

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز  
شماره ۶۲ (تابستان ۱۳۸۳)، صفحات ۸۴-۸۱

## رابطه بین فشار اسمزی کلوییدی با غلظت پروتئین و جذب نوری ماوراء بنفش

دکتر مهدی نعمت بخش: استاد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان: نویسنده رابط  
دکتر مجید خزاعی: دستیار فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
علی مرادی: کارشناس ارشد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

### چکیده

**زمینه و اهداف:** تعیین فشار اسمزی کلوییدی (COP) در بررسی تبادل مایعات بدن از نظر بالینی حایز اهمیت است. ارتباط بین فشار اسمزی کلوییدی و غلظت پروتئین تام (TP)، اگر نسبت آلبومین به گلوبولین (A/G) ثابت باشد، آرایه شده اما بدیهی است که تغییرات A/G بر روی COP اثر می گذارد. از طرف دیگر، تغییرات A/G موجب تغییر در جذب نوری پروتئین ها (Abs) می شود. لذا هدف از این مطالعه، به دست آوردن فشار اسمزی کلوییدی با استفاده از پروتئین تام و جذب نوری پروتئین ها بود تا در شرایط متفاوت A/G کاربرد بالینی داشته باشد.

**روش بررسی:** ۳۰۰ میلی لیتر سرم انسانی مورد بررسی قرار گرفت. با اضافه کردن پروتئین، سرم‌هایی با غلظت های بین ۸-۱۱ گرم در دسی لیتر با A/G های متفاوت تهیه شد. هر یک از سرم های تهیه شده با A/G خاص، در غلظت های متفاوت رقیق شد و برای هر نمونه رقیق TP، COP و Abs اندازه گیری شد و رابطه‌ای بین COP با TP و Abs به دست آمد. سپس به منظور اعتبار بخشیدن به این رابطه از نظر بالینی ۵۰ نمونه سرم بیمارستان در بیمارستان در ۳ گروه «پروتئین کمتر از ۵ گرم در دسی لیتر»، «بین ۵ و ۶ گرم در دسی لیتر» و «بیشتر از ۶ گرم در دسی لیتر»، تحت اندازه‌گیری TP و Abs قرار گرفت و COP آنها براساس رابطه فوق محاسبه و مستقیماً توسط دستگاه کلویید اسمومتر اندازه‌گیری شد. عدم تفاوت معنی دار بین COP محاسبه شده و اندازه‌گیری شده، به عنوان وجود اعتبار بالینی رابطه تلقی شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که تساوی زیر می تواند بهترین رابطه بین پارامترهای فوق در مطالعات آزمایشگاهی را بیان کند :

$$COP = 1/8 \times TP \times Abs + 0.5 \quad (r^2 = 0.92)$$

**بحث و نتیجه‌گیری:** از آنجا که در بعضی اختلالات بالینی نسبت A/G بسته به شرایط طبیعی تغییر می کند و جذب نوری ماوراء بنفش ممکن است با تغییر A/G متفاوت باشد و یا توجه به کاربرد بسیار آسان تر Abs نسبت به محاسبه نسبت A/G، این روش برای محاسبه COP در موارد عدم دسترسی به اندازه‌گیری مستقیم می تواند روشی آسان یاب باشد.

