بررسی فنوتیپ هاو فعالیت مهاری آلفا- یک آنتی تریپسین در بیماران آمفیزم

دکتر عباس صاحبقدم لطفی (۱) - دکتر ساسان صابر (۲) - داریوش حمیدی علمداری (۳)

خلاصه :

آلفا- یک آنتی تریپسین،از عمده ترین سرین پروتئازهای سرم انسان است که چندین پروتئاز را مهار می کند.این مهارکننده پروتئازهااهرم غیراختصاصی در دفاع همورال بدن بشمار می رود و تحت شرایط عفونت ،حاملگی بطور قابل ملاحظهای افزایش می یابد .همچنین سلامت ریه منوط به حفظ تعادل پروتئاز آنتی پروتئاز می باشد و آلفا-۱-آنتی تریپسین نقش مهمی در این تعادل بعهده دارد لذا تعیین مقدار آن در بیماریهای تخریبی بافت ریه از اهمیت خاصی برخوردار است.بدلیل تنوع ژنتیکی این آنزیم دارای ایزوآنزیم های متعدد بوده و فنوتیپ های مختلفی را بسته به نوع بیماری تشکیل می دهد و کمیت های آللهای این آنتی پروتئازها متفاوت خواهدبود.در این بررسی از تعداد سی نفر بیمار مرد مراجعه کننده به بخش ریه بیمارستان امام خمینی تهران با میانگین سنی (۴۷/۳۷+۱۸/۴۷)نمونه خون گرفته شد،قبلاً ابتلا این بیماران به آمفیزم ریوی توسط پزشک معالج تایید شده بود.از تعداد سی نفر داوطلب مرد با میانگین سنی (۳۰/۷۳+۵/۳۹)نیز نمونه گیری خون به عمل آمد،میزان ظرفیت مهاری تریپسین (TIC) با روش اسپکتروفوتومتری و با سوبسترای مناسب تریپسین اندازه گیری شد،فنوتیپ ها نیز به کمک سرم استاندارد تهیه شده از آزمایشگاه رفرانس جهانی آلفا-۱-آنتی تریپسین در نروژ تهیه گردید.نتایج بررسی نشان می دهد که TIC بیماران و افراد کنترل با $P \leq 0.05$ دارای اختلاف معنی داری می باشد،تعیین فنوتیپ ها بیانگر یکسانی فنوتیپ ها و نیز آللهای بیماران و افراد کنترل بوده است.

بنابراین می توان نتیجه گرفت که اولاً چون همه بیماران فنوتیپ طبیعی داشته‌اندنقش عوامل ژنتیکی در بروز آمفیزم چشمگیر نیست .ثانیاً علی رغم بالا بودن TIC در بیماران،فنوتیپ ها طبیعی است بنابراین از روی مقدار TIC نمی توان فنوتیپ ها را بدرستی مشخص نمود و احتیاج به روشهای مطمئن تری مانند الکتروفورز کانونی می باشد.

کلیدواژه‌ها: آلفا یک آنتی تریپسین / آمفیزم

۱-استادیار گروه بیوشیمی- دانشگاه تربیت مدرس -دانشکده علوم پزشکی تهران

۲-استادیار بخش ریه - دانشگاه علوم پزشکی تهران بیمارستان شریعتی

۳-دانشجوی کارشناسی ارشدبیوشیمی

مقدمه:

در سال ۱۹۶۳،لوریل واریکسون،نقص ژنتیکی آلفا- یک آنتی‌تریپسین (AAT) و ارتباط آن با آمفیزم ریوی را کشف کردند(۱).این پروتئین،مهمترین آنتی پروتئاز موجود در ریه است که چندین پروتئاز را مهار می کند. این آنتی پروتئاز،در کبد ساخته می شود و توسط سیستم گردش خون به ریه حمل می گردد.درگرانول های آژروفیل نوتروفیل ها و نیز در گرانول های ماکروفاژها،آنزیمهای پروتئاز وجود دارد که وارد کردن این آنزیمها بداخل ریه حیوانات آزمایشگاهی ، سبب بروز آمفیزم درآنها می شود (۲).در حالت طبیعی ، بین پروتئازهاو آنتی پروتئازهای موجود در ریه ،تعادل برقرار است (۳).هنگامیکه کمیت یا کیفیت AAT،در اثر نقص ژنتیکی یا فاکتورهای غیر فعال کننده محیطی و عادتی کاهش یابد،یا اینکه ،پروتئازها در اثر تحریکات محیطی و عادتی بر روی لکوسیت های موجود در ریه ،افزایش یابند،و یا هر دو این پدیده ها اتفاق افتد ، بصورتی که "تعادل پروتئاز-آنتی پروتئاز"بر هم خورد ،پروتئولیز بافت بینابینی ریه انجام می شود و بدنبال آن بیماری آمفیزم بروز می نماید(۴).

