

# اندازه گیری غلظت لاکتوفرین در شیر مادر و بررسی ارتباط آن با سن مادر، نوبت زایمان و روزهای پس از زایمان

علیرضا صالحی نوده<sup>۱\*</sup>، دکتر محمد باقر اسلامی<sup>۲</sup>، دکتر مهدی نوروزی<sup>۳</sup>  
سارا نصیری نژاد<sup>۴</sup>، دکتر مرتضی فضلی<sup>۵</sup>، غلامرضا حسن پور<sup>۶</sup>

## چکیده

**زمینه و هدف:** لاکتوفرین یکی از ترکیبات موجود در شیر است که مهمترین خاصیت آن جذب و انتقال آهن است. لاکتوفرین با جذب آهن آزاد، محیط را عاری از این عنصر کرده و در نتیجه پاتوژن‌هایی که برای ادامه حیات به این عنصر حیاتی نیاز دارند را از آن محروم می‌کند و بدین ترتیب به صورت غیر مستقیم گسترش عفونت را مهار می‌کند. از سوی دیگر با توجه به اینکه تولید لاکتوفرین در زنان شیرده مبتلا به سرطان‌های بدخیم پستان متوقف می‌شود، اندازه گیری مقدار لاکتوفرین در شیر می‌تواند به عنوان گام اول در تشخیص تومورهای بدخیم پستان در اتخاذ هر چه سریعتر روشهای درمانی مناسب بسیار موثر باشد. بنا بر این با توجه به نقش مهم لاکتوفرین در سلامت و بیماری تعیین مقدار نرمال آن در شیر ضرورت بسیار دارد تا بدینوسیله تغییراتی را که در اثر سوء تغذیه یا بیماری بوجود می‌آید با مقایسه با مقادیر نرمال تعیین و ارزیابی نمود. از سوی دیگر با توجه به اینکه مقدار نرمال لاکتوفرین در شیر زنان در ایران تا کنون اندازه گیری و ارزش یابی نشده بود، لذا این تحقیق برای اولین بار مقدار این پروتئین را در زنان ایرانی اندازه گیری کرده است.

**روش بررسی:** در این تحقیق مقدار لاکتوفرین به روش SRID در ۱۰۴ نمونه شیر مادر از مادران شیردهی که جهت انجام واکسیناسیون فرزندشان به دو مرکز درمانی در تهران مراجعه کرده بودند و همچنین خانم‌هایی که بعد از زایمان در دو مرکز درمانی در شهرستان قم بستری شده بودند اندازه گیری شد. در ضمن به هنگام دریافت نمونه‌ها اطلاعاتی نظیر سن مادر، نوبت زایمان و ... نیز بوسیله پرسشنامه جمع آوری گردید.

**یافته‌ها:** میانگین غلظت لاکتوفرین در آغوز ۴/۳۴ گرم در لیتر، در شیر اولیه (روزهای ۶ تا ۱۰ پس از زایمان) ۳/۷۹ گرم در لیتر است.

**نتیجه گیری:** میانگین غلظت لاکتوفرین در شیر بر حسب گرم در لیتر با متغیر روزهای پس از زایمان با اطمینان بیش از ۹۵ درصد اختلاف دارد و بیشترین مقدار آن در آغوز و شیر اولیه و پس از آن به شدت کاهش می‌یابد و این اهمیت ویژه لاکتوفرین شیر مادر را خصوصاً در روزهای اولیه زندگی نوزاد از جهت نقش حفاظتی آن در برابر ابتلا به عفونت‌ها بخوبی نشان می‌دهد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که بین میانگین غلظت لاکتوفرین در شیر مادران با متغیرهایی نظیر سن مادر و نوبت زایمان ارتباط معنی داری وجود ندارد که خود تأکیدی دوباره بر اهمیت نقش لاکتوفرین در ایمنی بخشی به نوزادان در روزهای اولیه زندگی است.

