مجله دانشکده پزشکی تهران

(اندازه گیری فسفولیپیدهای HDL_t HDL_2 و HDL_3)

دکتر محمود دوستی* دکتر اسماعیل علمی آخونی*

مطالعات چند ساله اخیر نشان داده است که یک رابطه کاملا" عکس بین مقدار پلاسمائی HDL یا High-Density-Lipoproteins و آترواسکلروز (Atherosclerosis) در انسان وجود دارد (۱، ۲و ۳). افزایش مقدار HDL سرم باعث میشود که انسان در مقابل آترواسکلروز مقاومت داشته باشد. اجزاء HDL_t (HDL تام) بوسیله سانتریفوژ تجزیه‌ای نشان داده است که دارای دوجزء کلی: HDL_2 با وزن مخصوص ۱/۱۲۵ g/ml – ۱/۰۶۳ و HDL_3 باوزن مخصوص ۱/۲۱۰ g/ml – ۱/۱۲۵ میباشد. مقدار دو جزء HDL_t (HDL_2 و HDL_3) در افراد مبتلا به ضایعات قلبی و عروقی کمتر از افراد طبیعی میباشد و بخصوص HDL_2 کاهش قابل توجهی کرده است (۴و۵).

دراین نوشتار، اندازه گیری فسفولیپیدهای (PL) موجود در HDL_t و اجزاء آن مورد مطالعه قرار گرفته‌است.

وسایل و روش ها

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

ـ جداسازی HDL_t، در حضور هپارین (۵۰۰۰ u/ml) – $Mncl_2$ (۶).

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

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

جداسازی HDL بوسیله پلی آنیونهای کاتیونی دی والان، لیپوپروتئینهای سبک VLDL, Chy و LDL بوسیله مخلوط هپارین – $Mncl_2$ رسوب می‌نمایند (لیپو – پروتئینهای دارای وزن مخصوصی کمتر از ۱/۰۶۳ گرم در میلی لیتر). اجزاء HDL_t بوسیله سولفات دکستران از همدیگر جدا شده اند.

* دانشیاران گروه آموزشی بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-02]

روش آزمایش :

پلاسما	۱ میلی لیتر
هپارین ــ $MnCl_2$	۰/۱ میلی لیتر

مخلوط کرده ، ۱۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه ، بمدت ۳۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه در $4^{\circ}C$ ، صاف شده از سانتریفوژ را جدا کرده و دو قسمت می‌نمائیم . یک قسمت برای اندازه گیری HDL_t تام (HDL_t) و یک قسمت برای جدا سازی اجزاء HDL_t که بصورت زیر انجام میشود :

صاف شده سانتریفوژ اول	۰/۵ میلی لیتر
سولفات دکستران	۰/۰۵ میلی لیتر

مخلوط نموده ، ۲۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه ، ۳۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دوردر $4^{\circ}C$ سانتریفوژمی‌نمائیم ،صاف شده‌سانتریفوژ دوم حاوی HDL_3 میباشد .

بعد از جداسازی HDL_t و HDL_3 ، اندازه گیری فسفو-لیپیدهای آنها بصورت زیر انجام میگیرد :

پلاسما	۵۰ میکرولیتر
کلرفرم ــ متانول	۳ میلی لیتر

مخلوط نموده ، بعداز ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده ، صاف شده را جدا کرده و تبخیر میکردد . ماده باقیمانده را در الکل ۹۶ درجه حل نموده و به آن مخلوط رنگی‌از مولیبدات آمونیوم ، سولفات هیدرازین ۱/۵ میلی لیتر افزوده و ۱۵ دقیقه در حمام جوش قرار میدهیم ، پس از آن از حلال (بوتانل ۱ حجم + دی متیل سولفوکسید ۱ حجم) ۱/۵ میلی لیترافزوده وپس از سرد شدن در طول موج ۷۸۰ nm خوانده میشود .

نمونه

نتایج حاصله از ۸۲ نفر (مرد) که لیپیدهای (بخصوص فسفولیپیدهای) آنها طبیعی بوده ونیز 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_t تام (HDL_t) در جمعیت طبیعی نسبت به آترواسکلروز کمی کاهش یافته است (۱۴%ــ) وآنچه قابل توجه است کاهش فراوان فسفولیپید موجود در HDL_2 میباشد (۳۳%ــ) .لذا میتوان نتیجه گرفت اندازه گیری HDL_2 دارای‌ارزش کلینیکی زیادتری از خود HDL_t تام و HDL_3 میباشد . با مطالعاتی که بر روی گلسترل ــ HDL_t و اجزاء آن و همچنین‌فسفولیپید HDL_t و اجزاء آن صورت

جدول ۱ ــ تغییرات فسفولیپیدهای HDL_t ، HDL_3 و HDL_2 در آترواسکلروز نسبت به افراد طبیعی

جمعیت	تعداد (نفر)	$PL-HDL_t$ (g/l)	$PL-HDL_3$ (g/l)	$PL-HDL_2$ (g/l)
طبیعی	۸۲	۰/۷۸ ± ۰/۲۸	۰/۵۱ ± ۰/۱۸	۰/۲۷ ± ۰/۱۹
آترواسکلروز	۳۵	۰/۶۷ ± ۰/۱۹	۰/۵۰ ± ۰/۱۶	۰/۱۸ ± ۰/۱۰
تفاوت دو جمعیت		۱۴%ــ	۲%ــ	۳۳%ــ

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-02]

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

بحـــث

نتایج بدست آمده دراین تجربه نشان داد کـــه اندازه گیری فسفولیپیدها در HDL_c ,HDL_2 و HDL_3 در مقایسه با کلسترل موجود دراین نوع لیپوپروتئین ، از ارزش زیادی برخوردارنیست (۴) .ولی آنچه بدست میدهد این است که‌کلستر ل 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 بایـد از HDL_2 بیشتـر بـه عنـوان فـاکتـور ضـد خطـــر (anti-risque) صحبت کرد (۹) .

مطالعات زیادی که بر روی لیپوپروتئین ها صورت گرفته ، نشان میدهد که این زیر واحد HDL_c (HDL_2) دارای ارزش کلینیکی زیادی‌میباشد و لذا سعی در این است که بیشتر مطالعات بر روی HDL_2 صورت گیرد . از نقطه نظر متابولیسمی HDL_2 میباشد که انتقال کلسترل یافتها رابه کبد به عـهده داردو با این عمل دفع‌کلسترل استریفیه را انجام میدهد (۱۰) .

ضمنا " از همکاری خانمها شیرینـدخت محتشـــم فراکزلو (کارشناس) و زرین توکلی (کمک تکنسین) بخش بیوشیمی که دراین کار ما را یاری کرده‌اند ، سپاسگـــزاری میگردد .

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. Adr.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

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-02]