

## De antioxidatieve capaciteit van de prime.



A.M. Draaisma, EKP  
Leids Universitair  
Medisch Centrum,  
Leiden.

In 1996 afgestudeerd als klinisch perfusionist met de scriptie "gemodificeerde ultrafiltratie na cardiopulmonaire bypass bij kinderen."

### INLEIDING

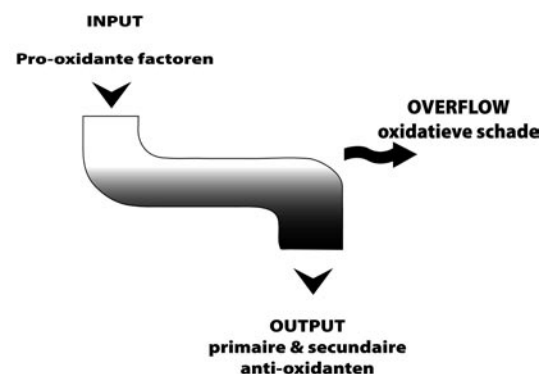
Bescherming tegen radicalen wordt geboden door twee elkaar aanvullende systemen: het primaire of preventieve antioxidatieve systeem en het secundaire of kettingbrekende antioxidatieve systeem. De primaire antioxidanten zijn te onderscheiden in enzymen zoals bijvoorbeeld superoxide dismutase en catalase, en eiwitten zoals ceruloplasmine en transferrine. De primaire antioxidanten zorgen dat de hoeveelheid radicalen die het systeem binnen komen, beperkt worden. De enzymen vinden we alleen intracellulair, de eiwitten zowel intra- als extracellulair.

Het secundaire antioxidanten systeem wordt gevormd door een heterogene groep van hoofdzakelijk kleine moleculen waaronder vitamine C en E, uric acid en sulfhydryl groepen. De antioxidatieve actie van de secundaire antioxidanten is gebaseerd op het vermogen om door interne verschuivingen het nieuw gevormde radicaal te stabiliseren en de vrije radicale kettingreactie te stoppen.

### RADICALEN

Radicalen, of radical oxygen species (ROS) worden continue gevormd en weggevangen, dit is een proces in evenwicht. Pathologische omstandigheden kunnen dit evenwicht verstoren waardoor er een overmaat aan pro-oxidanten ontstaat (fig. 1). Als input zien we radicalen, pro-oxidanten welke zijn geproduceerd via verschillende wegen. Bijvoorbeeld, hypoxie, geactiveerde leukocyten, vrije metalen en Hb/heme. De output zijn de anti-oxidante enzymen, eiwitten en vitamines die reageren met de gevormde radicalen waarbij de reactiviteit van deze radicalen vermindert wordt. Overflow ontstaat wanneer er een verhoogde productie dus

input en / of een verlaagde verwijdering of output van radicalen is, wat resulteert in een verhoogd niveau van radicalen en daarbij een overflow van het model. Met als resultaat oxidatieve schade aan lipiden, eiwitten en DNA.

