مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی هشتم، شماره‌ی ۳، صفحه‌های ۲۲۹ـ ۲۲۳ (پاییز ۱۳۸۵)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر تغییر شیمیایی ناشی از اکسیداسیون به وسیله‌ی مس بر عمل اتصال به لیزین لیپوپروتئین a

دکتر منیژه کدخدایی الیادرانی، دکتر زهره فائزی زاده

چکیده

مقدمه: به نظر می‌رسد که سطح بالای لیپوپروتئین a [lp(a)] در ایجاد ترومبوز و آترواسکلروز نقش داشته باشد. پاتوفیزیولوژی Lp(a) به عنوان عامل خطرزا ممکن است به توانایی اتصال آن به اسید آمینه لیزین بستگی داشته باشد که عملکرد اختصاصی از جمله مهار فیبرینولیز به آن می‌دهد. در پلاسمای انسان Lp(a) به صورت چهار زیرگونه‌ی متفاوت (Lp(a)Lys-، Lp(a)Lys+1، Lp(a)Lys+2 و Lp(a)Lys+3) وجود دارد. این تقسیم‌بندی بر اساس توانایی اتصال آن‌ها به لیزین سفاروز می‌باشد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که لیپوپروتئین‌های سرم نسبت به اکسیداسیون به وسیله یون مس حساس هستند. هدف این مطالعه بررسی اثر یون مس بر توانایی اتصال لیپوپروتئین (a) به اسید آمینه‌ی لیزین است تا به این وسیله مکانیسم مولکولی اثرlp(a) در ایجاد ترمبوز و آترواسکلروز بررسی شود. مواد و روش‌ها: لیپیدهای سرم در حضور غلظت‌های ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار کلریدمس اکسید شدند. اکسیداسیون لیپیدها از طریق تشکیل دی‌ان‌کونژوگه به وسیله‌ی روش اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۵ نانومتر مشخص شد. سپس چهار زیرگونه‌ی لیپوپروتئین a در سرم اکسید شده با استفاده از کروماتوگرافی با میل ترکیبی لیزین سفاروز جداسازی شدند. اندازه‌گیری Lp(a) به روش توربیدومتری با استفاده از کیت پارس آزمون انجام شد. سپس مقدار زیرگونه‌های جدا شده از سرم در حضور یون مس و بدون حضور یون مس مقایسه شدند. یافته‌ها: با جداسازی زیرگونه‌های Lp(a) به روش کروماتوگرافی لیزین سفارز، افزایش وابسته به غلظت یون مس در همه‌ی زیرگونه‌های Lp(a)Lys+ و کاهش زیرگونه‌ی- Lp(a)Lys مشاهده شد. به نظر می‌رسد اکسیداسیون Lp(a) توسط یون مس چنان تغییرات شیمیایی در ساختمان آن ایجاد می‌کند که سبب افزایش فعالیت LBS آن می‌شود و موجب می‌شود که لیپوپروتئین (a) با اتصال قوی‌تر به لیزین در ساختمان لیزین سفاروز متصل شود. بنا بر این پیشنهاد می‌شود که اکسیداسیون Lp(a) توسط عوامل اکسیدکننده‌ای که در خون وجود دارد احتمالاً از طریق افزایش توانایی اتصال به اسید آمینه لیزین می‌تواند آترواسکلروز و ترومبوز را تسریع نموده، در ایجاد بیماری‌های قلبی ـ عروقی نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: لیپوپروتئین a، فیبرینولیز، اکسیداسیون، کروماتوگرافی
دریافت مقاله: ۸۴/۱۱/۱۵ ـ دریافت اصلاحیه: ۸۵/۳/۶ ـ پذیرش مقاله: ۸۵/۳/۹

مقدمه

لیپوپروتئین a یکی از لیپوپروتئین‌های سرم است که به اختصار به صورت Lp(a) نمایش داده می‌شود. Lp(a) ذره‌ای است کروی شکل که به طور متوسط ۲۱۰ انگستروم قطر دارد و از نظر ترکیب لیپیدی (کلسترول و فسفولیپید) و

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی جندی‌شاپور اهواز، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول**: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، دانشکده‌ی پزشکی، گروه بیوشیمی، دکتر منیژه کدخدایی الیادرانی e-mail:kadkhodaeim@hotmail.com

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]

