مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی چهاردهم، شماره‌ی ۵، صفحه‌های ۵۰۳ ـ ۴۹۸ (دی ۱۳۹۱)

مقاله‌ی پژوهشی

تاثیر sICAM-1 بر اکسیداسیون کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL و فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱؛ در شرایط in vitro

دکتر هاشم نیری[۱]، غلامعلی نادری[۲]، عادل عابدپور دهکردی[۳]، مریم بشتام[۴]، نرگس جعفری دینانی[۴]

۱) دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران، ۲) گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۳) گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور مرکز، مشهد، ۴) گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** اصفهان، فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، صندوق پستی: ۸۴۵۱۵/۱۵۵، دکتر هاشم نیری؛ e-mail: hnaieri@gmail.com

چکیده

مقدمه: ICAM-1 گلیکوپروتئینی است که نقش محوری در التهاب و اتصال منوسیت‌ها و اندوتلیوم ایفا می‌نماید. افزایش بیان آن در حضور کلسترول ـ LDL امکان تحریک سازوکارهای آتروژنی را از مسیر اتصال میان لیپوپروتئین و ICAM-1 مطرح می‌سازد. پژوهش حاضر با هدف بررسی این فرضیه، تاثیر ICAM-1 را بر اکسیداسیون کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL و فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ مورد بررسی قرار داد. مواد و روش‌ها: کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL سرم با روش اولتراسانتریفیوژ جداسازی و غلظت‌های ۲۵ و ۱۰۰ میکروگرم پروتئین بر میلی‌لیتر از آن‌ها در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1 (۰، ۲، ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر) تحت استرس اکسیداتیو (۵ میکرومولار مس) قرار گرفتند و کینتیک مربوط به تشکیل دی ان کنژوگه با اسپکتروفوتومتر، و تحرک الکتروفورتیک لیپوپروتیین‌های انکوبه با sICAM-1 با روش الکتروفورز تعیین شد. هم‌چنین، فعالیت آنزیم پاراکسوناز ۱ در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1 سنجش گردید. یافته‌ها: ماکزیمم سرعت اکسیداسیون کلسترول ـ LDL در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1 افزایش نشان داد (P<۰/۰۵) و تحرک الکتروفورتیک کلسترول ـ LDL در مجاورت sICAM-1 کاسته شد (٪۲۵ کاهش داشت). فعالیت سرم پاراکسونازی آنزیم PON-1 در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1 به ترتیب افزایش، و سپس کاهش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد sICAM-1 در غلظت‌های بالاتر از ۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر بر برخی شاخص‌های کینتیکی اکسیداسیون یعنی ماکزیمم سرعت اکسیداسیون کلسترول ـ LDL و نیز فعالیت آنزیم PON-1 تاثیرگذار می‌باشد و ممکن است از این راه نقشی در فرایند آتروژنز داشته باشد. پژوهش حاضر در کل از فرضیه‌ی دخالت ICAM-1 در فرایند آتروژنز از راه ارتباط مستقیم با لیپوپروتئین‌ها پشتیبانی می‌کند.

واژگان کلیدی: ICAM-1 ، LDL، HDL، Ox-LDL، پاراکسوناز-۱

دریافت مقاله: ۹۱/۱/۲۱ـ دریافت اصلاحیه: ۹۱/۴/۴ ـ پذیرش مقاله: ۹۱/۴/۲۵

مقدمه

ناهنجاری التهابی آترواسکلروز، عامل اصلی شکل‌گیری ضایعات فیبروزی و فیبرهای چربی‌دار در عروق و عمده‌ترین علت بروز بیماری‌های قلبی ـ عروقی (CVD) محسوب می‌شود.[۱] تاکنون سازوکارهای متعددی در بروز این ناهنجاری دخیل دانسته شده‌اند[۲] که از مهم‌ترین آن‌ها مجموعه واکنش‌هایی است که به اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها و به ویژه کلسترول ـ LDL می‌انجامد. کلسترول ـ LDL اکسید شده (ox-LDL) که فرآورده‌ی نهایی اکسیداسیون

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

LDL می‌باشد ترکیبی به شدت آتروژن بوده و از عوامل اصلی محرک واکنش‌های التهابی در سلول‌های آندوتلیال و القاگر ترشح فاکتورهایی به نام شاخص‌های التهابی از این سلول‌ها می‌باشد.[۳] در سال‌های اخیر پژوهش‌هایی با هدف شناسایی عوامل درگیر در سازوکارهای تعدیل‌سازی و به ویژه اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها صورت پذیرفته است.[۴] از جمله این عوامل بالقوه می‌توان به مارکرهای التهابی اشاره نمود که به نظر می‌رسد نقشی اساسی را در روند آتروژنز ایفا می‌نمایند.[۱]