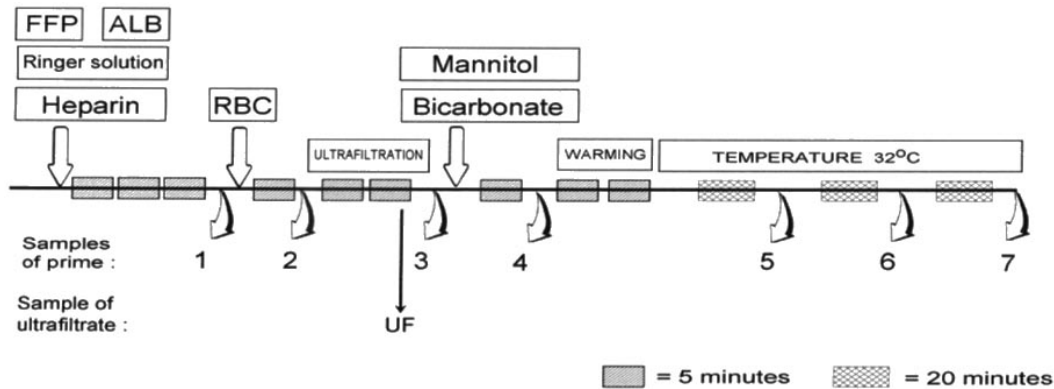


figuur 1: Input en output model reactive oxygen species

Pyles en collega's (1995) lieten zien dat de antioxidatieve capaciteit daalde na cardiopulmonale bypass (CPB) bij kinderen. Onduidelijk was of dit het gevolg was van hemodilutie of door het verbruik van antioxidanten tijdens CPB. Het is bekend dat neonaten een lage antioxidatieve capaciteit hebben en een lage ijzer en Hb/heme bindings capaciteit in vergelijking tot oudere kinderen en volwassenen. Een prime met een hoge antioxidatieve capaciteit en een hoge ijzer en Hb/heme bindingscapaciteit zou de oxidatieve schade tijdens CPB kunnen verminderen.

### ONDERZOEK

Wij onderzochten de antioxidatieve capaciteit van twee prime's, gebaseerd op humane albumine, de standaard prime in ons ziekenhuis, of fresh frozen plasma (FFP), omdat bekend is dat FFP, verkregen van volwassen donoren, een hogere ijzer bindingscapaciteit heeft dan albumine.



figuur 2. Sample schema

Tijdens tien verschillende sessies werd een Dideco D901 bypass systeem gepriemd. Vijf primes gebaseerd op humane albumine en vijf primes gebaseerd op FFP. Op verschillende momenten werden er samples afgenomen (fig. 2).

Voor het meten van de totale antioxidativiteit werd gebruik gemaakt van de total radical antioxidant parameter (TRAP) en de the ferric reducing ability of plasma (FRAP).

Als individuele antioxidanten werd vitamine C, SH groepen en Uric Acid bepaald.

Bij hemolyse van erythrocyten komen de pro-oxidanten vrij ijzer (NPBI) en Hb/heme vrij. Ook deze werden bepaald.

## RESULTATEN

Zowel in de ALB prime als in de FFP prime werd geen TRAP gedetecteerd. De FRAP van de ALB prime was hoger dan de FRAP van de FFP prime maar dit verschil was niet significant. Ook het ultrafiltraat van beide primes had een FRAP waarde. De FRAP nam niet toe na ultrafiltratie of toevoeging van mannitol.

Vitamine C was niet te detecteren in de albumine prime. De gemiddelde vitamine C concentratie in de FFP prime was in de clear prime  $8,86 \pm 3,15$  verlaagde tijdens het opwarmen van de prime en bereikte een eind concentratie van  $2,78 \pm 0,37$ . In het ultrafiltraat werd vitamine C in dezelfde concentratie gevonden als in de prime. Dit betekent dat de totale hoeveelheid vitamine C tijdens de ultrafiltratie ver-

laagd werd van 1,04 mg naar 0,57 mg en tijdens het opwarmen verder verlaagde naar 0,18 mg.

In de albumine prime werden de SH-groepen in een concentratie van  $315,8 \pm 10,9$   $\mu\text{mol/l}$  gevonden. De sulfhydryl/totaal eiwit ratio was  $5,53 \pm 0,77$ . In de FFP prime was de concentratie  $111,8 \pm 15,2$  en de ratio hier was  $5,70 \pm 1,19$ . SH groepen werden niet gevonden in het ultrafiltraat. Uric acid werd gevonden in de zeer lage concentratie van 0,02 in de albumine prime en in de FFP prime van 0,04 mmol/l. Uric Acid werd pas gemeten na toevoegen van de erythrocyten in de albumine prime. In de FFP clear prime werd wel uric acid aangetroffen. Ook in het ultrafiltraat werd uric acid gevonden.

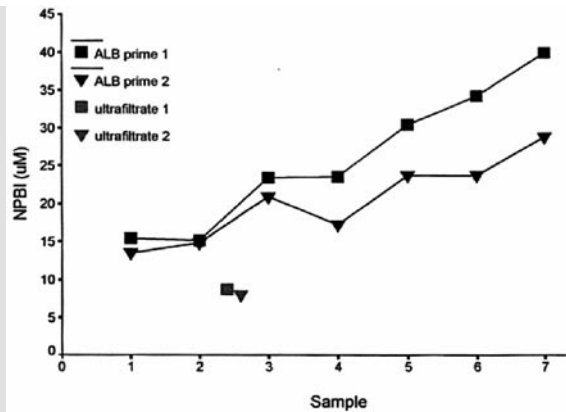
Het totaal eiwit in de albumine prime bedroeg  $62 \pm 2$  g/l en in de FFP prime  $18,4 \pm 0,9$ . 55 tot 60% hiervan was albumine.

