

مقایسه روش‌های پروتئین‌زدایی در سنجش

نیتریک اکساید سرمی به روش گریس

دکتر اصغر قاسمی*، دکتر مهدی هدایتی*، حامد بیابانی*، دکتر علی خوش‌باطن**، دکتر علیرضا عسگری**

* مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
** گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

چکیده

سابقه و هدف: نیتریک‌اکساید در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک نقش دارد. اخیراً توجه زیادی به اندازه‌گیری نیتریک‌اکساید سرمی معطوف شده است. ما در مطالعه قبلی روشی ساده، ارزان و سریع برای اندازه‌گیری نیتریک‌اکساید سرمی را طبق واکنش گریس ارزیابی کردیم. از آنجایی که پروتئین‌زدایی نمونه‌ها برای سنجش نیتریک‌اکساید سرمی با روش گریس ضروری است، در این مطالعه روش‌های مختلف پروتئین‌زدایی سرم برای سنجش نیتریک‌اکساید سرمی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: ده روش پروتئین‌زدایی شامل استفاده از متانل، اتانل، سولفات روی، متانل/دی‌اتیل‌اتر، استونیتریل، PCA، TCA، تنگستات سدیم و سولفات آمونیوم و فیلتر ۱۰۰۰۰ دالتونی، روی ۴۲ نمونه سرم انسانی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج سنجش نیتریک‌اکساید در روش‌های مختلف با روش فیلتر به عنوان مرجع مقایسه شد. همچنین میزان نیتریک‌اکساید در ۶۰ نمونه سرمی تهیه شده از افراد بالغ داوطلب سنجش گردید.

یافته‌ها: ضریب همبستگی رسوب‌دهی با متانل، اتانل، سولفات روی، متانل/دی‌اتیل‌اتر، استونیتریل، PCA، TCA، تنگستات سدیم و سولفات آمونیوم با روش فیلتر به ترتیب ۰/۸۴، ۰/۹۲، ۰/۹۱، ۰/۷۹، ۰/۸۸، ۰/۸۵، ۰/۹۳، ۰/۵۳ و ۰/۷۸ با $P < ۰/۰۰۱$ بود. متانل، اتانل و متانل/دی‌اتیل‌اتر سبب تخمین بیش از حد و PCA، TCA، تنگستات سدیم و سولفات آمونیوم سبب تخمین کمتر از حد نیتریک‌اکساید سرمی در مقایسه با فیلتر شدند. نتایج سنجش نیتریک‌اکساید در سرم افراد بالغ دارای توزیع نرمال با میانگین ± ۳۳ میکرومول در لیتر بود.

نتیجه‌گیری: اگر چه در مطالعات مختلف از روش‌های متفاوتی جهت پروتئین‌زدایی نمونه‌های سرمی جهت سنجش نیتریک‌اکساید استفاده می‌شود، طبق نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می‌رسد استفاده از سولفات روی بهترین انتخاب باشد.

واژگان کلیدی: نیتریک‌اکساید، پروتئین‌زدایی، واکنش گریس، سرم.

مقدمه

به دلیل کوتاه‌بودن نیمه‌عمر نیتریک‌اکساید، اندازه‌گیری مستقیم آن نسبتاً مشکل است (۱،۲)، لذا اندازه‌گیری آن با استفاده از متابولیت‌های پایدارش یعنی نیتريت و نیترات صورت می‌گیرد. این سنجش تخمین قابل‌اطمینانی از برون‌ده

نیتریک‌اکساید در محیط *in vivo* فراهم می‌آورد (۲). همبستگی بالایی بین تولید نیتریک‌اکساید درون‌زا و سطوح نیتريت/نیترات (NOx) در سرم، پلاسما و ادرار گزارش شده است (۳). ساده‌ترین و رایج‌ترین روش اندازه‌گیری این آنیون‌ها روش رنگ‌سنجی بر مبنای واکنش گریس (Griess) می‌باشد. اساس این واکنش تشکیل رنگ از دی‌آزوتاسیون (diazotization) یک سولفانامید به کمک نیتريت در محیط اسیدی و سپس کنژوگاسیون آن با یک آمین آروماتیک مثل

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دکتر اصغر قاسمی (email: Ghasemi@erc.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۸/۲۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۲/۱۷