مولوکول اتصالی بین سلولی-۱ (ICAM-1) که آن را با نام CD54 نیز می‌شناسند، مارکری التهابی با ساختار گلیکوپروتئینی است که در انسان به وسیله‌ی ژن ICAM1 کد می‌شود.[۶] این گلیکوپروتئین به طور مشخص روی سلول‌های اندوتلیال و نیز برخی سلول‌های سیستم ایمنی (لنفوسیت و ماکروفاژ) بیان شده و به طور مداوم اما در غلظت‌های کم در غشای این سلول‌ها همیشه حضور دارد. به محض تحریک این سلول‌ها به وسیله‌ی سیتوکین‌ها بیان ICAM-1 به شدت افزایش می‌یابد.[۷] هم‌چنین، برخی شواهد نشان می‌دهند کلسترول ـ LDL بیان ICAM-1 را از سلول‌های اندوتلیال افزایش می‌دهد.[۸] این افزایش به تغییر ویژگی‌های فیزیولوژی این سلول‌ها در راستای افزایش ظرفیت اتصالی می‌انجامد که می‌تواند فرایند آتروژنز را تحریک نماید.[۷] هم‌چنین، مشاهده شده یک فرم به شدت آتروژنیک کلسترول ـ LDL (c-LDL) نیز از راه تحریک بیان ICAM-1 از سلول‌های اندوتلیال، فرایند آتروژنیک اتصال منوسیت‌ها به این سلول‌ها را تسهیل می‌نماید.[۹]

یافته‌های اخیر مبنی بر نقش برخی شاخص‌های التهابی در فرایند اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها و چربی‌ها [۵] هم‌چنین ویژگی‌های متنوع و منحصر به فرد ساختاری و عملکردی ICAM-1 به ویژه در ارتباط با آتروژنز[۶،۸] امکان طرح این فرضیه را فراهم می‌کند که ICAM-1 نیز ممکن است از راه اتصال با لیپوپروتئین‌ها و تاثیرگذاری بر فرایندهای اکسیداسیون آن‌ها و یا به واسطه تاثیر بر عملکرد آنزیم‌های متصل به آن‌ها (مانند آنزیم آنتی‌آتروژنیک متصل به کلسترول ـ HDL (پاراکسونار-۱)؛(PON-1) بالقوه در فرایند آتروژنز دخالت داشته باشد. پژوهش in vitro حاضر با هدف بررسی فرضیه‌ی یاد شده، اثر غلظت‌های مختلف sICAM-1 را بر استعداد اکسیداسیون LDL و HDL و نیز فعالیت آنزیم پاراکسونار-۱ مورد بررسی قرار داد.

مواد و روش‌ها

خالص‌سازی کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL: به منظور جداسازی و تخلیص لیپوپروتئین‌های سرم، ابتدا در حدود ۱۲۰ میلی‌لیتر خون از یک شخص جوان سالم در حالت ناشتا (معاینه‌های بالینی توسط پزشک و آزمایش‌های کلینیکی شامل پروفایل لیپیدی و آنزیم‌های کبدی طبیعی) گرفته شد و پس از نیم ساعت به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و سرم آن جدا گردید. در ادامه بر اساس روش اصلاح شده‌ی Bronzert و با استفاده از دستگاه اولتراسانتریفوژ Beckman Coulter Optima L-100XP سانتریفوژ با شیب غلظت در دور rpm ۶۰۰۰۰ و دمای ۱۶ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام، و تحت پروتکل himac در فرایندی سه مرحله‌ای و در سه مدت به ترتیب ۶ و ۱۲ و۱۲ ساعت روی سرم استحصال شده انجام شد. به این ترتیب در پایان مرحله‌ی دوم کلسترول ـ LDL و در پایان مرحله‌ی سوم کلسترول ـ HDL به صورت کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL جداسازی شدند.[۱۰] سپس به منظور تخلیص نهایی این لیپوپروتئین‌ها و خارج ساختن موادی مانند EDTA (از منشا محلول‌های جداسازی لیپوپروتئین) که در هنگام اکسیداسیون ایجاد مشکل می‌کند سوپرناتانت‌های حاوی کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL دیالیز گردید. به این منظور پس از آماده‌سازی کیسه‌ی دیالیز براساس برنامه‌ی مربوطه، نمونه‌های LDL و HDL در کیسه‌های جداگانه ریخته شد و با استفاده از بافر فسفات سالین mM ۱۰ (PBS) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت عمل دیالیز قرار گرفتند (با هر ۸ ساعت تعویض بافر). بافر PBS (با غلظت فسفات سدیم ۱۰ میلی‌مولار، کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مولار و pH=۷/۴) تهیه گردید.[۱۱] لیپوپروتئین‌های تخلیص شده در آخر با سوکروز ۱۰٪ w/v مخلوط شدند.[۱۲]

