, 125(1): 12-16.

DETERMINATION OF SELENIUM IN BLOOD SERUM OF CHILDREN WITH LEUKEMIA USING NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

M. Asadinejad¹, A. Pazirandeh², P. Vosough³

Tarbiat Modarress University, Faculty of Medicine, Medical physics Department¹

Physics Department, Faculty of Science, University of Tehran²

Ali Asghar Hospital³

Atomic Energy Organization of Iran²

Abstract

Selenium is a trace element and an essential part of the enzyme glutathione peroxidase, which protects cells from oxidative damage. Selenium has been shown to have antiproliferative, anti-inflammatory, antiviral, and immune altering effects. Serum selenium levels were measured by neutron activation analysis in two groups of children. These groups were healthy children (n=30) and children with Acute Lymphoblastic Leukemia, A.L.L (L1,n=20; L2,n=20) before and after induction chemotherapy. Age, sex, FAB, initial W.B.C, B.U.N, creatinine and urinary analysis did not influence significantly the amount of selenium in serum. Serum selenium concentration of A.L.L children before chemotherapy showed no significant differences as compared with that of normal individuals. Immediately after induction chemotherapy, serum selenium levels in A.L.L children decreased significantly (80.14 ± 15.48 ng/ml. vs. 110.72 ± 28.3 ng/ml., $P < 0.001$).