**کلید واژه ها:** فشار اسمزی کلوییدی، غلظت پروتئین، جذب نوری UV

### مقدمه

اسمز پدیده مهمی در روندهای فیزیولوژیک تبادل مایعات بدن است که به جریان مایع از یک غشا نیمه تراوا اطلاق می شود. مایعات بدن دارای مقدار کمی ذرات با وزن مولکولی بالا (۳۰۰۰۰ MW >) هستند که به طور عمده از پروتئین‌ها تشکیل شده اند. به دلیل نفوذپذیری محدود مویرگها به این ترکیبات کلوییدی و وجود گرادیان غلظتی در دو طرف رگ، فشار اسمزی خاصی به واسطه وجود پروتئین ها ایجاد خواهد شد که به آن «فشار انکوتیک یا فشار اسمزی کلوییدی» می گویند. در ۱۸۹۶ «استارلینگ» نشان داد که COP عامل مهمی در تنظیم حرکت مایع در کمپارتمان های مختلف بدن است (۱، ۲ و ۳). پس از گذشت ۷۰ سال از فرضیه استارلینگ، «هانسن» و به دنبال آن، «پارتر» و همکارانش توانستند با استفاده از شیوه‌هایی COP را اندازه گیری کنند (۱). اندازه گیری COP تا ۱۹۷۴ چندان مورد توجه قرار نگرفت، تا این که «ویل» و همکاران روش جدیدی برای اندازه‌گیری COP ابداع کردند و از آن موقع بود که استفاده از اندازه گیری COP در مراکز فوریت های پزشکی متداول شد (۱).

اسمز جدا شده اند و COP ناشی از پروتئین ها می تواند عامل تعیین کننده جهت حرکت مایعات در این کمپارتمان ها باشد (۴). حدود ۸۰-۷۰٪ فشار اسمزی کلوییدی ناشی از وجود پروتئین آلبومین است (۴، ۶ و ۷) و گلوبولین ها کمتر از ۳۰-۲۰٪ کل COP را تشکیل می دهند (۸). تحقیقات مختلف نشان می دهد که این فشار، تحت شرایط فیزیولوژیک، رابطه مستقیم با غلظت پروتئین تام و آلبومین دارد (۴). به عبارت دیگر، می توان COP را با هر یک از عوامل فوق محاسبه کرد، به طوری که «لندیس» و «پاین هایمر» در ۱۹۶۳ رابطه زیر را برای محاسبه COP با استفاده از TP به دست آوردند (۴ و ۵):

$$COP = 2/1 \times TP + 0.16 \times TP^2 + 0.009TP^3 \quad [1]$$

رابطه فوق کمک کرد تا در شرایط خاصی که اندازه‌گیری COP ضرورت داشت و درعین حال مستقیماً قابل اندازه گیری نبود، بتوان آن را از روی غلظت TP محاسبه کرد (۹). فرمول فوق زمانی قابل اعتماد است که نسبت A/G طبیعی باشد (۵). تحقیقات متعدد نشان داد که در بیماران بالغی که دچار بیماری حاد و شدیدی باشند، رابطه ضعیفی بین COP و TP وجود دارد. لذا توصیه به اندازه‌گیری مستقیم COP به عنوان یک راه مطمئن تر و دقیق تر کردند (۱، ۴، ۵، ۹ و ۱۰). همچنین تحقیقی نشان داد که در زنان ترم تحت سزارین و

COP به دو عامل بستگی دارد: اختلاف غلظت مواد در دو طرف غشا نیمه تراوا و خصوصیات نفوذپذیری غشا (۴ و ۵). کمپارتمان های مختلف بدن انسان توسط غشاهای نیمه تراوا از

رابطه بین COP با TP و Abs بود تا در مراکز که دسترسی به اندازه‌گیری مستقیم COP ممکن نیست، بتوان آن را محاسبه کرد.