در پایان با استفاده از روش لوری میزان پروتئین کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL بر حسب میکروگرم/میلی‌لیتر تعیین شد.[۱۳]

استعداد اکسیداسیون LDL و HDL با استفاده از روش استاندارد اسپکتروفوتومتری بر پایه‌ی مونیتور تشکیل دی‌ان‌های کنژوگه (CD) تعیین شد. دستگاه اسپکتروفوتومتر Shimadzu UV/Vis 3100 در طول موج ۲۳۴ نانومتر هم‌سو با روش پیشنهادی Esterbauer مورد استفاده قرار گرفت.[۱۴] به این ترتیب نمونه‌های کنترل حاوی غلظت نهایی به ترتیب

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

۲۵ میکروگرم/میلی‌لیتر و ۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از کلسترول ـ LDL و کلسترول ـ HDL در کووت‌های استریل کوارتز (۱میلی‌لیتری) تحت اکسیداسیون به واسطه‌ی کاتیون فلزی مس (۵ میکرومولار) در بافر PBS ۱۰ میلی‌مولار، pH=۷/۴ قرار گرفتند. سپس نمونه‌های آزمون که علاوه بر محتوای یاد شده در نمونه‌ی کنترل حاوی به ترتیب ۲ و ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر از مارکر التهابی sICAM-1 (خریداری شده از کمپانی Bender MedSystems) نیز بودند، مورد سنجش قرار گرفتند (تمام آزمایش‌ها ۲ بار تکرار شد). در نتیجه منحنی‌های مربوط بر اساس داده‌های به دست آمده رسم گردیدند.

با استفاده از روش استاندارد الکتروفورز آگارز (AGE) تحرک الکتروفورتیک لیپوپروتیین‌های انکوبه شده با sICAM-1 بررسی شد. الکتروفورز ژل آگارز (۱٪) در بافر باربیتال ۰/۰۵ مولار در ۹۰ ولت صورت گرفت. ژل در محلول فیکساتور شامل محلول متانول: آب: اسید استیک گلایسال (۶ : ۳ : ۱) به مدت ۱۵ دقیقه فیکس، ۱۵ دقیقه در آون۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک، و در نهایت باندهای لیپوپروتئینی با محلول رنگ‌آمیزی سودان سیاه (۷٪ w/v) رنگ‌آمیزی شد.[11]

فعالیت ارگونافسفات هیدرولازی یا همان پاراکسونازی آنزیم PON-1 با استفاده از محاسبه‌ی سرعت اولیه‌ی هیدرولیز سوبسترای پاراکسون به پارانیتروفنل تعیین می‌شود. به این منظور ابتدا بر اساس پروتکل Beltowski محلولی شامل ۱۰۰ میلی‌مولار از Tris-HCl و ۲ میلی‌مولار از CaCl2 در غلظت نهایی ۲ میلی‌مولار پاراکسون تهیه شد و pH آن روی ۸/۰ تنظیم گردید (مخلوط سنجش). نمونه‌هایی به ترتیب فاقد sICAM-1 (کنترل) و حاوی sICAM-1 (تست) در غلظت‌های نهایی به ترتیب ۰، ۲ و ۵ نانوگرم در میلی‌لیتر از این مارکر التهابی با استفاده از مخلوط سنجش یاد شده تهیه (حجم نهایی ۵۰۰ میکرولیتر)، و در نهایت با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از سرم (حاوی آنزیم) به این مخلوط در کووت (شرایط steady state) میزان تشکیل p-nitro phenol در طول موج ۴۱۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر مونیتور گردید (تمام آزمایش‌ها ۲ بار تکرار شد). در پایان با استفاده از فرمول زیر فعالیت سرم پاراکسونازی آنزیم PON-1 محاسبه گردید.[15]