In de FFP prime werd in geen enkel sample NPBI gevonden. In de albumine prime werd in elk sample NPBI gevonden met een eind concentratie van  $26,0 \pm 8,6$  (fig. 3). Ook het ultrafiltraat van de albumine prime bevatte NPBI.

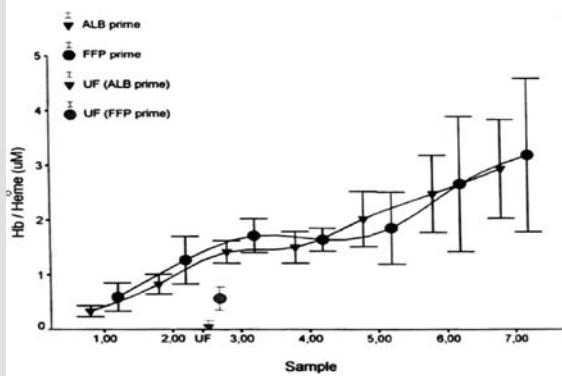
Hb/heme werd gevonden in alle samples behalve in het ultrafiltraat van de albumine prime (fig. 4).

## CONCLUSIE

De conclusie is dat de totale antioxidativiteit van de prime laag is en dat mannitol geen verhoging geeft van de totale anti-



figuur 3. metingen van NPBI tijdens het primen van twee geselecteerde albumine primes. Samples als in figuur 2.



figuur 4. Metingen van vrij Hb/heme tijdens het primen van de albumine en FFP primes. Samples als in figuur 2.

oxidativiteit. Tijdens de prime procedure zijn de erythrocyten een bron van de pro-oxidanten NPBI en Hb/heme. FFP was in staat om, ondanks de zeer lage concentraties transferrine en ceruloplasmine, dit NPBI te binden.

Tijdens ultrafiltratie worden antioxidan-

ten en pro-oxidanten verwijderd, ondanks het verlies van antioxidanten in het ultrafiltraat wordt de totale antioxidativiteit echter niet verder verlaagt.

Om te benadrukken welke dilutie veranderingen in de antioxidativiteit kunnen ontstaan, hebben we de normale plasma antioxidativiteit van babies en volwassenen vergeleken met de concentraties die we gevonden hebben in de prime (tabel 1). Deze tabel laat zien dat de vragen die we ons gesteld hadden na de publicatie van Pyles voor een deel beantwoord zijn. Dilutie is een belangrijke oorzaak van de daling van de totale antioxidativiteit na CPB.

Complete beschrijving van het onderzoek te vinden in:

1. JS Molicki MD, AM Draaisma BS, EKP, N Verbeet, R Munneke, HA Huysmans MD, PhD, MG Hazekamp MD, PhD, HM Berger FRCP, PhD. Prime solutions for cardiopulmonary bypass in neonates: antioxidant capacity of prime based on albumin or fresh frozen plasma. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001 Sep;122(3):449-56

2. AM Draaisma BS, EKP, JS Molicki MD, N Verbeet, R Munneke, HA Huysmans MD PhD, HM Berger FRCP, PhD, MG Hazekamp MD, PhD. Increasing the antioxidative capacity of neonatal cardiopulmonary bypass prime solution: an in vitro study. *Perfusion* 2003 Nov;18(6):357-62

	Term Babies	Adults	ALB prime	FFP prime
Uric Acid	317 ± 66	285 ± 55	0,02 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Vitamin C	130 ± 55	62 ± 16	#	2,78 ± 0,37
Sulphydryl groups	422 ± 80	496 ± 57	315,8 ± 10,9	111,8 ± 15,2

Tabel 1. Plasma concentraties (umol/l) van de verschillende plasma anti-oxidanten in vergelijking met de concentraties in de primes.



SORIN GROUP:

AT THE HEART

OF MEDICAL TECHNOLOGY



SORIN GROUP NEDERLAND B.V.  
Bezoekadres: Paasheuvelweg 1  
Postbus 12060  
1100 AB Amsterdam

T +31 (0)20 311 32 11  
F +31 (0)20 311 32 19  
info@sorin.nl  
www.sorin.com