**واژه‌های کلیدی:** لاکتوفرین، شیر مادر، آغوز

\* نویسنده مسئول:

علیرضا صالحی نوده؛

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی

تهران

Email : arsen51@yahoo.com

- دریافت مقاله: مرداد ۸۷ - پذیرش مقاله: مهر ۸۷

## مقدمه

نتایج تحقیقات مختلف به خوبی نشان داده است که تغذیه با شیر مادر از ابتلا به برخی از بیماری‌های عفونی جلوگیری می‌کند (۱-۲). به عنوان مثال آلودگی‌های باکتریایی بندرت در گلوئی نوزادانی که از

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد ایمنولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۲</sup> استاد گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۳</sup> عضو هیئت علمی گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۴</sup> کارشناس آمار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۵</sup> دکترای داروسازی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

<sup>۶</sup> کارشناس ارشد انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

شیر است. اثر ضد باکتریایی لاکتوفرین ناشی از جذب آهن محیط است که برای رشد باکتریها بشدت ضروریست (۱۳). از سوی دیگر لاکتوفرین فقط در پستان‌های سالم و تومورهای خوش خیم پستان دیده می‌شود در حالیکه در سرطان پستان (کاسینوما) به هیچ وجه دیده نمی‌شود. به همین دلیل لاکتوفرین بعنوان یک مارکر بسیار قوی برای تومورهای خوش خیم در زنان شیرده به شمار می‌رود (۱۵-۱۴).

حال با توجه به نقش مهم لاکتوفرین بعنوان یک عامل مهم ایمنی بخش برای کودکان شیر خوار و همچنین بعنوان یک مارکر مهم برای تشخیص تومورهای بدخیم پستان زنان شیرده، تعیین مقدار طبیعی آن در شیر بسیار ضروری است تا بدین وسیله تغییراتی را که بر اثر سوء تغذیه یا بیماری بوجود می‌آید با مقایسه با مقادیر طبیعی تعیین و ارزیابی نمود.

### روش بررسی

نمونه‌های شیر از مادران شیرده با تنظیم پرسشنامه‌ای حاوی نام و نام خانوادگی، سن، نوبت زایمان، تعداد روزهای پس از زایمان و تاریخ نمونه‌گیری و از مادران شیرده و مادرانی که جهت واکسیناسیون اطفال خود به مرکز درمانی شهید آیت، بیمارستان شهید دستغیب، بیمارستان الوند واقع در شهرستان تهران و قم مراجعه کرده بودند جمع‌آوری گردید. هر مادر ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر شیر خود را به وسیله دست دوشیده و در شیشه‌های مارکارتنی یا Universal Container جمع‌آوری کرد. این نمونه‌ها بلافاصله در دمای ۴ درجه سانتیگراد زیر صفر به محل انجام آزمایش حمل شد و پس از ذوب شدن در دمای آزمایشگاه به منظور جدا سازی چربی شیر در ۱۵۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ برای اندازه گیری مقدار لاکتوفرین موجود در نمونه‌ها از روش Single Radial Immuno Diffusion و با استفاده از پلیت‌های

شیر مادر تغذیه می‌کنند یافت می‌شود، در حالی که آلودگی‌های باکتریایی در گلوئی نوزادانی که کاملاً با شیر غیر مادر تغذیه می‌شوند به فراوانی دیده می‌شود زیرا آنتی بادیها و لاکتوفرین موجود در شیر و آغوز مانع رشد باکتریها می‌شود (۳). عفونت خونی، بیماریهای عفونی ریه و گوش دردهای چرکی در نوزادانی که از شیر مادر تغذیه می‌شوند کمتر دیده می‌شود و از سوی دیگر در برابر ویروسهای اوریون، آنفولانزا، و ابله نسبت به سایر نوزادان مقاومت بیشتری نشان می‌دهند (۵-۴). ایمونوگلوبولین A موجود در شیر مادر از طریق غیر فعال کردن روتا ویروس‌ها نوزادان را در مقابل ابتلا به اسهال و ویروس محافظت می‌کند (۶). مهم ترین مواد ایمنی بخش شیر مادر عبارتند از: برخی ایمونوگلوبولین‌ها، ویتامین B<sub>12</sub> متصل به پروتئین، انترفرون، لاکتو پراکسیداز، لیزوزیم، اسید نور آمینیک و لاکتوفرین (۱۰-۷). لاکتوفرین گلیکوپروتئینی است که با دو یون آهن و دو ملکول بی کربنات همراه است. این پروتئین برای نخستین بار در سال ۱۹۵۱ از شیر مادر جدا شد (۱۱). لاکتوفرین علاوه بر شیر مادر در بافتها و ترشحات مختلفی نظیر سرم، اشک، بزاق، صفرا، مایع منی، مایع واژینال و گرانولهای ثانویه نوتروفیلها نیز دیده می‌شود (۱۲). البته بیشترین غلظت آن در شیر است که توسط نوتروفیلها و سلولهای اپی تلیال ساخته شده و به داخل شیر ترشح می‌شود (۸). در خصوص خواص ضد میکروبی لاکتوفرین مطالعات بسیار زیادی تاکنون صورت گرفته است که همگی بیانگر نقش غیر قابل انکار این پروتئین در مهار رشد میکروبهاست. بعنوان مثال، رشد کلی باسیل در شیر انسان در ۱۰ ساعت نخست از مخلوط شدن با آن بسیار آهسته است، در حالیکه این اثر ظرف ۲۴ ساعت از بین می‌رود. فاز باکتریواستاتیک بواسطه اضافه کردن آهن بلافاصله از بین می‌رود که این اثر بواسطه لاکتوفرین موجود در