فعالیت آنزیم پاراکسوناز = $\Delta A / T . F$

$F= (TV/SV) / \varepsilon 412$

(میکرولیتر) حجم کل = TV

(میکرولیتر) حجم نمونه = SV

تغییر در جذب = ΔA

(دقیقه) زمان = T

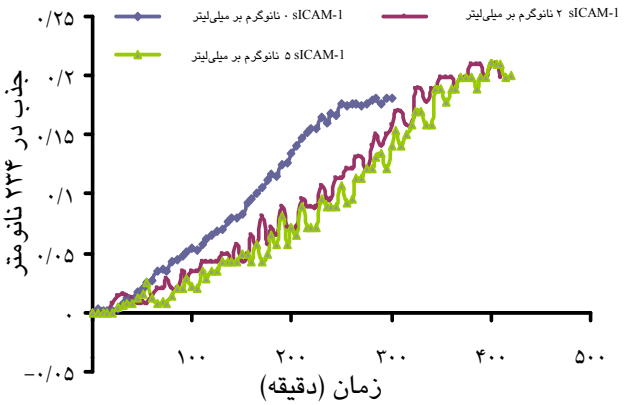
ضریب خاموشی مولار پاراکسوناز = $\varepsilon 412$

(بر مول در سانتی‌متر)=۰/۰۱۸۲۹

ضریب حساسیت برای ۱۰ سنجش مختلف فعالیت آنزیم پاراکسوناز ٪ ۱/۷۲ ؛ برای کلسترول ـ Lag time LDL ٪ ۳/۰۳ ؛ برای کلسترول ـ Lag time HDL ٪ ۳/۱۴ ؛ برای Vmax LDL ٪ ۱/۳۶؛ و برای Vmax HDL ٪ ۱/۵۷ محاسبه شد.

یافته‌ها

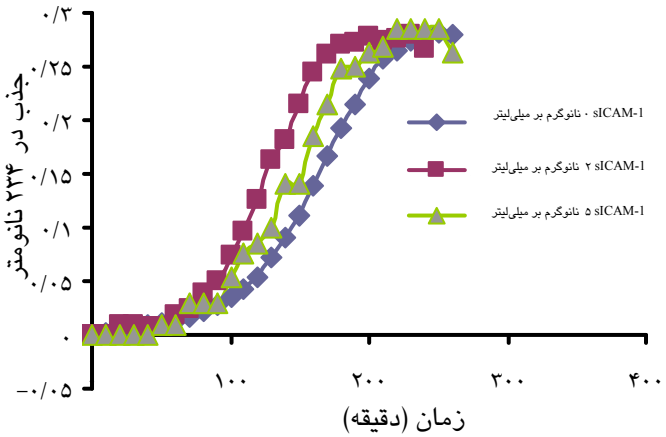
نمودار ۱ منحنی اکسیداسیون کلسترول ـ LDL در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1 را نشان می‌دهد. در مقایسه با نمونه‌ی کنترل با زمان فاز تاخیری (Lag time) برابر ۵±۱۲۰ دقیقه، Lag time اکسیداسیون کلسترول ـ LDL در حضور غلظت ۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر این مارکر التهابی به ۷/۵±۸۷/۵ دقیقه و در غلظت ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر به ۸±۱۰۲/۵ دقیقه رسید که تغییرات معنی‌داری محسوب نمی‌شوند (P<۰/۰۷). همچنین، سرعت ماکزیمم (Vmax) اکسیداسیون کلسترول ـ LDL در حضور غلظت‌های ۲ و ۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر sICAM-1 به ترتیب ۱/۵±۱۰۵/۲ نانومول بر دقیقه و ۵/۵±۱۲۵/۹ نانومول بر دقیقه می‌باشد که در مقایسه با نمونه‌ی کنترل با Vmax برابر با ۴/۱±۹۵ نانومول بر دقیقه به ترتیب افزایش به دست آمده غیرمعنی‌دار (P>۰/۲) و معنی‌دارمی‌باشد (P<۰/۰۵).



نمودار ۱- منحنی اکسیداسیون کلسترول ـ LDL در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1*. *مقادیر منحنی‌ها هر کدام میانگین دو بار تکرار هستند. آزمون آماری t برای مقایسه میان داده‌ها به کار رفت.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

از سوی دیگر میزان Lag time اکسیداسیون کلسترول ـ HDL در حضور غلظت‌های ۲ و ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر از ICAM-1 به ترتیب ۱۵۲/۵±۷ و ۱۵۷/۵±۸ دقیقه می‌باشد که نسبت به نمونه کنترل با Lag time برابر ۱۴۰±۵ دقیقه تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهند (P>۰/۱۸) (نمودار ۲).

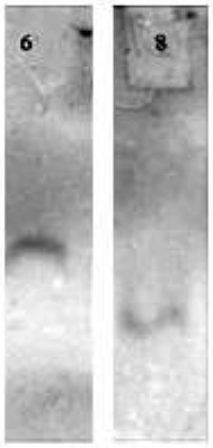


نمودار۲. منحنی اکسیداسیون کلسترول ـ HDL در حضور غلظت‌های مختلف sICAM-1*. *مقادیر منحنی‌ها هر کدام میانگین دو بار تکرار هستند. آزمون آماری تی برای مقایسه‌ی میان داده‌ها به کار رفت.