### مواد و روش‌ها

ابتدا ۳۰۰ میلی لیتر سرم انسانی از بانک خون تهیه و میزان آلومین و TP آنها توسط روشهای Standard و Bromcresol Green و Biuret با استفاده از کیت «پارس آزمون» اندازه‌گیری شد. سپس ۱۴ نمونه سرمی با نسبت های A/G مختلف از ۰/۳۹ تا ۳/۳۹ و با غلظت TP تقریبی ۱۰g/dl تهیه شد. این کار با اضافه کردن سالیین ایزوتونیک یا آلومین انسانی ۲۰٪ «ساخت مؤسسه سرم و واکسن سازی سوئیس» یا گاما-گلوبولین ۱۶/۵ درصد (KGCC) ساخت شرکت «گرین کراس» کره انجام گرفت. از سرم استاندارد برای بررسی مجدد غلظت آلومین و TP استفاده شد. سپس با اضافه کردن مرحله به مرحله سالیین ایزوتونیک به هر یک از نمونه‌های موجود، مجدداً ۱۰ نمونه محلول در غلظت های حدود ۱:۱۰ تا ۱۰:۱۰ TP اما نسبت A/G ثابت تهیه شد. سپس هر یک از نمونه های تهیه شده فوق تحت اندازه‌گیری COP با دستگاه کلویید اسمومتر (Knauer) ساخت آلمان و جذب نوری در طول موج ۲۸۰ نانومتر (۱۸) توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری قرار گرفت. با استفاده از نرم افزار SPSS و با روش سعی و خطا رابطه سه بعدی بین COP با TP و Abs به دست آمد. معیار بهترین رابطه، ضریب همبستگی نزدیک به یک و معنی دار بودن ضرایب معادل و در عین حال ساده بودن معادله جهت استفاده بالینی بود. سپس به منظور اعتبار بخشیدن بالینی به رابطه فوق، چند نمونه سرم از بیماران بستری شده در بخشهای مختلف بیمارستان تهیه شد، به نحوی که پس از اندازه‌گیری TP به سه گروه تقسیم شدند: بیماران دارای پروتئین کمتر از ۵ گرم در دسی لیتر، بیماران دارای پروتئین بین ۵ و ۶ گرم در دسی لیتر و گروه سوم بیمارانی که پروتئین بیشتر یا مساوی ۶ گرم در دسی لیتر داشتند. با توجه به پیش مطالعه انجام شده تعداد نمونه محاسبه شده مورد نیاز در گروههای اول تا سوم به ترتیب ۱۰، ۵ و ۱۴ به دست آمد. به منظور دقیق تر شدن مطالعه، تعداد نمونه هایی که از بیماران بستری در بیمارستان در سه گروه تهیه شده بود، به ترتیب ۱۶، ۲۰ و ۱۴ نمونه بود.

COP در کلیه ۵۰ فرد مورد مطالعه، علاوه بر اندازه‌گیری TP و Abs، توسط دستگاه کلویید اسمومتر اندازه‌گیری و با استفاده از معادله محاسبه شد. عدم تفاوت معنی دار به دست آمده در  $(p > 0.05)$  بین COP محاسبه شده و اندازه‌گیری شده به عنوان وجود اعتبار بالینی رابطه تلقی گردید. جهت مقایسه داده ها از آزمون «مان-ویتنی» استفاده شد.

نوزادان سر موعد بیمار، رابطه ضعیفی بین COP و TP وجود دارد (۵). اگرچه رابطه فوق برای تخمین COP با استفاده از TP به کار می رود، ممکن است غلظت آلومین تحت شرایط بالینی خاصی به زیر ۳ گرم در دسی لیتر برسد و از اهمیت مولکول آلومین در تعیین COP بکاهد (۴). لذا در هر شرایطی که غلظت پروتئین‌های پلاسما به میزان زیادی تغییر کند یا نسبت A/G تغییر زیادی داشته باشد، روی COP اثر بارزی خواهد داشت، و در نتیجه، بر تعادل مایعات بدن نیز اثر خواهد گذاشت. مثالهای بالینی آن عبارتند از انتروپاتی های دفع کننده پروتئین، سندرم های سوء جذب، بیماریهای کبدی، سندرم زجر تنفسی و سوختگی (۵). به همین جهت تحقیقی انجام شد تا رابطه بین COP و TP در نسبت های مختلف A/G مشخص شود (۱۱).