حضور آپو پروتئین B_{100}[i] مشابه LDL[ii] است. اما تفاوت آن با LDL در داشتن گلیکوپروتئین آپوپروتئین a[iii] می‌باشد. آپو a به وسیله‌ی یک اتصال دی سولفیدی به آپو B_{100} متصل می‌شود. آپو a همانند پلاسمینوژن از واحدهای حلقوی شکلی به نام کرینگل تشکیل شده است. ساختمان پلاسمینوژن از پنج کرینگل (K1-K5) و یک دومین پروتئازی تشکیل شده است. در حالی که ساختمان آپو a شامل تکرارهای متوالی و مشابه کرینگل IV پلاسمینوژن، کرینگل مشابه کرینگل V پلاسمینوژن و دومین پروتئازی (PD) است. کرینگل IV در ساختمان آپو (a) دارای محلی است که به لیزین متصل می‌شود (LBS).[iv] آپو a به علت شباهت محل LBS در کرینگل KIV10 با کرینگل IV در ساختمان پلاسمینون برای اتصال به فیبرین در سطح سلول‌ها با پلاسمینوژن رقابت کرده و منجر به کاهش فیبرینولیز و اختلال در پروتئولیز خارج سلولی می‌شود.[۱،۲] لیپی و همکاران در سال ۱۹۹۶ با استفاده از کروماتوگرافی با میل ترکیبی لیزین سفاروز توانستند چهار زیرگونه‌ی Lp(a) را که میل ترکیبی متفاوتی نسبت به اسیدآمینه‌ی لیزین ژل لیزین سفاروز دارند، جدا کنند.[۳] این زیرگونه‌ها از نظر تمایل به اسیدآمینه‌ی لیزین به صورت Lp(a)Lys-، Lp(a)Lys+1 و Lp(a)Lys+2، Lp(a)Lys+3 مشخص می‌شوند. Lp(a)Lys- تمایل پایینی به ژل لیزین سفاروز دارد، در حالی که زیرگونه‌ی Lp(a)Lys+ تمایل بالایی نسبت به ژل لیزین سفاروز دارد. زیرگونه‌های Lp(a)Lys+ برای اتصال به لیزین فیبرین با پلاسمینوژن رقابت کرده و باعث کاهش فعالیت پلاسمینوژن می‌شوند، لذا Lp(a)Lys+ خاصیت ایجاد آترواسکروز و ترومبوز دارد. بر اساس مطالعه‌های انجام شده، اکسیداسیون Lp(a) به وسیله‌ی مس توانایی آن را در اتصال به ماتریکس خارج سلولی افزایش می‌دهد.[۴] نشان داده شده که اکسیداسیون Lp(a) با افزایش چسبندگی منوسیت‌ها به دیواره‌ی عروق سبب پیشرفت آترواسکلروز می‌شود. در مطالعه‌ی دیگری نشان داده‌اند که اکسیداسیون Lp(a) تغییراتی در ساختمان آن ایجاد می‌کند که سبب گرفتن آن‌ها توسط ماکروفاژها و تشکیل سلول‌های فوم[v] می‌شود.[۵] با توجه به این که افزایش Lp(a) به عنوان یک عامل مستقل در بیماری‌های قلبی ـ عروقی و ترومبوز شناخته شده است[۶] و در رابطه با تأثیر اکسیداسیون Lp(a) توسط مس بر زیرگونه‌های Lp(a) تا کنون مطالعه‌ای انجام نشده در این مطالعه هدف بررسی اثر اکسیداسیون یون مس بر فعالیت LBS لیپوپروتئین a از طریق جدا نمودن زیرگونه‌های Lp(a) بود؛ زیرا چنان‌چه یون مس با تغییراتی که در ساختمان لیپوپروتئین ایجاد می‌کند بتواند زیرگونه‌های Lp(a)Lys+ را افزایش دهد، می‌توان پیشنهاد نمود که عوامل اکسید کننده در خون با افزایش فعالیت LBSلیپوپروتئین (a) خواص آترواسکلروز و ترومبوز آن را تحریک نموده و به این طریق احتمالاً در ایجاد آترواسکلروز و ترومبوز نقش دارد.

مواد و روش‌ها

همه‌ی مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه از شرکت سیگما و کیت اندازه‌گیری Lp(a) و کالیبراتور از شرکت پارس آزمون[vi] تهیه گردید. روش اندازه‌گیری لیپوپروتئین a یک روش ایمونوتوربیدومتری است،[vii] بر اساس واکنش بین آنتی‌ژن [Lp(a) موجود در سرم انسان] و آنتی‌بادی علیه آن انجام می‌شود. جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شده، با نمودار استاندارد حاصل از کالیبراتورها مقایسه شد. جداسازی زیرگونه‌ها توسط روش لیپی و همکاران انجام گردید.[۳] ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم به صورت pooled serum از افراد سالم تهیه و با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سپس با کاغذ واتمن فیلتر شد. سرم فیلتره شده جهت جداسازی زیرگونه‌های Lp(a) مورد استفاده قرار گرفت. جداسازی زیرگونه‌های Lp(a) با استفاده از کروماتوگرافی ستونی میل ترکیبی لیزین سفاروز انجام شد. ۱۵ گرم پودر لیزین سفاروز به محلول بیکربنات آمونیوم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۹۵) افزوده شد و پس از مخلوط شدن و آماده شدن در ستون ۴۰× ۲/۵ سانتیمتر پک شد. ابتدا ژل با محلول بیکربنات آمونیوم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۹۵) با جریان ۸۰ میلی‌لیتر در ساعت شسته شد. سپس سرم فیلتر شده در بالای ژل در داخل ستون افزوده شد و چند دقیقه صبر کرده تا با خروج بافر، نمونه در ژل وارد شود. پس از آن ستون با ۵۰۰ میلی‌لیتر بافر فوق شسته شد. در این مرحله زیرگونه‌ی – Lp(a)-Lys خارج شد.