همچنین با توجه به نمودار فوق سرعت ماکزیمم (Vmax) اکسیداسیون کلسترول ـ HDL در حضور غلظت‌های ۲ و ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر این مارکر التهابی به ترتیب ۴۲/۵±۲ نانومول بر دقیقه و ۳۶±۱ نانومول بر دقیقه است که با نمونه‌ی کنترل با ماکزیمم سرعت برابر با ۳۹±۱ نانومول بر دقیقه تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۱).

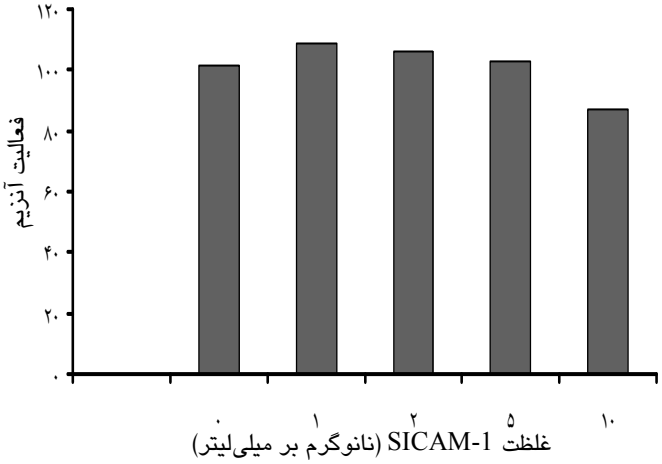
همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در مقایسه با نمونه‌ی کنترل (شماره ۸)، تحرک الکتروفورتیک کلسترول ـ LDL در حضور غلظت ۱۸ نانوگرم/میلی‌لیتر ۱۸ از sICAM-1 (شماره۶) به میزان ٪ ۲۵ کاهش یافته است.

بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف sICAM-1 بر فعالیت سرم پاراکسونازی آنزیم PON-1 نشان داد که در غلظت ۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر این مارکر التهابی فعالیت آنزیمی برابر ۱۰۴±۱ واحد بر لیتر و در غلظت‌های ۲نانوگرم/میلی‌لیتر، ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر و ۱۰ نانوگرم/میلی لیتر به ترتیب برابر ۱۰۸±۱ واحد بر لیتر، ۱۰۳±۲ و ۱ ±۸۷ واحد در لیتر می‌باشد که در مقایسه با نمونه‌ی کنترل (۱۰۱±۲ واحد بر لیتر) تنها افزایش معنی‌دار در غلظت ۲ نانوگرم/میلی‌لیتر (P<۰/۰۵) و کاهش معنی‌دار در غلظت ۱۰ نانوگرم/میلی‌لیتر (P<۰/۰۰۵) مشاهده می‌گردد.



شکل ۱- الکتروفورز× نمونه‌های کلسترول ـ LDL خالص (۸) وانکوبه شده با sICAM-1 (۶) روی ژل آگارز. * غلظت کلسترول ـ LDL در نمونه‌ها برابر ۵۸۰ میکروگرم پروتئین بر میلی‌لیتر و مدت انکوباسیون پیش از الکتروفورز ۷ ساعت بوده است.

در مجموع در غلظت‌های پایین sICAM-1، افزایش نسبی در فعالیت آنزیم و در غلظت‌های بالا کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده می‌شود (نمودار۳).



نمودار ۳. تاثیر غلظت‌های مختلف sICAM-1 بر فعالیت سرم پاراکسونازی آنزیم PON1 در vitro in . * مقادیر فعالیت آنزیمی میانگین دو بار تکرار هستند. آزمون آماری t برای مقایسه میان داده‌ها به کار رفت.**

بحث

در پژوهش حاضر، بررسی تاثیر sICAM-1 بر یکی از زمینه‌های بالقوه‌ی محرک در فرایند آتروژنز یعنی اکسیداسیون کلسترول ـ LDL نشان داد که نه در غلظت فیزیولوژی اولیه (۲ نانوگرم/میلی‌لیتر) و نه در غلظت بالاتر (۵ نانوگرم/میلی لیتر) این مارکر التهابی، استعداد کلسترول ـ

