

(اندازه گیری فسفولیپیدهای HDL_c HDL₂ و HDL₃)

دکتر محمود دوستی* دکتر اسماعیل علمی آخونی*

وسایل و روش ها

نمونه گرفته شده (خون) در لوله حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (1mg/ml) و در حضور ایتور سدیم (۰/۰۵٪) تهیه شده است.

جداسازی HDL_c در حضور هیپاریسن (۵۰۰۰ u/ml) - MnCl₂ (۶).

جداسازی اجزاء HDL_c در حضور سولفات دکستران (وزن مولکولی ۱۵/۰۰۰) (۷).

اندازه گیری فسفولیپیدهای HDL_c و اجزاء آن بوسیله روش Van-Gent (۸).

جداسازی HDL بوسیله پلی آنیونهای کاتیونی دی والان، لیپوپروتئینهای سبک Chyl, VLDL و LDL بوسیله مخلوط هیپارین - MnCl₂ رسوب می نمایند (لیپو- پروتئینهای دارای وزن مخصوصی کمتر از ۱/۰۶۳ گرم در میلی لیتر). اجزاء HDL_c بوسیله سولفات دکستران از همدیگر جدا شده اند.

مطالعات چند ساله اخیر نشان داده است که یک رابطه کاملاً "عکس بین مقدار پلاسمائی HDL_c و High-Density-Lipoproteins و آترواسکلروز (Atherosclerosis) در انسان وجود دارد (۱، ۲) و افزایش مقدار HDL_c سرم باعث میشود که انسان در مقابل آترواسکلروز مقاومت داشته باشد. اجزاء HDL_c (HDL نام) بوسیله سانتریفوژ تجزیه‌ای نشان داده است که دارای دو جزء کلی: HDL₂ با وزن مخصوص ۱/۱۲۵ - ۱/۱۲۵ g/ml و HDL₃ با وزن مخصوص ۱/۲۱۰ - ۱/۱۲۵ g/ml میباشد. مقدار دو جزء HDL_c (HDL₂ و HDL₃) در افراد مبتلا به ضایعات قلبی و عروقی کمتر از افراد طبیعی میباشد و بخصوص HDL₂ کاهش قابل توجهی کرده است (۳، ۴).

در این نوشتار، اندازه گیری فسفولیپیدهای (PL) موجود در HDL_c و اجزاء آن مورد مطالعه قرار گرفته است.

* دانشجویان گروه آموزشی بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

روش آزمایش:

را جدا کرده و تیخیر می‌کردد. ماده باقیمانده را در الکل ۹۶ درجه حل نموده و به آن مخلوط رنگی از مولیبدات آمونیوم، سولفات هیدرازین ۱/۵ میلی لیتر افزوده و ۱۵ دقیقه در حمام جوش قرار می‌دهیم. پس از آن از خلال (بوتال ۱ حجم + دی متیل سولفوکسید ۱ حجم) ۱/۵ میلی لیتر افزوده و پس از سرد شدن در طول موج ۷۸۰ nm خوانده میشود.

نمونه

نتایج حاصله از ۸۲ نفر (مرد) که لیپیدهای (بخصوص فسفولیپیدهای) آنها طبیعی بوده و نیز ۳۵ نفر که مبتلا به آترواسکلروز بدست آمده است.

نتایج

بوسیله این روش نتایج حاصله در جدول ۱ جمع آوری شده است. نتایج نشان میدهد که مقدار فسفولیپید تام PL در HDL_c نام (HDL_c) در جمعیت نسبت به آترواسکلروز کمی کاهش یافته است (۱۴٪-) و آنچه قابل توجه است کاهش فراوان فسفولیپید موجود در HDL₂ میباشد (۳۳٪-). لذا میتوان نتیجه گرفت اندازه گیری HDL₂ دارای ارزش کلینیکی زیادتری از خود HDL_c نام و HDL₃ میباشد. با مطالعاتی که بر روی کلسترل - HDL_c و اجزای آن و همچنین فسفولیپید HDL_c و اجزای آن صورت

پلاسمای همپارین - MnCl₂ ۱ میلی لیتر
 ۵/۱ میلی لیتر
 مخلوط کرده. ۱۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه، بمدت ۳۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه در ۴°C صاف شده از سانتریفوژ را جدا کرده و دو قسمت می‌نمائیم. یک قسمت برای اندازه گیری HDL_c نام (HDL_c) و یک قسمت برای جدا سازی اجزای HDL_c که بصورت زیر انجام میشود:

صاف شده سانتریفوژ اول ۵/۵ میلی لیتر
 سولفات دکستران ۵/۵ میلی لیتر

مخلوط نموده. ۲۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه، ۳۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در ۴°C سانتریفوژ می‌نمائیم، صاف شده سانتریفوژ دوم حاوی HDL₃ میباشد.