آمفیزم،بیماری مزمن ریوی است که در آن اتساع غیر عادی و دائمی آسینی ها همراه با تخریب دیواره آلوئولی،بدون حضور واضح فیبروز،مشاهده می گردد(۵).نحوه ابتلاءافرادبه آمفیزم به دو گونه ارثی یا اکتسابی است.در آمفیزم‌ارثی(۲٪-۱٪)افرد بدلیل نقص ژنتیکی در آلل های AAT،به این بیماری دچار می شود(۶).آلل های AAT بصورت بارزبیان می شوند.آلل‌طبیعی،Pi^Mو عمده آلل های ناقص ،Pi^Z ،Pi^S ،Pi^F ،Pi^P هستند،همچنین از روی آلل ناقص Pi^- یاnull فهمیده می‌شود،که AAT سنتزنمی شود (۷).این آلل ها بایکدیکر تشکیل فنوتیپهایی را می‌دهند که قادر به تولید مقدار معینی AAT می‌باشند. در جدول شماره ۱ ارتباط بین فنوتیپ ها وغلظت سرمی AAT ذکر شده‌است.

جدول ۱:ارتباط بین فنوتیپ هاو غلظت سرمی AAT(٪)

فنوتیپ	غلظت سرمی (٪)
MM	۱۰۰
MZ	۶۰
SS	۶۰
FZ	۶۰
M-	۵۰
PS	۴۰
SZ	۴۲/۵
ZZ	۱۵
Z-	۱۰
--	۰

اگرمیزان AATکمتراز ۵۰درصدنرمال باشداحتمال بروزاین بیماری‌افزایش می‌یابد.افرادبافنوتیپ null و-Z ZZ قطعا"مبتلابه این بیماری می شوند.

افراد با فنوتیپ SS و SZ و -Mو PSو FZوMZ، اگر در معرض آلودگیهای محیطی و عادتی قرار گیرند،مبتلا به این بیماری می شوند(۸،۹).

درآمفیزم‌اکتسابی،فردحتی‌بافنوتیپ طبیعیMMدچاراین بیماری می‌گردد.علت بروزاین‌بیماری‌عوامل‌محیطی و عادتی‌هستندکه مهمترین‌آنهاسیگارمی‌باشد(۶).دودسیگار قادراست‌بامکانیسم‌ذیل‌تعادل‌پروتئاز-آنتی‌پروتئازرابرهم‌زند.

۱-افزایش آزاد سازی پروتئازها(بویژه الاستاز)ازلکوسیت ها

چندین نوع سلول شناخته شده نظیر نوتروفیل ها، ماکروفاژها،و مونوسیت ها قادر به سنتز یا ذخیره کردن پروتئازها هستند،اجزاء دود سیگار(مثل نیکوتین)خاصیت کیمو تاکتیک برای این سلولها داشته و سبب نفوذ و مهاجرت این سلولها از فضای مویرگ بداخل فضای آلوئول می‌شوند،

شوند، سپس با تحریک اینها سبب افزایش آزاد سازی پروتئازها می گردند.

۲- غیرفعال کردن مهارکننده‌های پروتئازها:

اجزاء دود سیگار با فعالیت اکسیداسیونی خود مهار کننده های الاستاز بویژه AAT را غیرفعال می کنند.این عمل خود را با اکسید کردن متیونین که در جایگاه فعال AAT قرار دارد و تبدیل آن به سولفوکسیدمتیونین انجام می دهند.

۳- تداخل در سنتز الاستین جدید (ترمیم):

اجزاء دود سیگار با کاهش فعالیت آنزیم لیزیل اکسیداز که مسئول سنتزالاستین جدید است ،باعث کندی مکانیسم ترمیم الاستین شده و بدنبال آن،تخریب بیشتر بافت همبند ریوی ایجاد می شود (۱۰و۱۱).