غلظت بر حسب میلی گرم در لیتر بود. پس از ترسیم منحنی و بدست آوردن منحنی استاندارد غلظت ها خوانده و در ضریب رقت ضرب می شد. بدین ترتیب مقدار غلظت لاکتوفیرین در هر نمونه محاسبه می گردید. برای انجام محاسبات آماری ابتدا داده های بدست آمده از پرسشنامه ها دسته بندی شد. برای این کار جداولی بر اساس نوبت زایمان، سن و روزهای پس از زایمان تهیه و میانگین غلظت و انحراف معیار آنها محاسبه گردید و سپس از آزمون  $t$  برای یافتن هرگونه اختلاف معنی دار استفاده شد.

### یافته ها

محاسبات آماری انجام شده نشان داد میانگین غلظت لاکتوفیرین در شیر بر حسب گرم در لیتر با متغیر سن مادران با اطمینان بیش از ۹۵ درصد اختلاف معنی داری نشان نمی دهد (جدول ۱). همچنین این میانگین با متغیر نوبت زایمان مادران با اطمینان بیش از ۹۵٪ اختلاف معنی داری نشان داد (جدول ۲) و بالاخره نشان داده شد میانگین غلظت لاکتوفیرین در شیر بر حسب گرم در لیتر با متغیر تعداد روزهای پس از زایمان با اطمینان بیش از ۹۵ درصد اختلاف دارد. این موضوع نشان می دهد که غلظت لاکتوفیرین بستگی به تعداد روزهای پس از زایمان دارد و بتدریج پس از زایمان کاهش می یابد (جدول ۳).

LC-Rpratigen-Lactoferrin شرکت بهرینگ استفاده شد (۱۶). از آنجائیکه محدوده قابل آزمایش در این پلیت ها ۴۵-۶/۵ میلی گرم در لیتر است و مقدار لاکتوفیرین در شیر حد اقل یک گرم در لیتر است لذا در وحله اول نمونه ها را به نسبت ۱ به ۳۰ با نرمال سالین رقیق کرده پس از رقیق کردن محلول مورد نظر بوسیله ورتکس هموژنیزه می شد. استاندارد لاکتوفیرین که توسط شرکت بهرینگ تهیه شده بود حاوی ۳۵ میلی گرم در لیتر لاکتوفیرین بود که از آن سه رقت یک به یک، یک به دو و یک به چهار تهیه شد. برای انجام آزمایش ابتدا سرپوش آلومینیومی را باز کرده و به مدت ۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه باز گذاشته می شد، سپس بوسیله سمپلر ۲۰ میکرولیتر از ۳ نمونه استاندارد در حفره های ۳ تا ۱۰ ریخته شد و به همین روش بقیه حفره ها از نمونه ها پر می شد. بیست دقیقه بعد بیست میکرولیتر از نمونه ها در حفره ها ریخته شد و بعد از ۷۲ ساعت قطر دایره های رسوبی خوانده می شد. در مواردی که بدلیل رنگی بودن پلیت و کم رنگ بودن هاله ها اندازه گیری قطرمیسر نبود، برای بار دوم نمونه ها با رقت ۱ به ۶۰ یا ۱ به ۱۲۰ رقیق شده و برای آزمایش مجدد بکار می رفت. برای محاسبه میزان لاکتوفیرین ابتدا منحنی استاندارد ترسیم شد. در این منحنی خط عمودی نشان دهنده مجذور قطر به میلی متر مربع و خط افقی نشان دهنده