i Apo B_{100}
ii Low density lipoprotein
iii Apo(a)
iv Lysine binding site
v Foam cells

vi Pars Azmun Trucal Lp(a)
vii Immunoturbidimetric test

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]

خروج Lp(a) متصل به ستون طی سه مرحله انجام شد. ابتدا برای خروج Lp(a)Lys+1 با استفاده از دستگاه گرادیان ساز، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول گرادیان خطی صفر تا ۰/۵ مولار سدیم فسفات PH=7.4 از ستون عبور داده و فراکشن‌ها در حجم ۵ میلی‌لیتر گرداوری شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر محلول بیکربنات آمونیوم ۵۰ میلی‌مولار از ستون عبور داده شد. برای خروج Lp(a)Lys+2 ستون با ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۵ مولار (PH=۴/۴) شستشو داده شد. غلظت نمکی و PH باعث جدا شدن Lp(a)Lys+2 از ستون شد. بعد از آن ۵۰ میلی‌لیتر محلول بیکربنات آمونیوم ۵۰ میلی‌مولار از ستون عبور داده شد. خروج Lp(a)Lys+3 با عبور ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۵ مولار حاوی ۰/۲ مولار εACA انجام شد. εACA به عنوان یک رقابت‌کننده‌ی قوی برای خروج لیپوپروتئین‌های با میل ترکیبی بالا عمل می‌کند.

بررسی اثر یون مس بر زیرگونه‌های لیپوپروتئین a

به منظور بررسی اثر یون مس بر زیرگونه‌های لیپوپروتئین (a)، لیپید سرم در اثر غلظت‌های مختلف یون مس اکسید شده سپس با استفاده از کروماتوگرافی میل ترکیبی لیزین سفاروز زیرگونه‌های Lp(a)را از سرم اکسید شده توسط مس جداسازی کرده و مقادیر Lp(a)Lys- و Lp(a)Lys+1، Lp(a)Lys+2 و Lp(a)Lys+3 در سرم اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم تهیه شده از افراد سالم با دور RPM ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد سپس با کاغذ واتمن صاف و در یک بشر ۱۵۰ میلی‌لیتر ریخته و در بن ماری ۳۷^{oc} گذاشته شد و جداگانه غلظت‌های مختلف ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار یون مس اضافه گردید. میزان لیپید اکسیداسیون (سرعت تشکیل دن‌ان‌کونژوگه) در طول موج ۲۴۵ نانومتر در فاصله‌ی زمانی ۵ دقیقه با استفاده از اسپکتروفتومتر بررسی شد. پس از اکسیداسیون کامل سرم آماده کروماتوگرافی ستونی جهت جدا سازی زیرگونه‌های Lp(a) آماده شد. مقدار پروتئین سرم و تمام فراکسیون‌ها توسط روش لوری اندازه‌گیری شد.[۷] مقدار Lp(a) تمام فراکسیون‌ها با استفاده از روش توربیدومتری انجام شد.

یافته‌ها

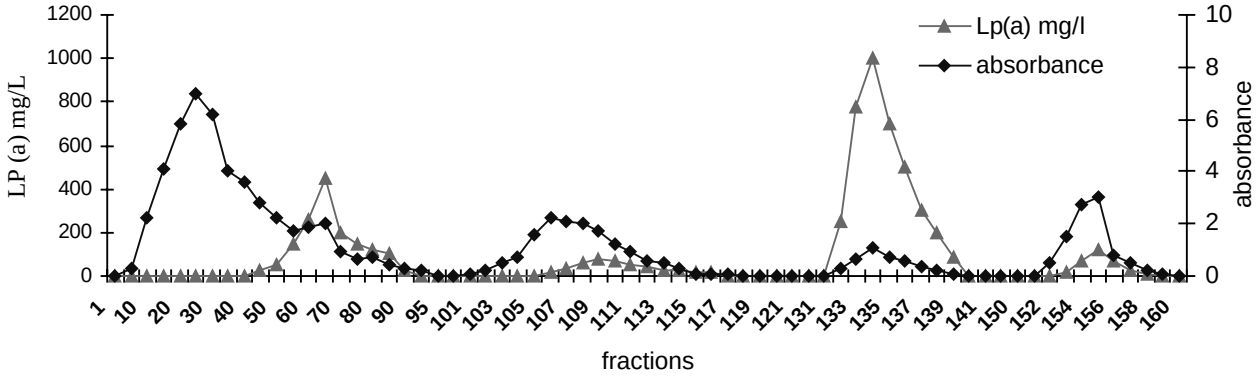
مراحل مختلف جداسازی زیرگونه‌های Lp(a) توسط کروماتوگرافی میل ترکیبی لیزین سفاروز در نمودار ۱ نشان داده شده است. اندازه‌گیری لیپوپروتئین a در ۱۰۰ میلی‌لیتر سرم اولیه نشان داد که این سرم حاوی ۴۶ میلی‌گرم Lp(a) است. با انجام کروماتوگرافی لیزین سفارز در مرحله اول – Lp(a)Lys که تمایل پایینی به اسیدآمینه لیزین ژل لیزین سفاروز دارد به سرعت از ستون خارج شد. در این مرحله ۱۰۰ فراکشن گرداوری شد. تمام فراکشن‌ها از نظر وجود Lp(a) مورد بررسی شدند. مشاهده شد که فراکسیون‌های ۹۰-۴۵ حاوی Lp(a) بودند (Lp(a)Lys-). مقدار Lp(a)Lys- در این مرحله ۱۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری شد که ۲۴٪ کل Lp(a) اولیه در سرم است (جدول ۱).