مواد و روشها:

در این تحقیق از ۳۰ بیمار مرد مبتلا به آمفیزم ریوی که در مدت یکماه به بخش ریه بیمارستان شریعتی مراجعه کردند،نمونه گیری شد.همچنین ۳۰ نفر مرد که با توجه به تستهای کبدی و ریوی طبیعی بودندو نیز اعتیاد به سیگار نداشتند بعنوان گروه کنترل انتخاب گردیدند.از هر فرد بیمار و نرمال ۳ml خون گرفته شد(بدون ماده ضدانعقاد).بعد از جدا کردن سرم ، نمونه ها در لوله‌های آزمایش کوچک تقسیم نموده و تا هنگام آزمایش در دمای ۷۰°C-نگهداری شدند.بر روی نمونه های جمع آوری شده دو آزمایش تعیین فنوتیپ AAT به روش الکتروفورز کانونی و تعیین ظرفیت مهاری تریپسین (Total (Inhibitory Capacity=TIC انجام گرفت.

الکتروفورز کانونی بر روی ژل بسیار نازک (۲mm)آکریل آمید انجام می شود(۱۲). برای ساختن ژل ،۱/۳میلی لیتر محلول آکریل آمید/بیس آکریل آمید (T=٪۳۰) با ۰/۵ میلی لیتر فارمالیت(۹-۴/۲-۴)و ۱۵ میکرولیتر آمونیوم پرسولفات ۴۰٪ مخلوط می گردد.بعد از تهیه ژل الکترود آند بر روی کاغذ آغشته به آنولیت (اسید گلوتامیک ۰/۱M) والکترودکاتد بر روی کاغذ آغشته به کاتولیت(سود۰/۱M) قرار می گیرد.فوکوس مقدماتی به مقدار۱۸۰۰V/h انجام می شود. بعد از اتمام این مرحله بر روی کاغذها ی صافی و اتمن IV به ابعاد ۰/۱mm×۱×۵،۳۰میکرولیتر از هر نمونه قرار می گیرد.سپس عمل الکتروفورز به مقدار ۴۰۰۰ V/h دیگر ادامه می یابد.

لازم به ذکر است که تمام مراحل الکتروفورز در توان ثابت انجام می شود.بعد از اتمام الکتروفورز ژل در درون محلول رنگ آمیزی (۰/۲گرم کوماسی‌بلو R-250 در ۳۵ میلی لیتر متانول ،۱۰میلی لیتر اسید استیک گلاسیل ،۵۵ میلی لیتر آب مقطر)به مدت ۵ دقیقه قرار داده می شود، سپس ژل را در محلول رنگ زدا (۳۵میلی لیتر متانول ، ۱۰ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیل،۵۵میلی لیتر آب مقطر) قرار داده تا زمینه کاملا"بی رنگ شود.بعد از رنگ زدایی با مقایسه الگوی الکتروفورزی نمونه ها با الگوی الکتروفورزی استاندارد فنوتیپ AAT تعیین می شود.لازم به ذکر است سرم استاندارد برای تعیین فنوتیپ هاآقای پرفسور فاگرول بیمارستان ولوال نروژکه یکی از چند مرکز عمده بین المللی نامگذاری و شناسایی فنوتیپ های آلفا-۱-آنتی تریپسین است تهیه گردید.

فعالیت AATسرم رابه روش سنجش آنزیمی اندازه گیری می‌کنند که دراین روش تریپسین‌توسط AAT سرم مهار می‌شود(۱۳).در این روش هر بار می توان ۱۵نمونه سرم را آزمایش نمود و در هر سری آزمایش ،شدت جذب لوله آزمایش نمونه را نسبت به شدت جذب نمونه کنترول آلبومین می سنجند.نمونه های سرم،بوسیله بافر تریس (هیدروکسی متیل -آمینومتان (۱۲/۱۱گرم تریس،۲/۲گرم کلسیم کلرید،در یک لیتر آب،PH=۸/۲در دمای ۳۷°C) ۱۰۰ بار رقیق می شود .برای هر نمونه سرم یک لوله آزمایش شاهد در نظرگرفته و دو لوله جهت تکرار انتخاب و آزمایش شد.بعد از رقیق کردن نمونه های سرم ، ۲ میلی لیتر از محلول رقیق شده سرم با ۲ میلی لیتر محلول رقیق