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

LDL به اکسیداسیون تغییر معنی‌داری را متحمل نمی‌گردد. به عبارت دقیق‌تر، شاخص کینتیکی Lag time تحت تاثیر غلظت‌های فیزیولوژی ICAM-1 قرار نگرفت. اما نکته‌ی قابل توجه این است که ماکزیمم سرعت که نشان‌گر سرعت مرحله‌ی انتشار (Propagation phase) اکسیداسیون کلسترول ـ LDL می‌باشد تحت تاثیر sICAM-1 قرار گرفته و متناسب با غلظت آن افزایش می‌یابد (نمودار۱). از سوی دیگر، یافته‌های بخش دیگری از پژوهش نشان داد تحرک الکتروفورتیک کلسترول ـ LDL در مجاورت sICAM-1 به میزان ٪۲۵ کاهش یافته (شکل ۱)، که فرضیه‌ی اتصال میان LDL و sICAM-1 را به ذهن می‌رساند. هم‌چنین ممکن است sICAM-1 با اتصال به کلسترول ـ LDL اکسید شده (Ox-LDL) از راه سازوکاری نامعلوم سرعت اکسیداسیون LDL را افزایش داده و در ادامه، زمینه‌ی ورود این LDL استحاله شده را به فرایندهای آتروژنیک (مانند تشکیل سلول کف آلود) تسهیل و تسریع نماید، این نتیجه‌گیری در هم‌خوانی نزدیک با پژوهش‌های پیشین است که به طور قوی فرضیه‌ی آتروژنیک بودن ICAM-1 را مطرح نموده‌اند.[۸،۹]

وجود گلیکوزیلاسیون سنگین و دیگر ویژگی‌های منحصر به فرد ساختاری در ICAM-1 سبب شده تا در ساختمان این پروتئین سایت‌های اتصالی بسیاری وجود داشته باشد، که بیشتر نیز برای لیگاندهای مرتبط با شرایط ایمنی اختصاصی هستند.[۶] در این رابطه و با توجه به وجود دو دمین آمینو ترمینال (D1، D2) در ساختمان این پروتیین،[۱۳] و نیز با توجه به نتیجه‌ی الکتروفورز در پژوهش حاضر (شکل ۱) می‌توان از لحاظ فیزیکوشیمیایی امکان اتصال اختصاصی بین کلسترول ـ LDL (ox) و sICAM-1 را مطرح نمود. علاوه بر این، بررسی‌های زیادی وجود دارند که به طور تقریبی به طور اجماع از فرضیه‌ی نقش محوری ICAM-1 در تسهیل فرایند آتروژنز در عروق و از جمله نقش بارز آن در فراخوانی منوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها از راه ایجاد کمپلکس LFA1-ICAM1 به محل ضایعه حمایت می‌کنند.[۸،۹] یافته‌های یاد شده که فرضیه‌ی آتروژنیک بودن بالقوه‌ی ICAM-1 را مطرح نموده‌اند در هم‌خوانی قابل توجه با یافته‌های پژوهش حاضر می‌باشند، تا آنجا که حتی در جدیدترین پژوهش in vivo و in vitro در این زمینه که در سال ۲۰۱۰ به وسیله‌ی Apostolov و همکاران انجام شد، به روشنی از ICAM-1 به عنوان یک مولکول کلیدی و پیشرو که در اثر القای c-LDL (carbamylated –LDL؛ یک فرم استحاله شده LDL که به شدت آتروژنیک است) بیان و فعال شده و زمینه‌ی حضور منوسیت‌ها را در محل آندوتلیوم فراهم می‌سازد، نام برده شده است. جالب این‌که در بخش invitro پژوهش یاد شده، مشخص گردید ICAM-1 عمده‌ترین فاکتوری است که تحت تاثیر القای c-LDL زمینه اتصال منوسیت‌ها را به آندوتلیوم فراهم می‌سازد.[۹]

هم‌چنین، در بخش دیگر پژوهش حاضر تاثیر sICAM-1 در همان غلظت‌ها (۰ –۲– ۵ نانوگرم/میلی‌لیتر) این بار بر اکسیداسیون کلسترول ـ HDL مورد بررسی قرار گرفت که یافته‌ها تغییری در مقادیر شاخص‌های کینتیکی اکسیداسیون کلسترول ـ HDL (Lag time و Vmax) در حضور sICAM-1 نشان نداد (نمودار۲). این یافته نشان می‌دهد به احتمال زیاد تاثیرات آتروژنیک sICAM-1 از مسیر تاثیرگذاری بر فرایند بیماریزایی اکسیداسیون کلسترول ـ HDL نمی‌گذارد که البته بررسی این مساله به پژوهش‌های بیشتری نیاز دارد.