جدول ۱- مقدار تقریبی زیرگونه‌های Lp(a) در فراکشن‌های حاوی Lp(a) جدا شده از سرم انسان توسط کروماتوگرافی لیزین سفاروز

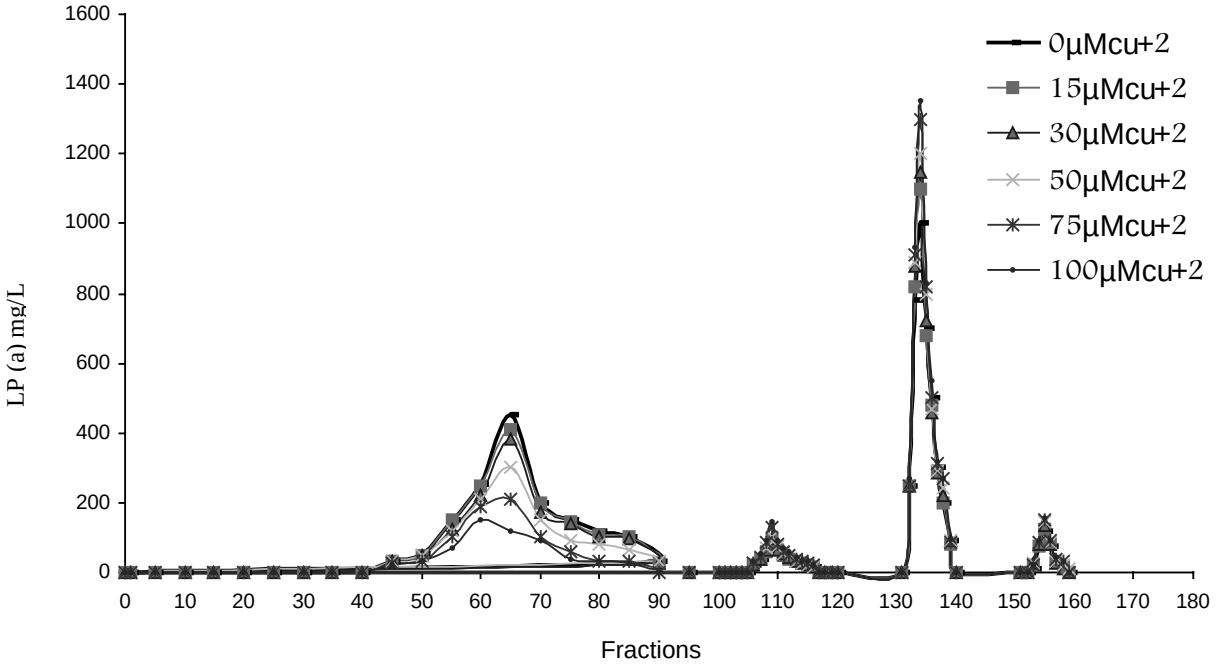
نمونه حاوی Lp(a)	Lp(a) mg	Relative Value
100 mL pooled serum	۴۶	۱۰۰
Total Lp(a)Lys-	۱۲	۲۴
Total Lp(a)Lys+1	۴	۸
Total Lp(a)Lys+2	۲۳	۵۰
Total Lp(a)Lys+3	۴	۸