شده تریپسین،۱/۵میلی لیتر محلول ۰/۱درصد تریپسین در اسید کلریدریک ۱ میلی مول در لیتر ،با بافرتریس به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده می شود)مخلوط می گردد.بعد از ۱۰ دقیقه، مراحل کار به طریقه جدول زیر است .برای ساخت محلول BAPNA رقیق شده،۱ میلی لیتر از محلول ۰/۱ گرم BAPNAدر ۲/۳میلی لیتر DMSO،با بافر به حجم ۱۰۰میلی لیتررسانده می‌شود.برای تهیه محلول آلبومین رقیق شده،۱میلی لیترازمحلول ۱درصد آلبومین در بافر فوق الذکر،با بافر به حجم ۱۰۰میلی‌لیتر رسانده می شود. مراحل آزمایش ونحوه‌افزودن محلولهامطابق جدول‌ذیل انجام‌گرفت.

محلولهایی که باید به لوله ها افزود	لوله‌های محتوی‌سرم		لوله‌های کنترل آلبومین	
	(۱)شاهد	(۲)تست	(۱)شاهد	(۲)تست
۱)محلول BAPNAرقیق شده (میلی‌لیتر)	۵	۵	۵	۵
۲)محلول سرم رقیق شده+ محلول تریپسین‌رقیق شده (میلی‌لیتر)	--	۱	--	--
۳)محلول آلبومین رقیق شده+ محلول تریپسین رقیق شده (میلی‌لیتر)	-	-	-	۱
۴)محلول‌لوله‌ها راخوب‌بهم‌زده و برای‌مدت ۱۰دقیقه در دمای ۳۷°c قرار داده شود				
۵)محلول اسیداستیک ۳۰٪ (میلی‌لیتر)	۱	۱	۱	۱
۶)بهم‌زدن محلول درون لوله‌ها				
۷) از محلول شماره(۲) (میلی‌لیتر)	۱	-	-	-
۸) از محلول شماره (۳) (میلی‌لیتر)	-	-	۱	

بعد ازاتمام مراحل‌نهایی جدول مجدداً"محتوی‌لوله ها ، با Vortex مخلوط می‌گرددوجذب هرنمونه‌نسبت به شاهد همان‌نمونه‌درطول‌موج ۴۰۰mm خوانده‌وسپس‌بعدازبدست آوردن اختلاف جذب هرنمونه‌نسبت به‌کنترول آلبومین با استفاده‌از فرمول زیرمقدار ظرفیت مهاری تریپسین (TIC) TIC محاسبه می‌گردد.

$$TIC(\mu mol/min/ml)=\frac{۷۰۰۰}{۱۰/۵}=\frac{\Delta A}{X.Y}$$

پارامترهای فرمول به قرار زیر است.

۷۰۰۰= کل حجم محتوی هر لوله آزمایش بر حسب میکرو لیتر۱۰/۵= ضریب خاموشی پارانیتروآنیلین که محصول واکنش‌تریپسین وپهنااست وواحدآن بر حسب میلی مولاراست.

ΔA =تفاضل بین جذب لوله محتوی نمونه و جذب لوله محتوی آلبومین

X=حجم اولیه سرم که ۱۰۰بار رقیق شده است .

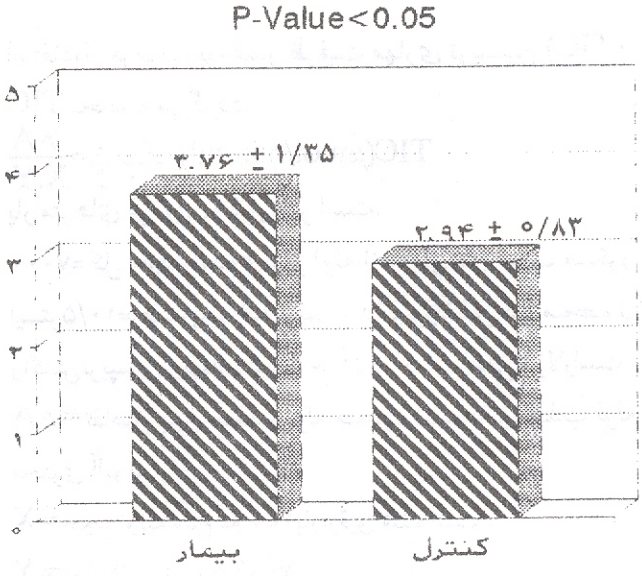
Y=زمان انکوباسیون ۳۷°

تذکر:در صورتی‌که جذب لوله محتوی نمونه کمتراز ۰/۱باشد آزمایش باید تکرار شود و در تکرار مجدد نمونه ۳۰۰ بار رقیق می‌گردد (۴).