امروزه از اندازه‌گیری COP به عنوان عاملی برای پیشگیری از ایجاد ادم ریوی، تعیین میزان مرگ و میر و بقای بیمار استفاده می‌شود (۳، ۵، ۱۴ و ۱۵). همچنین از COP به عنوان راهنمای انتخاب نوع مایع در مایع درمانی (کریستالوئیدی یا کلوییدی) بیماران دچار ضربه استفاده شده است (۴ و ۵). از اندازه‌گیری COP در پیش بینی و پیشگیری از ایجاد ادم در بیماران دچار ضربه و شوک استفاده کرده‌اند (۵ و ۷). علاوه بر این، اهمیت اندازه‌گیری COP در بیماران دچار نارسایی قلبی-ریوی نیز بررسی شده است، به طوری که کاهش COP شریان ریوی به عنوان عامل افزایش خطر زای ادم ریوی مطرح شده است و زمانی که COP کاهش بیشتری یابد، پیش‌آگهی بیماری بدتر خواهد شد (۵).

تحقیقات دیگر نشان می‌دهند که اندازه‌گیری COP در بیماران دچار هیپرتانسیون ناشی از حاملگی<sup>۱</sup> در پیشگیری از ادم ریوی مفید است، به طوری که می‌توان از اندازه‌گیری سریال COP همراه با پیش فشار شریان ریوی به عنوان راهنمای خوبی برای مایع درمانی در این بیماران استفاده کرد (۸ و ۱۶). علاوه بر این، در سالهای اخیر کنترل هموستاز آب در نوزادان تازه متولد شده و شیرخواران نارس نیز اهمیت خاصی پیدا کرده و رابطه بین COP و میزان بقا در نوزادان نیز بررسی شده است (۵ و ۱۷).

تغییر در نسبت A/G در غلظت ثابت پروتئین ها می‌تواند به وضوح موجب تغییر در میزان جذب نوری پروتئین ها شود، زیرا مطابق فرمول  $A = \epsilon LC$  میزان جذب نوری با  $\epsilon$  یا ضریب خاموشی پروتئین<sup>۲</sup> رابطه مستقیم دارد و چون این ضریب برای پروتئین های مختلف پلاسما متفاوت است، تغییر نسبت A/G می‌تواند موجب تغییر در میزان جذب نوری شود (۱۸). لذا با توجه به نقش A/G در تغییر جذب نوری و نظر به این که استفاده از فرمول «لندیس» و «پاپین هایمر» (رابطه ۱) و محاسبه COP با استفاده از TP در بیماران بدحال مراجعه‌کننده به مرکز فوریت‌های پزشکی با COP اندازه‌گیری شده توسط دستگاه تفاوت بارزی دارد، هدف این مطالعه تعیین

جدول ۱: مقایسه COP محاسبه شده با استفاده از فرمول به دست آمده و اندازه‌گیری شده با دستگاه کلویید اسمومتر

غلظت پروتئین (TP)	تعداد نمونه	COP محاسبه شده	COP اندازه‌گیری شده	P
TP < ۵	۱۶	۱۲/۸۹ ± ۱/۵۵۴	۱۲/۵۷ ± ۲/۴۴	۰/۱
۶ > TP ≥ ۵	۲۰	۱۷/۲۳ ± ۱/۱۶۶	۱۷/۸۰ ± ۱/۶۵	۰/۳۱۳
TP ≥ ۱	۱۴	۲۴/۰۱ ± ۲/۵۱۰	۲۳ ± ۲/۵۰	۰/۲۴۵
تعداد کل	۵۰	± ۴/۶۸۲ ۱۷/۷۹	۱۷/۹۰ ± ۴/۲۵	۰/۴۹

1. PIH
2. Extinction Coefficient

## یافته ها

از پروتئین هایی مثل آلبومین و گلوبولین اولاً جذب نوری متفاوت ، به دلیل تفاوت در ضریب خاموشی، ایجاد می شود (۱۸). در نتیجه، جذب نوری آلبومین نصف گلوبولین خواهد بود و ثانیاً آلبومین به دلیل وزن مولکولی کمتر فشار اسمزی کلوییدی بیشتری را ایجاد خواهد کرد (۶۳). در این صورت نمی توان غلظت کل پروتئین های بدن را به عنوان شاخص کلی و بدون تفکیک نوع پروتئین در محاسبه COP مدنظر قرار داد (۴ و ۵)؛ به عنوان مثال، در رابطه «پاین هایمر» ترکیبات پروتئینی متفاوت با غلظت مساوی، COP یکسان دارند که در واقع چنین نیست. لذا رابطه هایی نظیر رابطه «پاین هایمر» صرفاً در مواقعی کاربرد پایه و بالینی دارد که نسبت A/G طبیعی و ثابت باشد.