جدول ۱: میانگین غلظت لاکتوفیرین بر حسب گرم بر لیتر نسبت به سن مادر

سن مادر	تعداد	میانگین	انحراف معیار	مینیمم	ماکزیمم
۱۵-۱۹	۱۴	۱/۹۲	۱/۱۷	۰/۶۹	۳/۴
۲۰-۲۴	۳۳	۱/۹۲	۱/۱۹	۰/۶۹	۴/۹
۲۵-۲۹	۲۷	۱/۶۴	۰/۹۷	۰/۷۴	۳/۶
۳۰-۳۴	۱۸	۲/۲۹	۱/۱۸	۰/۷۱	۵/۴
۳۵-۳۹	۱۲	۲/۰۲	۱/۳	۰/۶۶	۵/۲۶

جدول ۲: میانگین غلظت لاکتوفرین بر حسب گرم بر لیتر نسبت به نوبت زایمان

نوبت زایمان	تعداد	میانگین	انحراف معیار	مینیمم	ماکزیمم
اول	۶	۴/۲۹	۰/۴۶	۴	۵/۲۶
دوم	۳۱	۱/۷۷	۱/۰۴	۰/۴۹	۴/۵
سوم	۱۷	۲/۲۷	۱/۲۴	۱/۰۵	۵/۴
چهارم	۱۳	۲/۰۳	۱/۵۱	۰/۷۴	۵/۲۶
پنجم	۸	۱/۷۷۵	۱/۰۷	۰/۸۳	۳/۹۵
ششم به بالا	۸	۱/۸۵۵	۱/۰۶	۰/۶۶	۳/۸

جدول ۳: میانگین غلظت لاکتوفرین بر حسب گرم بر لیتر نسبت به روزهای پس از زایمان

روزهای پس از زایمان	تعداد	میانگین	انحراف معیار	مینیمم	ماکزیمم
آغوز ۲-۵	۶	۴/۲۹	۰/۴۶	۴	۵/۲۶
شیر اولیه ۱۰-۶	۱۰	۳/۷۹۵	۰/۶۸	۳	۵/۴
شیر رسیده ۶۰-۱۱	۲۲	۲/۴۵	۰/۶۶	۱/۷	۳/۸
شیر رسیده ۲۱۰-۶۱	۳۴	۱/۵۱	۰/۶۹	۰/۶۹	۳/۱۵
شیر رسیده ۲۱۰ روز به بالا	۲۴	۰/۹	۰/۲۲	۰/۴۹	۱/۴

## بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام این مطالعه اندازه‌گیری غلظت لاکتوفرین در شیر به روش SRID در برابر متغیرهایی نظیر سن مادر، نوبت زایمان و روزهای پس از زایمان بود. نتایج حاصل از انجام آزمایشات و بررسی‌های آماری نشان داد سن مادر و نوبت زایمان تاثیری در غلظت لاکتوفرین موجود در شیر مادران ندارد.

این یافته می‌تواند به خوبی اهمیت نقش لاکتوفرین را بعنوان یک عامل مهم در جلوگیری از ابتلای نوزادان به عفونت نشان دهد زیرا سلول‌های سازنده لاکتوفرین فارغ از عوامل یاد شده وظیفه خود را به انجام می‌رسانند. از سوی دیگر نتایج بدست آمده از آزمایشات و محاسبات آماری که برای یافتن ارتباط میان روزهای پس از زایمان و غلظت لاکتوفرین شیر صورت گرفت نشان داد که بیشترین مقدار لاکتوفرین

در کلوستروم (آغوز) موجود است، شیر اولیه (شیر روزهای ششم تا دهم پس از زایمان) نیز حاوی غلظت بالایی از لاکتوفرین بوده و پس از آن این مقدار بشدت کاهش می‌یابد بطوریکه در اواخر دوران شیر دهی مقدار آن بسیار ناچیز خواهد بود. حال با توجه به نقش مهار کننده رشد بسیاری از باکتریها که لاکتوفرین دارد می‌توان به اهمیت تغذیه با شیر مادر بویژه در روزهای اولیه زندگی نوزاد پی برد. از طرفی باید به خاطر داشته باشیم با وجود کاهش شدید غلظت لاکتوفرین با بزرگتر شدن نوزاد همچنان اثر باکتریو استاتیکی آن حفظ می‌شود. به همین دلیل از آنجائیکه مصرف دوزهای بالای آهن به صورت خوراکی و یا تزریقی با اشباع لاکتوفرین از آهن، مانع اثر ضد میکروبی آن می‌شوند، پیشنهاد می‌کنیم از