نتایج :

دراین پژوهش میانگین سنی‌بیماران۴۷ ±۱۸/۴۷سال ۴۷/۳۷ بودکه نتایج ذیل پس ازتعیین فنوتیپ حاصل‌آمد:۲۳نفر دارای فنوتیپ MM(۷۶/۷درصد)و۷ نفر M M(۲۳/۳ درصد).میانگین سنی‌گروه کنترل ۳۰/۶۳±۵/۳۹ سال بود که نتایج ذیل پس ازتعیین‌فنوتیپ بدست‌آمد:۱۸نفردارای فنوتیپMM(۶۰درصد)و۱۲نفرM۱M۲(۴۰درصد).هفتاد درصد گروه بیمار را افراد سیگاری تشکیل می‌داد. ضمن آنکه بخش غیر سیگاری نیز در محیطهای فوق العاده آلوده به سر برده بودند.

میانگین TIC در گروه بیمار ۳/۷۶±۱/۳۵Mol.min^{-1}ml^{-1} و درگروه کنترل ۲/۹۴۹±۰/۸۴Mol.min^{-1}ml^{-1} بدست آمد.



شکل ۱:نمودار مقایسه ای TIC گروه بیمار و کنترل

بحث :

کانتین در سال ۶-۱۹۸۵ با بررسی بیماران آمفیزمی خاطر نشان کرد تنها ۱تا۲درصد از این بیماران به علت نقص ژنتیکی AAT در سنین بین ۴۰تا۵۰سال دچار عارضه فوق شده بودند،حال آنکه ۹۸درصد دیگر براثراستعمال شدید دخانیات یا قرارگرفتن در فضاهای آلوده صنعتی (بخصوص بخارات کادمیم و سرب)و یا معادن زغال سنگ ،ابتلاءبه این بیماری را نشان می دادند(۱۴).

مطالعات جداگانه گاداک در سال ۱۹۹۲نیز نتایج کانتین را تائید کرد(۶).تعدادی از پژوهشگران از جمله کاپرز بیان کردند که ارتباط معنی داری میان مقدار TIC و فنوتیپ ها وجود ندارد .زیرا مقدار TIC در فنوتیپ های ناقص بر اثر استعمال سیگار ،استرس ،عفونت یا قرار داشتن در محیطهای کاری آلوده افزایش می یابدو با توجه به مقدار TIC نمی توان فنوتیپ شخص را تعیین کرد(۷).تالمو در مطالعه‌ای، ذکر کرد که درصد کمی از بیماران آمفیزمی بدلیل نقص ژنتیکی AAT به این بیماری مبتلا شده اند و بقیه در اثر عوامل محیطی و عادتی به این عارضه دچار شده اند، همچنین وی نشان داد که مقدار TIC بیماران از افراد نرمال بیشتر است و نیز افرادی با فنوتیپ طبیعی هستند که مقدار AAT آنها در هنگام سلامت برابر با مقدار AAT افراد با فنوتیپ MS یا MZاست (۱۵).

در مطالعه ای دیگری که توسط کوکس انجام شد،در صد بیشتری از بیماران ،نسبت به دیگر مطالعات ،در اثر نقص ژنتیکی AAT به این بیماری دچار شده بودند و نقص ژنتیکی در ایجاد این بیماری ،نقش زیادتری پیدا کرده بود(۱۶).

در پژوهش انجام شده توسط ویلیام ابرامز بر روی مایع لاواژ بیماران مبتلا به عفونت ریوی و افراد سالم مشخص گردید،در افراد بیمار غلظت AAT ۵ برابر می شود،ولی فعالیت مهاری AAT در مقابل الاستاز ۱۵برابر کاهش یافته و همچنین فعالیت پروتئازی افزایش می یابد.نتیجتا" عدم تعادل "پروتئاز-آنتی پروتئاز" در ریه ایجاد شده و پروتئازها با فعالیت پروتئولیتیک خود سبب تجزیه الاستین ریه شده و بدنبال عفونت طولانی مدت ریه بیماری آمفیزم ،در فرد حتی با فنوتیپ طبیعی بروز می نماید(۱۷).