در نهایت، بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف فیزیولوژی sICAM-1 (۰ –۱ –۲– ۵– ۱۰ نانوگرم/میلی‌لیتر) بر فعالیت پاراکسونازی آنزیم آنتی‌آتروژنیک PON-1 نشان داد که با یک شیب ملایم و خفیف افزایش در فعالیت آنزیم رخ می‌دهد که البته این افزایش معنی‌دار نبوده و تنها در نقطه اوج (یعنی در غلظت ۲ نانوگرم بر میلی‌لیتر sICAM-1) این افزایش شکلی معنی‌دار به خود می‌گیرد ($P<۰/۰۵$) و پس از آن همراه با افزایش غلظت روند نزولی فعالیت آنزیمی آغاز شده که در غلظت ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر به پایین‌ترین میزان خود می‌رسد که به طور کامل قابل توجه و معنی‌دار است ($P<۰/۰۰۵$). در کل، در غلظت‌های پایین sICAM-1 در این پژوهش (<۲ نانوگرم/میلی‌لیتر) افزایش نسبی در فعالیت آنزیم و در غلظت‌های بالاتر (>۲ نانوگرم/میلی‌لیتر) کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده می‌شود (نمودار۳). یافته‌ی یاد شده امکان طرح این فرضیه را مطرح می‌نماید که sICAM-1 از راه یکی از سایت‌های متعدد اتصالی در ساختمان خود به PON-1 متصل شده و به دنبال آن تاثیرات یاد شده را اعمال می‌نماید. درباره‌ی توضیح ماهیت این تاثیرات بر فعالیت آنزیم که در غلظت‌های پایین افزایشی و خفیف، و در غلظت‌های بالا کاهشی و قابل توجه می‌باشد، هر چند به طور قطعی بررسی‌های بیشتری برای توضیح دقیق این رخداد ضروری می‌باشد، کمینه به این یافته می‌توان استناد کرد که حتی در شرایط طبیعی نیز همیشه مقادیری از مارکر التهابی ICAM-1 در غلظت‌های پایین بر سطح آندوتلیوم و غشای

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

لکوسیت‌ها بیان می‌شود[۷] پس می‌توان از لحاظ منطق فیزیولوژی طبیعی فرض کرد که غلظت‌های پایین و طبیعی ICAM-1 (<۵ نانوگرم/میلی‌لیتر) اثرات آتروژنیکی نداشته باشند، اما به محض این‌که سلول‌ها تحت شرایط حاد التهابی قرار گرفته و تحت القای برخی سیتوکین‌ها تولید ICAM-1 روند صعودی به خود بگیرد،[۷] در این وضعیت حاد، غلظت بالای ICAM-1 در قالب یک محرک آتروژن ظاهر شده و با تاثیر منفی بر آنزیم PON-1 از فعالیت آن می‌کاهد. این نتیجه‌گیری اخیر در هم‌خوانی با بسیاری از یافته‌هایی است که فرضیه‌ی آتروژن بودن ICAM-1 را به طور قوی مطرح کرده‌اند.[۸،۹]

در کل به نظر می‌رسد sICAM-1 در غلظت‌های بالاتر از ۲ نانوگرم/میلی‌لیتر، بر برخی شاخص‌های کینتیکی یعنی بیشینه‌ی سرعت (Vmax) اکسیداسیون LDL (و نه HDL) و نیز فعالیت آنزیم PON-1 تاثیر گذار بوده و سبب تغییر این شاخص‌های مهم می‌گردد. در نتیجه هم‌سو با بسیاری از گزارش‌ها در رابطه با این مارکر التهابی که نقشی محوری برای این پروتئین در جریان آتروژنز مطرح کرده‌اند،[۹] داده‌های پژوهش حاضر نیز ضمن پشتیبانی از نظریه‌های یاد شده، برای اولین بار فرضیه ایفای نقشی فعال از سوی ICAM-1 را در جریان اتصال به لیپوپروتئین‌های LDL و HDL که به کاهش فعالیت آنزیم PON-1 و افزایش سرعت اکسیداسیون LDL می‌انجامد را مطرح می‌نماید. با این حال به بررسی‌های بیشتری نیاز است تا معلوم گردد آیا در غلظت‌های پاتوفیزیولوژی sICAM-1 و نیز در محیط in vivo مشابه همین اثرات دیده می‌شود که در این مورد حتی در صورت امکان بررسی راه‌کارهای جدیدی در درمان بیماریهای قلبی ـ عروقی با تمرکز بر کنترل فعالیت ICAM-1 محتمل خواهد بود.