بعد از جدا سازی HDL_c و HDL₃، اندازه گیری فسفولیپیدهای آنها بصورت زیر انجام میگردد:

پلاسمای ۵۰ میکرولیتر
 کفر فرم - منانول ۳ میلی لیتر

مخلوط نموده، بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده، صاف شده

جدول ۱ - تغییرات فسفولیپیدهای HDL_c, HDL₃ و HDL₂ در آترواسکلروز نسبت به افراد طبیعی

PL-HDL ₂ (g/l)	PL-HDL ₃ (g/l)	PL-HDL _c (g/l)	تعداد (نفر)	جمعیت
۰/۲۷ ± ۰/۱۹	۰/۵۱ ± ۰/۱۸	۰/۷۸ ± ۰/۲۸	۸۲	طبیعی
۰/۱۸ ± ۰/۱۰	۰/۵۰ ± ۰/۱۶	۰/۶۷ ± ۰/۱۹	۳۵	آترواسکلروز
- ۳۳٪	- ۲٪	- ۱۴٪		تفاوت دو جمعیت

(anti-risque) صحبت کرد (۹).

مطالعات زیادی که بر روی لیپوپروتئین ها صورت گرفته، نشان میدهد که این زیر واحد HDL_2 (HDL_2) دارای ارزش کلینیکی زیادی میباشد و لذا سعی در این است که بیشتر مطالعات بر روی HDL_2 صورت گیرد. از نقطه نظر متابولیسمی HDL_2 میباشد که انتقال کلسترول یافتها را بد به عهده دارد و با این عمل دفع کلسترول استریفیه را انجام میدهد (۱۰).

ضمناً از همکاری خانمها شیریندخت محتشم قراکزلو (کارشناس) و زرین توکلی (کمک تکنسین) بخش بیوشیمی که در این کار ما را یاری کرده‌اند، سپاسگزار میگردم.

گرفته، دریافته‌اند که آنچه با ارزش است اندازه گیری کلسترول است که بیشتر مورد نظر میباشد. و همانطور که میدانید فسفولیپیدها ترکیبات ساختمانی بوده، در صورتیکه کلسترول (استریفیه) یک ترکیب ذخیره‌ای میباشد.

بحث

نتایج بدست آمده در این تجربه نشان داد که اندازه گیری فسفولیپیدها در HDL_2 , HDL_1 و HDL_3 در مقایسه با کلسترول موجود در این نوع لیپوپروتئین، از ارزش زیادی برخوردار نیست (۴). ولی آنچه بدست میدهد این است که کلسترول فسفولیپیدها در مقایسه افراد طبیعی با مبتلایان به آترواسکلروز موازی هم بوده ولی با شدت کمتری است و همچنین نتیجه حاصل نشان داد که برای تشخیص مبتلایان به بیماریهای قلبی و عروقی باید از HDL_2 بیشتر به عنوان فاکتور ضد خطر

REFERENCES:

- 1-Betz.w.F J.Clin Inves 1985,76/575-585
- 2-Kantor.M.A. Metabolism 1984,33/454-457
- 3-Knott.T.J. Science 1985,230/37-42
- 4-Gidez.L.I. J.Lipid Res 1982,23/1206-1223
- 5-Polonovski .J.Pach.Biol 1983,31/225-234
- 6-Burstein.M. Atr.Lipid Res 1973,11,67-108
- 7-Gidez.L.I. Bethesda 1979,82,328-340
- 8-Van Gent.C.M.clin.chim Acta 1974,197-203
- 9-Kajiyama.G.J.of Medical Sciences
1981,30,175-182
- 10-Kostner.G.H. Adv.Lipid.Res 1983,20/1-43