نتیجه گیری نهائی این تحقیق نشان می دهدکه:

۱)نتایج این پژوهش همگام با نتایج مطالعات کانتین ،گاداک و تالمو موید این مطلب است که گرچه نقص ژنتیکی AAT تعادل "پروتئاز-آنتی پروتئاز"را در جهت تخریب ریه بر هم می زند و موجب بروز بیماری آمفیزم می شود،ولی نقش آن نباید چشمگیر باشد(۲-۱درصد).در مقابل ،آمفیزم اکتسابی ناشی از عوامل محیطی و عادتی از شیوع بسیار زیادی ، برخوردار می باشد.زیرا فنوتیپ ها ی بدست آمده بیماران همه طبیعی و مطابق افراد سالم بودند اما علی رغم طبیعی بودن فنوتیپ ،آمفیزم آنها توسط پزشک معالج مورد تایید قرار گرفته و تحت درمان قرار گرفتند و این نشان دهنده اکتسابی بودن بیماری است .

۲)چون فنوتیپ های MM وM۱M۲ هر دو طبیعی هستند بنابراین در این گروه بیماران آللها و یا فنوتیپ های‌غیر طبیعی مشاهده نشد وطبق محاسبه آماری با $P<0.01$ همسانی

واریانسها پذیرفته می شود.گرچه میـزان فراوانی دو فنوتیپ ذکر شده و نیز آللهای آنها در گروه بیمار و کنترل یکسان نبود.

۳) با توجه به محاسبه آماری آنالیز واریانس مقدار TIC در جامعه بیمار و کنترل تفاوت معنی داری دارد($P<0.05$)

۴)همچنانکه مطالعات و پژوهشهای کارپرز و تالمونیز تایید مـی کـند بـا وجـود اختلاف معنی دار TIC کـه همان AATاست فنوتیپ ها یکسان هستند بنابراین می توان گفت که با توجه به مقدار TIC نمی توان فنوتیپ ها را بدرستی مشخص کرد و برای تعیین فنوتیپ ها باید از روشهای دقیق تر مثل الکتروفورزکانونی استفاده نمود.

۵)برای ابتلاء افراد واجد فنوتیپ طبیعی به بیماری آمفیزم، سه دلیل عمده ذیل را می توان ذکر کرد:

الف)استعمال شـدیددخانیات حـالتی‌شبیه‌به‌نقص ژنـتیکی AATایجاد مـی‌کند.ایـن‌افـرادمـعمولا" درسـنین ۴۰ تـا ۵۰ سال‌بسته‌به شدت مصرف سیگاردچاراین‌بیماری‌می شوند.

ب)احتمالا" میزان AAT بـعضی از ایـن افـراد در هـنگام سلامتی بنا به دلایل نامشخصی همانند مقدار AATافراد با فنوتیپ MS یا MZ است و این افراد بر اثر اسـتنشاق دود سیگار یا هوای آلوده همچون افراد MS و MZ در سنین ۲۰ تا ۴۰ سالگی دچار این بیماری شده‌اند.

ج) عفونت مزمن ریوی

۶) بیماران موردآزمایش در این پژوهش،همگی مذکر بودند. درمطالعات پیش نیز اکثر قریب به اتفاق بیماران را به دو دلیل مردان تشکیل می دادند،یکی‌اینکه مـردان نسـبت بـه زنـان بیشتر در معرض آلودگیهای عادتی و مـحیطی هسـتند،دوم اینکه ،هورمونهای استروژن و پروژسترن در زنان بـا تـحت تاثیر قرار دادن کبد سبب افزایش سنتز AAT می شوند.

پیشنهادات :

با توجه به شیوع این بیماری در اقشار جامعه ما،ادامـه ایـن پژوهش اولا" نیاز جامعه بیمار را بـر طـرف مـی کـند،ثـانیا" وضعیت اپیدمیولوژیک نـقص ژنـتیکی در کشـور و تـوزیع بومی آنها ،مشخص می گردد.

همچنین با استناد به نتایج این تحقیق می‌توان گفت مصرف سیگار سرعت ابتلا به نارسایی تنفسی را افزایش مـی‌دهد، زیرا که در اکثر موارد، ابـتلاء بـه بـیماری آمـفیزم،اکـتسابی است.

تشکر وقدردانی :

این پروژه با همکاری و حمایت مالی بخش و مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان دکتر شریعتی تـهران انجام شده و بدین وسیله از ریاست محترم مرکز جناب آقای دکتر ملک زاده و همچنین آقای دکتر علیزاده دبیر مرکز صمیمانه قدردانی می گردد.