در جداسازی Lp(a)Lys+1 ۲۰ فراکسیون گرداوری گردید. (فراکشن‌های ۱۲۰-۱۰۱). این فراکشن‌ها از نظر مقدار Lp(a) و جذب نوری در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده در فراکشن‌های ۱۱۶-۱۰۶ Lp(a) مشاهده شد. کل Lp(a)Lys+ در این مرحله ۴ میلی‌گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری گردید که ۸٪ کل Lp(a) اولیه در سرم است. در جداسازی Lp(a)Lys+2 فراکشن‌های ۱۴۰-۱۳۱ حاوی Lp(a) بودند. کل Lp(a) در این مرحله ۲۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به دست آمد که ۵۰٪ کل Lp(a) اولیه در سرم است. در جداسازی Lp(a)Lys+3 در فراکشن‌های ۱۵۹-۱۵۲ Lp(a) مشاهده شد. کل Lp(a)Lys+3 در این مرحله ۴ میلی‌گرم تعیین شد که حدود ۸٪ Lp(a) اولیه در سرم است (جدول ۱). جداسازی زیرگونه‌های لیپوپروتئین در حضور غلظت‌های مختلف یون مس در نمودار ۲ نشان داده شده است. افزایش وابسته به غلظت یون مس در زیرگونه‌های Lp(a)Lys+ در نمودار ۳ نشان داده شده است.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]