واضح است که در این میان باید پارامتری دخالت کند تا تغییرات A/G در محاسبه COP لحاظ شود. جذب نوری پروتئین ها به دلیل وجود رابطه مستقیم با غلظت هر پروتئین (۱۸) پارامتر بسیار مناسبی است. لذا در رابطه [۲] هم غلظت پروتئین لحاظ می شود و هم جذب نوری که بیانگر تغییرات A/G است، وجود دارد و حاصل ضرب این دو پارامتر می تواند خلأ نبودن A/G را در رابطه هایی که برای محاسبه COP استفاده می شود، پر کند. لذا به طور خلاصه می توان گفت که اولاً دستگاه اندازه گیری مستقیم COP در تمام مراکز فوریت های پزشکی در دسترس نیست. ثانیاً با توجه به نتایج تحقیقات متعدد انجام شده (۱، ۴، ۵، ۹ و ۱۰)، رابطه «پاین هایمر» در موارد اضطرابی مثل ضربات، سوختگی ها و ... به دلیل ثابت نبودن نسبت A/G اعتبار کمی دارد و ثالثاً اگرچه محاسبه COP با استفاده از TP در نسبت های مختلف A/G می تواند روش دقیقی باشد، در بالین بیمار روش آسانی محسوب نمی شود. مزیت محاسبه COP با استفاده از رابطه [۲] ساده تر و کاربردی تر بودن آن در مراکز فوریت های پزشکی است، به طوری که پزشکان و پرستاران به راحتی می توانند با محاسبه آن از بروز عوارض مختلف پیشگیری کنند.

نتایج نشان داد که رابطه زیر می تواند نحوه ارتباط بین COP , TP , Abs را در مطالعات آزمایشگاهی به نحو احسن بیان کند:  
$$COP = 1/8 \times TP \times Abs + 0/5 \quad (r^2 = 0/92) \quad [2]$$

هر دو ضریب ثابت خط رگرسیون معنی دار بود ( $p < 0/05$ ).  
در جدول ۱ تعداد نمونه بررسی شده و COP های محاسبه و اندازه گیری شده را می بینید.

## بحث

هدف از این مطالعه، محاسبه COP با استفاده از TP و Abs بود. نتایج نشان داد که می توان COP را از رابطه [۲] محاسبه کرد. در تحقیقات متعدد قبلی نیز راههایی برای محاسبه COP در مواقعی که دسترسی به دستگاه اندازه گیری مستقیم آن نباشد، پیشنهاد شده بود (۹ و ۱۱). افزون بر این، روز به روز بر اهمیت اندازه گیری COP به خصوص در مراکز فوریت های پزشکی به عنوان معیار ارزشمندی جهت پیشگیری از وقوع بعضی عوارض افزوده می شود. از جمله راههای محاسبه COP استفاده از رابطه «لندیس» و «پاین هایمر» است (۹). هر چند این رابطه در برگیرنده اثر «ونت هوف» اثر «دونان» و نیز تداخل فعالیت بین پروتئین ها بود (۵)، اما خلأ این رابطه در نظر نگرفتن نسبت ترکیب پروتئین ها در پلاسما یا همان نسبت A/G است. در نظر نگرفتن این پارامتر در محاسبه COP از طریق رابطه فوق محدودیت هایی را برای استفاده آن به خصوص در بیمارانی که به نحوی دچار اختلالات پروتئینی هستند (بیماران کلیوی و سوختگی و ...) به وجود می آورد. آلبومین به عنوان پروتئینی که بیشترین غلظت را در پلاسما دارد، در طول موج ۲۸۰ نانومتر دارای ضریب خاموشی برابر با ۶۲۰ میلی لیتر بر گرم سانتیمتر است که این مقدار کمتر از نصف ضریب خاموشی برای دیگر پروتئین های بدن مثل گلوبولین و فیبرینوژن است (۱۹). از طرف دیگر، وزن مولکولی آلبومین تقریباً کمتر از نصف وزن مولکولی دیگر پروتئین ها است. حال در غلظت مساوی