منابع :

1-Eriksson E.Discovery of ∝1-antitrypsin deficiency.Lung 1990:supp1:523-526.
2-Perlumtter DH,etal.The ∝1-antitrypsin gene and emphysema.Am physiol soci 1989:L147-162.
3-Cohen AB.Proteases and Antiproteases in Lung.Am Rev.Respir.Dis 1985: 132: 182 -185.
4-Wewers M.Pathogenesis of Emphysema.Chest 1989:95:190-195.
5-Snider GL,etal.The Definition of Emphysema.Am Rev Respir.Dis 1985:132:182 - 185.
6-Gadek JE.Adverse Effect of Neutrophils on Lung.Am Jou Med 1992: 92 (Suppl 6A):275-315.
7-Kueppers F.∝1 Antitrypsin and Its Deficiency. Am Rev Respir.Dis.1974:9110: 176-193.
8-Ghishan FK,etal.Alpha 1-Antitrypsin Deficiency.Inherited Diseases of the Liver 1994:50:1349-1355.
9-Crystal RG.∝1-Antitrypsin Deficiency Emphysema and Liver Disease.Jou Clin Ivest 1990:85:1343-1352.
10-Janoff A.Elastase and Emphysema.Am Rev Respir Dis1985:132:417-433.
11-Janoff A.Biochemical Links Between Cigarrette Smoking and pulmonary Emphysema.Am.Phsiol Soci 1983:258-293.
12-JeppssonJ,etal.Typing of Genetic Variants of ∝1-Antitrypsin by Electrofocusing.Clin Chem 1982:26(1):219-225.
13-Dietz A,etal.Measurement of Alpha 1-Antitrypsin in serum by Immunodiffusion and by Enzymatic Assay.Clin Chem 1974:20:369-399.
14-Cantin A.,Oxidants,Antioxidants and Pathogenesis of Emphysema.Eur.Jou Respir.Dis 1985:139(p-supp1):7-17.
15-Talamo RC,etal.Genetic CS.Quantitative Analysis of Serum and ∝1-Antitrypsin New Eng Jou Med 1972:23:1067.
16-Cox DW,etal.Protease Inhibitors in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease.Am Rev Respir Dis 1976:113:606.
17-Abrms WR,etal.Protease Inhibitory Function in Inflammatory Lung Disease: Acute Bacterial Pneumonia.Am.Rev.Respir.Dis 1984: 129:735-741.

Examination of Phenotypes and Inhibitory Activation of Alpha 1-Anti trypsin in Patients with Amphysema

A.Saheb-ghadam-lotfi,M.D;
S.Saber,M.D.,
D.Hamidi Alamdary,MSC.Student in Biochemistry

ABSTRACT:

Alpha 1-Antitrypsin is one of the most important serine protease in human serum,inhibiting several proteases.As an inhibitor of proteases,it is a non-specific lever in humoral defence of the body.

Its level increases significantly under the infections condition of pregnancy.The health of lung,too,depends on maintaininig the equilibrium of protease antitrypsin ,and Alpha 1-trypsin plays an important role in this equilibrium.Thus,determination of its level in degenerative diseases of lung tissue is of great importance.Because of genetic diversity,this enzyme has numerous isoenzymes and it constitutes different phenotypes,depending on the type of the disease.Allele quantities of these antiproteases vary.In this examination,of 30 male patients presenting to the pulmonary Ward of Imam Khomeini Hospital in Tehran (mean age 47.37+18.47),blood sample was taken.Previously,Pulmonary emphysema was confirmed in these patients by their physicians.Of 30 male volunteers with mean age of 30.73+5.39,blood sample was taken.TIC was measured by spectrometry and by an appropriate substrate.Phenotypes,also,were determined with assistance of the standard serum prepared by World Reference Laboratory of Alpha 1-Antitrypsin in Norway.The results indicate that the rate of TIC in patients and in control individuals has a significant difference($P<0.05$).Determination of phenotypes suggest consistency of phenotypes as well as the alleles of patients and the controls.Therefore,it can be concluded that,firstly,since all patients had normal phenotype,the role of genetic factors in occurance of emphysema isn't dramatic.Secondly,despite the high rate of TIC in patients,phenotypes are normal .Thus,through the rate of TIC ,one can not determine the phenotypes accurately and more reliable procedures such as focal electrophoresis are required.

Keywords:Alpha 1-Antitrypsin,Emphysema