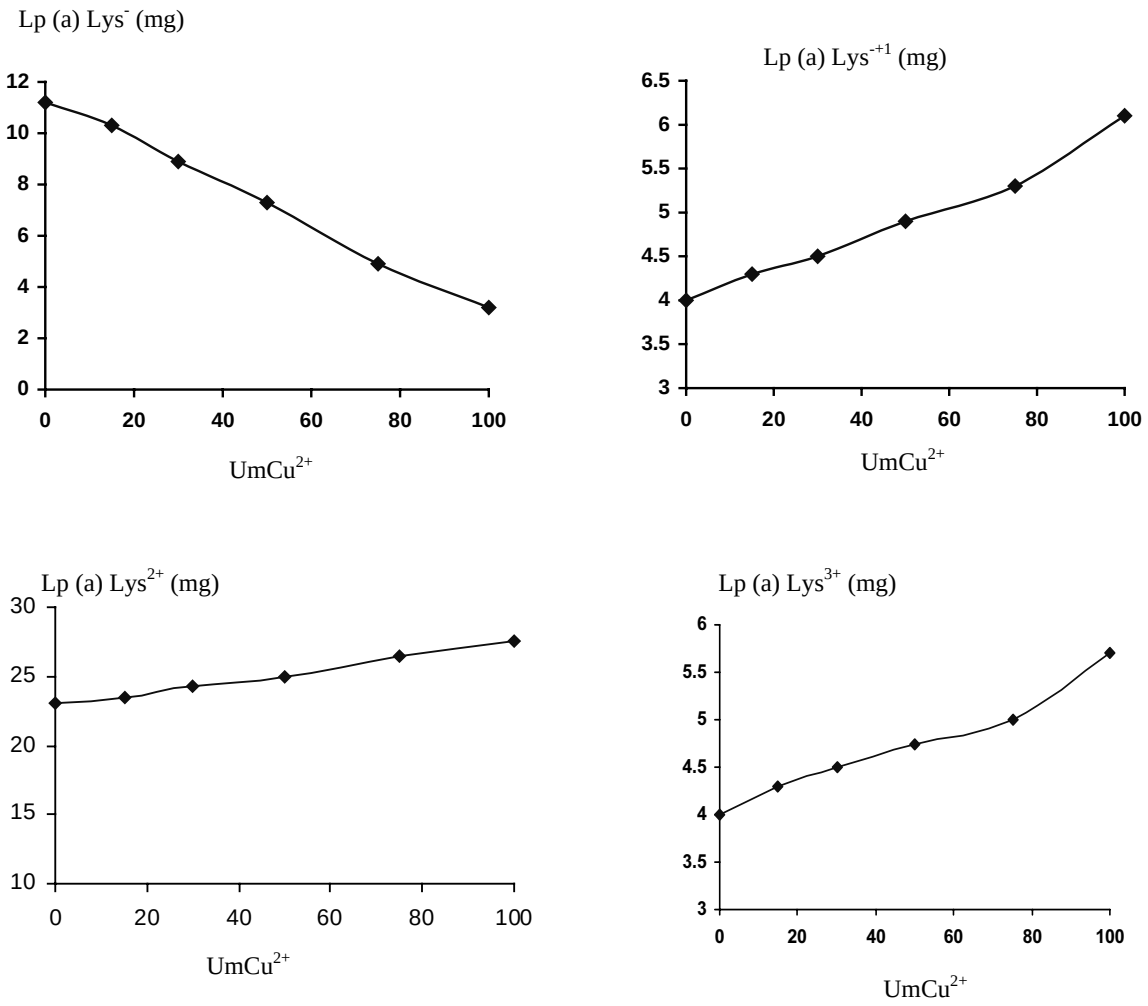


نمودار ۱- جداسازی زیرگونه‌های **Lp(a)** را از سرم انسان با استفاده از کروماتوگرافی با میل ترکیبی لیزین سفاروز نشان می‌دهد. برای جداسازی زیرگونه‌های **Lp(a)** به ترتیب ۵۰۰mL بافر بیکربنات (فراکشن‌های ۱۰۰-۱)، ۱۰۰mL گرادیان غلظت نمک (فراکشن‌های ۱۲۰-۱۰۱)،۵۰mL بافر بیکربنات (فراکشن‌های ۱۳۰-۱۲۱)، ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات M ۰/۵ با PH=4.4 (فراکشن‌های ۱۴۰-۱۳۱) و ۵۰mL بافر بیکربنات (فراکشن‌های ۱۵۰-۱۴۱) ۵۰mL بافر فسفات M ۰/۵ حاوی εACA با PH=۴/۴ (فراکشن‌های ۱۶۰-۱۵۱) از ستون عبور داده شد. حجم هر فراکشن mL ۵، سرعت جریان بافر ۸۰ میلی‌لیتر در ساعت.



نمودار۲- جداسازی زیرگونه‌های -Lp(a)Lys، Lp(a)Lys+1، Lp(a)Lys+2 و Lp(a)Lys+3، از سرم انسان در حضور غلظت‌های مختلف یون مس با استفاده از کروماتوگرافی با میل ترکیبی لیزین سفاروز. فراکسیون‌ها بر حسب شماره مشخص شده است. جداسازی زیرگونه‌های **Lp(a)** به ترتیب ۵۰۰mL بافر بیکربنات (فراکشن‌های ۱۰۰-۱)، ۱۰۰mL گرادیان غلظت نمک (فراکشن‌های ۱۲۰-۱۰۱)،۵۰mL بافر بیکربنات (فراکشن‌های ۱۳۰-۱۲۱)، ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات M ۰/۵ با PH=۴/۴ (فراکشن‌های ۱۴۰-۱۳۱) و ۵۰mL بافر بیکربنات (فراکشن‌های ۱۵۰-۱۴۱) ۵۰mL بافر فسفات M ۰/۵ حاوی εACA با PH=۴/۴ (فراکشن‌های ۱۶۰-۱۵۱). حجم هر فراکشن mL ۵، سرعت جریان بافر ۸۰ میلی‌لیتر در ساعت.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]



نمودار ۲- اثر غلظت‌های مختلف یون مس بر مقدار زیر گونه‌های لیپوپروتئین a. کاهش وابسته به غلظت در مقدار -Lp(a)Lys و افزایش وابسته به غلظت یون مس در زیرگونه‌های +Lp(a)Lys مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

در ساختمان لیپوپروتئین a، آپو (a) شباهت ساختمانی قابل توجهی با پلاسمینوژن دارد و به همین علت با پلاسمینوژن در اتصال به اسیدآمینه لیزین فیبرین رقابت کرده، سبب اختلال در فیبرینولیزیز می‌شود. مطالعه‌های انجام شده توسط لیپی و همکاران نشان داده که در سرم انسان چهار زیرگونه‌ی Lp(a) وجود دارد که عبارتند از Lp(a)Lys-، Lp(a)Lys+1، Lp(a)Lys+2 و Lp(a)Lys+3. تفاوت این زیرگونه‌ها مربوط به اختلاف اتصال به اسیدآمینه لیزین می‌باشد.[۳] در ساختمان Lp(a) مکانی به نام Lysine binding site وجود دارد. Lp(a) از همین محل به اسیدآمینه‌ی لیزین در ساختمان پروتئین‌ها از جمله فیبرین و گلیکوپروتئین‌های سطح سلول و جدار عروق متصل شده، باعث ایجاد آترواسکروز و ترومبوز می‌شود.[۸،۹] از بین زیرگونه‌های Lp(a)، زیرگونه‌ی Lp(a)Lys+3 توانایی بیشتری در اتصال به اسیدآمینه لیزین دارد و در نتیجه هر چه این زیرگونه در سرم بیشتر باشد احتمال ابتلا به آترواسکروز و ترومبوز بیشتر خواهد بود. بر عکس Lp(a)Lys- تمایل کمی به اسیدآمینه لیزین فیبرین داشته،

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]