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب قدر دانی خود را از همکاری صمیمانه مادرانی که داوطلبانه محققین را در انجام نمونه گیری یاری کردند اعلام می‌دارند. همچنین از حسن توجه و همکاری مراکز درمانی یاد شده و بویژه معاونت پژوهشی دانشکده‌های داروسازی و بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران که زمینه انجام این تحقیق را بوجود آوردند تشکر می‌نمایند.

تجویز دوزهای بالای آهن مگر در حالت کمبود شدید آهن خودداری شود.

هرچند مطالعه ما معیاری برای غلظت لاکتوفیرین شیر در بیماریهای مختلف نشان نمی‌دهد ولی راه را برای مطالعات بیشتر بر روی این گلیکوپروتئین باز می‌گذارد، تا شاید با اندازه‌گیری غلظت آن در بیماریهای مختلف و مقایسه آن با غلظت‌های نرمال نتایجی برای تستهای آزمایشگاهی بدست آید.

## منابع

1. Mathew JL. Effect of Maternal antibiotics in breast feeding infants. Post grad Med J 2004 Apr ; 80(942):196-200.
2. Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T, Facimelli B, Orazio G. Human Milk oligosaccharides inhibit the adhesion to Caco-Z cells of diarrheal pathogens :E coli ,vibrio cholerae.
3. Gartmer LM, Mortan J, Lawrence RA, Eidelman AI. Breast-feeding and the use of human milk. Pediatrics 2005 Feb ; 115(2):495-506.
4. Kazemi A. The comparison of Haemophilus influenza in the throat of healthy infants with different feeding methods. Asia Pac J clin Nut 2004 ; 13: 5112[Article in Persian].
5. Sakuma T. Infant influenza. Acta Pediatr Jun 1997 Dec; 39(6): 66-75.
6. Morrow AL, Rangel MJ . Human milk protection against infectious diarrhea : implications for prevention and clinical care. Semin Pediatr Infect Dis 2004 Oct ; 15(4): 221-8 .
7. Field CJ. The immunological Components of human milk and their effect on immune development in infants . J Nut 2005 Jan; 135(1):1-4 .
8. Hanson L, Silfverdal SA, Zaman S, Olcen P, Telemo E. the immunological role of breast feeding pediatr . Allergy Immunol 2001 ; 14:15-9.
9. Chen Hy, Allen JC. Human milk antibacterial factors : the effect of temperature on defense systems. Adv Exp Med Biol 2001; 501:341-8.
10. Doitchinova A. titer of antiviral antibodies in human milk and sErum. Acta pediatr 1994 Jun ; 86(6): 685.
11. Word pp, Conneely OM .Lactoferrin : role in iron homeostasis and host defense against microbial infection. Bimetal 2004 Jun ; 17(13): 203-8 .
12. Brent K, Walker WA .Human milk and response of intestinal epithelium to infection. Adv Exp Med Biol 2001; 501:11-30 .
13. Brock JH, Maureen G, Deacon AG. Role of antibody and entrobactin in controlling growth of E-coli. Infect Immun 1983; 40: 453-8.

14. Campbell T, Skilton RA ,Graham MD , Luqmani YA .Isolation of a lactoferrin in tranferrin cDNA clon and its expression in human brfeast cancer. Br J Cancer 1992 Jan; 65(1):19-26.
15. Rossiello R, Giordano GG. Distribution of ferrintin ,Transferrin and lactoferrin in Breast Carcinoma tissue. J Clin Pathol 1984; 37: 51-5.
16. Donangelo CM, Trugo NM, Da-Silva VL. Lactoferrin levels and unsaturated iron –binding capacity in colostroum of Brazilian women of tow socioeconomic levels . Braz J Med Bid Res 1991; 24(9): 889-93.