References

1. Loppnow H, Werdan K, Buerke M. Vascular cells contribute to atherosclerosis by cytokine- and innate-immunity-related inflammatory mechanisms. Innate Immun 2008; 14: 63-87.
2. Segers D, Garcia-Garcia HM, Cheng C, de Crom R, Krams R, Wentzel JJ, et al. A primer on the immune system in the pathogenesis and treatment of atherosclerosis. EuroIntervention 2008; 4: 378-90.
3. Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. Autoimmun Rev 2008; 7: 558-66.
4. Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. Clin Chim Acta 2010; 411: 1875-82.
5. Rufail ML, Ramage SC, van AR. C-reactive protein inhibits in vitro oxidation of low-density lipoprotein. FEBS Lett 2006; 580: 5155-60.
6. Bella J, Kolatkar PR, Marlor CW, Greve JM, Rossmann MG. The structure of the two amino-terminal domains of human ICAM-1 suggests how it functions as a rhinovirus receptor and as an LFA-1 integrin ligand. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95: 4140-5.
7. Wenisch C, Myskiw D, Parschalk B, Hartmann T, Dam K, Graninger W. Soluble endothelium-associated adhesion molecules in patients with Graves' disease. Clin Exp Immunol 1994; 98: 240-4.
8. Smalley DM, Lin JH, Curtis ML, Kobari Y, Stemerman MB, Pritchard KA Jr. Native LDL increases endothelial cell adhesiveness by inducing intercellular adhesion molecule-1. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996; 16: 585-90.
9. Apostolov E, Ray D, Savenka A, Shah.Sh, Basnakian A. ICAM-1 is Key Molecule in Carbamylated LDL-induced Monocyte Adhesion FASEB J 2010.
10. Bronzert TJ, Brewer HB. New micromethod for measuring cholesterol in plasma lipoprotein fractions. Clin Chem 1977; 23: 2089-98.
11. Rufail ML, Ramage SC, van Antwerpen R. C-reactive protein inhibits in vitro oxidation of low-density lipoprotein. FEBS Lett 2006; 580: 5155-60.
12. Rudling M, Vitols S, Masquelier M, Peterson C. Cryopreserve LDL in the presence of sucrose to protect the biologic properties. J Lipid Res 1996; 37: 2266-7.
13. Markwell MA, Haas SM, Bieber LL, Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. Anal Biochem 1978; 87: 206-10.
14. Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. Free Radic Res Commun 1989; 6: 67-75.
15. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. Atherosclerosis 2003; 170: 21-9.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

Original Article

The in Vitro Effect of sICAM-1 on Oxidation of LDL and HDL and Activity of Paraoxonase-1 Enzyme

Nayeri H[1], Naderi Gh[2], Abedpour Dehkordi A[3], Boshtam M[4], Jafari Dinani N[4]

[1]Department of Biochemistry, Falavarjan Branch, Islamic Azad University; [2]Department of Biochemistry, Cardiac Rehabilitation Research Center, Isfahan Cardiovascular Research Institute; Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan; [3]Department of Biochemistry Payamnoor University, Mashhad; [4]Department of Physiology,Isfahan Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran

e-mail: hnaieri@gmail.com

Received: 09/04/2012 **Accepted**: 15/07/2012

Abstract

Introduction: The intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) plays a pivotal role in inflammation and linkage between monocytes and endothelium. LDL-induced ICAM-1 expression may include the possibility of an atherogenic stimulation due to a binding between lipoprotein and ICAM-1. To evaluate of this hypothesis, the present study investigated the effect of sICAM-1 on susceptibility of LDL and HDL to oxidation and Paraoxonase-1 (PON-1) activity. Materials and Methods: LDL and HDL were purified from serum via ultracentrifugation and 25 and 100 µg-protein/ml of LDL and HDL, in the presence of sICAM-1 (0, 2, 5 ng/ml), were exposed to oxidative stress (5 µM copper) and assayed through monitoring of formation of conjugated dienes using a spectrophotometer. Electrophoresis was performed to determine the mobility of incubated-lipoproteins with sICAM-1. The activity of PON-1 was assayed in the presence of of sICAM-1. Results: In presence of different concentrations of sICAM-1, Vmax increased significantly (P<0.05), while electrophoretic mobility of LDL decreased (↓ 25%). PON-1 activity increased at low levels of sICAM-1 but decreased at higher levels (P<0.05; P<0.005). Conclusion: The results indicate that sICAM-1 in dosages over than 2 ng/ml affects some kinetical parameters of LDL oxidation and PON-1 activity that can be interpreted as a positive stimulus in atherogenesis. Overall the results may support the hypothesis of a lipoprotein-mediated role for ICAM-1 in atherogenesis.

Keywords: ICAM-1, LDL, HDL, Ox-LDL, Paraoxonase-1

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]