خطر ایجاد آترواسکروز و ترومبوز کمتری دارد. آترواسکروز یکی از مهم‌ترین بیماری‌هایی است که ارتباط مستقیم با Lp(a) دارد.[۱۰] مطالعه‌های زیادی در زمینه‌ی دیابت و بیماری‌های کلیوی انجام شده است.[۱۱،۱۲] بر اساس مطالعه‌های انجام شده جهت بررسی ارتباط Lp(a) و بیماری‌های کلیوی و دیابت تصور بر این است که دیابت با افزایش و تجمع رادیکال‌های آزاد همراه است که موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها می‌گردد. اکسیداسیون Lp(a) تمایل آن را به دیواره‌ی عروق افزایش می‌دهد. تجمع Lp(a) در اینتیمای عروق زمینه‌ی مناسبی برای آترواسکروز و ترومبوز فراهم می‌کند. اینکه با چه مکانیسمی تمایل Lp(a) اکسید شده به دیواره‌ی عروق افزایش می‌یابد نیاز به مطالعه‌های گسترده‌ای دارد.[۱۳] لذا بررسی وسیع‌تر در مورد اثر ترکیبات اکسیدکننده بر Lp(a) امری ضروری است. در ارتباط با اکسیداسیون Lp(a) و تأثیر اکسیداسیون در ایجاد زیرگونه‌های لیپوپروتئین مطالعه‌ای انجام نشده است لذا در این مطالعه اثر عوامل اکسیدکننده مثل یون Cu+2 بر اکسیداسیون Lp(a) و اتصال آن به اسیدآمینه‌ی لیزین بررسی شد. مس قادر است به جایگاههایی در آپو a و آپو B_{100} متصل شود. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که آپو a و آپو B_{100} دارای چندین گروه تیول در سطح خود هستند بر طبق یک مکانیسم احتمالی این گروه‌ها با یون Cu^{+2}واکنش داده، رادیکال‌های تیول و Cu^{+1} می‌کنند.[۱۴]

$$Cu^{+2} + R\text{-}SH \longrightarrow R\text{-}S^{o} + Cu^{+1}$$

رادیکال‌های RSo باعث جذب H از PUFA[i] می‌شود. هم‌چنین Cu^{+1} قادر به تولید ترکیبات گروه Ros است که این ترکیبات به نوبه‌ی خود سبب پراکسیداسیون ذره‌ی لیپید می‌شوند. حاصل واکنش پراکسیداسیون در PUFA تولید هیدروپراکسیدهایی از جمله Conjugated diene (CD) است که در طول موج ۲۴۵ نانومتر در سرم جذب نوری دارد.[۱۵] اثر یون مس بر اکسیداسیون Lp(a) توسط ناکاجیما بررسی شده است.[۱۶] در این مطالعه اکسیداسیون Lp(a) در حضور یون مس انجام و حرکت الکتروفورزی آن بررسی شد و نشان داده شد که اکسیداسیون Lp(a) سبب افزایش LBS می‌شود و این افزایش نسبت مستقیم با غلظت یون مس و لیپوپروتئین دارد. تغییرات اکسیداتیو Lp(a) مهارگر فعالیت کننده‌ی پلاسمینوژن (PAI-1)[ii] در محیط کشت سلول‌های اندوتلیال وریدی می‌شود.[۱۷] PAI-1 یک مهارکننده‌ی فیزیولوژی مهم فعال‌کننده‌ی پلاسمینوژن (PA) است. افزایش سطح PAI-1با یا بدون کاهش سطح PAدر بیماران قلبی ـ عروقی مشاهده شده است. سطح PAI-1 به وسیله Lp(a) در اثر اکسیداسیون در محیط کشت افزایش می‌یابد. افزایش سطح Lp(a) پلاسما ممبران به عنوان یک عامل خطرزای قوی در بروز بیماری‌های قلبی ـ عروقی مورد توجه قرار گرفته است.

در این مطالعه اثر Cu^{+2} بر تولید زیرگونه‌های لیپوپروتئین a و در نتیجه اتصال آن‌ها به لیزین مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی اثر یون مس بر زیرگونه‌ی Lp(a)، جداسازی زیرگونه‌های Lp(a) انجام شد. چهار زیرگونه‌ی Lp(a) از سرم و هم‌چنین از سرم در حضور غلظت‌های مختلف یون مس جداسازی شد. مقادیر چهار زیرگونه‌ی Lp(a) در سرم و هم‌چنین در سرم اکسید شده توسط غلظت‌های مختلف یون مس اندازه‌گیری شد. در این مطالعه با جدا نمودن زیرگونه‌های Lp(a) نشان داده شد که اثر اکسیداسیون مس بر Lp(a) می‌تواند فعالیت LBS آن را افزایش دهد. بنا بر این می‌توان استنباط کرد که یکی از اثرهای یون مس بر Lp(a)، افزایش فعالیت LBS آن است. با انجام کروماتوگرافی میل ترکیبی، خصوصیت‌های اتصال به لیزین بررسی شد و نتایج حاصل با روشی متفاوت با نتایج ناکاجیما مشابه است. هم‌چنین این تأثیر وابسته به غلظت یون مس است و با افزایش غلظت یون مس، میزان Lys+ Lp(a) در سرم افزایش یافته است. افزایش فعالیت LBS خطر ابتلا به آترواسکروز و ترومبوز را در پی خواهد داشت. احتمالاً مکانیسم این پدیده افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد و تغییرات کنفورماسیونی در اثر اتصال مس به Lp(a) است که موجب شده گروه LBS در معرض برخورد بیشتر با اسیدآمینه‌ی لیزین قرار گیرد. احتمالاً همین مکانیسم توضیح دهنده‌ی حضور بیشتر Lp(a) در دیواره‌ی عروق بیماران دیابتی و کلیوی است. نتایج این تحقیق را می‌توان در مورد مکانیسم اثر یون مس در خارج از محیط آزمایشگاه (In vivo) نیز تعمیم داد و علت افزایش حضور Lp(a) اکسید شده را در دیواره‌ی عروق توجیه نمود. در اثر تخریب دیواره عروق در

i Poly unsaturated fatty acids

ii Plasminogen activator inhibitor-1

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]