## References

1. Sola A, Gregory GA. Colloid osmotic pressure of normal newborns and premature infants. Crit Care Med. 1981 Aug;9(8):568-72.
2. Fauchald P, Noddeland H, Norseth J. Interstitial fluid volume, plasma volume and colloid osmotic pressure in patients with nephrotic syndrome. Scand J Clin Lab Invest. 1984 Nov;44(7):661-7.
3. Bevan DR. Colloid osmotic pressure. Anaesthesia. 1980 Mar;35(3):263-70.
4. Grunert A. Colloid osmotic pressure and albumin metabolism during parenteral nutrition. Curr Stud Hematol Blood Transfus. 1986;(53):18-32.
5. Webster HL. Colloid osmotic pressure: theoretical aspects and background. Clin Perinatol. 1982 Oct;9(3):505-21.
6. Lundsgaard - Hansen P. Physiology and pathophysiology of colloid osmotic pressure and albumin metabolism. Curr Stud Hematol Blood Transfus. 1986;(53):1-17.
7. Weil MH, Henning RJ, Puri VK. Colloid oncotic pressure: clinical significance. Crit Care Med. 1979 Mar;7(3):113-6.
8. Benedetti TJ, Carlson RW. Studies of colloid osmotic pressure in pregnancy-induced hypertension. Am J Obstet Gynecol. 1979 Oct 1;135(3):308-11.
9. Huerta Torrijos J, Espinoza Larranaga F, Hernandez Rojas ME, Cruz Martinez E, Montiel Cervantes L, Hernandez Lopez D. Correlation between measured and calculated colloid osmotic pressure. Crit Care Med. 1985 Jun;13(6):504-5.
10. Sprung CL, Isikoff SK, Hauser M, Eisler BR. Comparison of measured and calculated colloid osmotic pressure of serum and fluid in patients with pulmonary edema Crit Care Med. 1980 Nov; 8(11): 613-5.

11. Navar PD, Navar LG. Relationship between colloid osmotic pressure and plasma protein concentration in the dog. *Am J Physiol.* 1977 Aug;233(2): H295-8.
12. Rackow EC, Fein IA, Leppo J. Colloid osmotic pressure as a prognostic indicator of pulmonary edema and mortality in the critically-ill Patients *Chest.* 1977 Dec;72( ):709-13.
13. Nielsen OM, Engell HC. The importance of plasma colloid osmotic pressure for interstitial fluid volume and fluid balance after elective abdominal vascular surgery. *Ann Surg.* 1986 Jan;203(1):25-9.
14. Morton AP, Holling J. Colloid osmotic pressure in surgical patients and its relationship to serum protein and albumin estimations. *Aust N Z J Surg.* 1978 Aug;48(4):418-21.
15. Nguyen HN, Clark SL, Greenspoon J, Diesfield P, Wu PY. Peripartum colloid osmotic pressures: correlation with serum proteins. *Obstet Gynecol.* 1986 Dec;68( ):807-10
16. Bhat R, Javed S, Malalis L, Vidyasagar D. Critical care problems in neonates. Colloid osmotic pressure in healthy and sick neonates. *Crit Care Med.* 1981 Aug;9(8):563-7.
17. Kensa EVH. *Physical biochemistry.* Newjersy. 2nd ed, chapter 8, prentice-hall Inc, 1971; PP: 158-178
18. Fusman GD. *Handbook of biochemistry and molecular biology.* 3rd ed. Philadelphia, CRC press Inc, 1967; PP: 385-545.