اثر عوامل اکسید کننده یا سایر عوامل مثل کمبود ویتامین C، گروه‌های لیزین در دیواره‌ی عروق در معرض قرار می‌گیرند،[۱۷] هم‌چنین بر طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه عوامل اکسیدکننده مثل یون مس باعث افزایش فعالیت LBS در Lp(a) می‌شود که این دو عامل موجب حضور بیشتر Lp(a) در دیواره‌ی عروق می‌گردند و زمینه مناسبی برای آترواسکلروز و ترومبوز به وجود می‌آید. اخیراً پژوهشگران نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدآن‌ها مثل کاروتن و ویتامین E می‌توانند اکسیداسیون Lp(a) در مجاورت مواد اکسیدکننده را کاهش دهند،[۱۸] بنا بر این مصرف آنتی اکسیدآن‌ها می‌تواند کاهش دهنده‌ی عوارض ناشی از Lp(a) باشد که نیاز به مطالعه‌های بیشتر دارد.

سپاسگزاری

این مطالعه طرح تحقیقاتی مصوب شماره‌ی ۴۰۴ معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز می‌باشد که در گروه بیوشیمی دانشکده‌ی پزشکی انجام شده است. از معاونت پژوهشی دانشگاه که هزینه‌ی انجام این پروژه را تأمین نمود، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Lippi G, Guidi G. Lipoprotein(a): from ancestral benefit to modern pathogen? QJM 2000; 93: 75-84.
2. Wieringa G. Lipoprotein(a): what's in measure. Ann Clin Biochem 2000; 37: 571-80.
3. Lippi G, Lo Cascio C, Ruzzenente O, Poli G, Brentegani C, Guidi G. A simple and rapid procedure for the purification of lipoprotein(a). J Chromatogr Biomed Appl 1996; 682:225–31.
4. Ragab MS, Selvaraj P, Sgoutas DS. Oxidized lipoprotein(a) induces cell adhesion molecule Mac-1(CD11b) and enhances adhesion of the monocytic cell line U937 to cultured endothelial cells. Atherosclerosis 1996; 123: 103-13.
5. Pekelharing HL, Kleinveld HA, Duif PF, Bouma BN, Van Rijn HJ. Modification of lipoprotein(a) by oxidation or desialylation influences its ability to compete with plasminogen for binding to the extracellular matrix. Blood Coagul Fibrinolysis 1996; 7: 641-9.
6. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction. JAMA 1993; 270: 2195-2199
7. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-70.
8. Milionis HJ, Winder AF, Mikhailidis DP. Lipoprotein (a) and stroke. J Clin Pathol 2000; 53: 487-96.
9. Falco C, Estelles A, Dalmau J, Espana F, Aznar J. Influence of lipoprotein (a) levels and isoforms on fibrinolytic activity. Thromb Haemost 1998;79: 818-23.
10. Iwanoto T, Fukuda S, Shimizu S, Takasaki M. Long term effects of lipoprotein(a) on carotid athero in elderly Japanese. Gerontol A Biol Sci Med 2004; 59: 62-7.
11. Labudovic DD, Toseska KN, Alabakovska SB, B Todorova B. Apoprotein(a) phenotypes and plasma lipoprotein(a) concentration in patients with diabetes mellitus. Clin Biochem 2003; 36: 545-51.
12. Nakashima A, Yorioka N, Asakimori Y, Ito T, Masaki T, Harada S. Different risk factors for the maximum and the mean intima-media thickness in hemodialysis patients. Intern Med 2003; 42: 1095-9.
13. Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) as a risk factor for coronary artery disease. Am J Cardiol 1998; 82: 57U-66U.
14. Naruszewicze M, Giroux LM, Davignon J. Oxidative modification of Lp(a) causes changes in the structure and biological properties of apo(a). Chem Phys Lipids 1994; 67-68: 167-74.
15. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med 1992; 13: 341-90.
16. Nakajima K, Yamashita T, Kusuhara M, Yonemura A, Ito T, Higashi K, et al. The susceptibility of lipoprotein(a) to copper oxidation is correlated with the susceptibility of autologous low density lipoprotein to oxidation. Clin Biochem 2003; 36: 113-20.
17. Ren S, Man RY, Angel A, Shen GX. Oxidative modification enhances lipoprotein(a)-induced overproduction of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured vascular endothelial cells. Atherosclerosis 1997; 128: 1-10.
18. Naruszewiez M , Selinger E, Davignon J. Oxidative modification of lipoprotein (a) and the effect of beta-carotene. Metabolism 1992; 41: 1215-24.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-06]