١٩٩٦

۸۷/۱/۱۰ ۶۵ ۸۱
۸۷/۱۲/۲۱

دانشگاه ارومیه

بررسی اثر تغذیه با شاهدانه بر روی پروفایل لیپید، لیپوپروتئین و آپولیپوپروتئینها در موش صحرایی نر

دکتر اسحق کریمی

دانشکده دامپزشکی

گروه علوم پایه دامپزشکی

۱۳۸۶-۱۳۸۷

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته فیزیولوژی

استاد راهنما و رئیس هیئت داوران

دکترحسین حیات غیبی استادیار بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی

اساتید مشاور

دکتر محمد حسن خادم انصاری دانشیار بخش بیوشیمی دانشکده پزشکی

دکتر حسن ملکی نژاد استادیار بخش فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی

۱۳۸۷/۱۲/۱۲

۱۰۹۰۹۶

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

خلاصه فارسی ۱

فصل اول : مقدمه وهدف

مقدمه و هدف ۳

فصل دوم: بررسی منابع

۱-۲- ساختمان لیپوپروتئین ها ۵

۱-۱-۲- رده های اصلی لیپوپروتئینها ۵

۲-۱-۲-زیر رده های لیپوپروتئینها ۶

۲-۲- اجزاء لیپیدی ۸

۱-۲-۲- ترکیب لیپیدی ۸

۲-۲-۲- ترکیب اسید چرب ۹

۳-۲-۲- سازماندهی لیپیدها ۱۰

۳-۲- آپولیپوپروتئینها ۱۱

۱-۳-۲- رده ها و خواص عمومی ۱۱

۲-۳-۲- سازماندهی ژنی ۱۲

۳-۳-۲- توالی های نخستین (اولیه) ۱۳

۴-۳-۲- ساختمان دوم ۱۴

۵-۳-۲- ساختارهای سه بعدی در محلول ۱۶

۶-۳-۲- کمپلکس های آپولیپوپروتئین ها با لیپیدها ۱۸

۷-۳-۲- ساختارهای لیپوپروتئینهای اصیل ۱۹

٤-٢- **اجتماع** و ترشح لیپوپروتئین ها	٢١
١-٤-٢- مروری بر ترشح لیپوپروتئین به جریان خون	٢١
٢-٤-٢- هیات ساختاری apo B	٢٢
٥-٢- تنظیم رونویسی ساخت apo B	٢٤
١-٥-٢- عناصر DNA تنظیم کننده رونویسی	٢٤
٢-٥-٢- پردازش apo B mRNA	٢٥
٦-٢- مدل های مورد استفاده برای مطالعه ترشح	٢٧
٧-٢- تغییر شکل های کووالانت apo B	٢٩
٨-٢- تنظیم ترشح apo B به وسیله تامین لیپید	٣٠
١-٨-٢- اسیدهای چرب و تری اسیل گلیسرول ها	٣٠
٢-٨-٢- فسفولیپیدها (PLs)	٣٢
٣-٨-٢- کلسترول و استرهای کلسترل	٣٣
٤-٨-٢- پروتئین میکروزومی انتقال دهنده تری اسیل گلیسرول	٣٤
٥-٨-٢- کمبود MTP در انسان و موش سوری	٣٥
٦-٨-٢- بیان ژن MTP	٣٦
٩-٢- جابجائی و تجزیه درون سلولی apoB	٣٦
١-٩-٢- تجزیه پروتئوزومی apo B	٣٧
٢-٩-٢- تجزیه apo B درون مسیر ترشحی	٣٧
١٠-٢- ساخت و ترشح کیلومیکرون ها(CMs)	٣٨
١١-٢- ساخت لیپوپروتئین (a) LP(a)	٣٩
١٢-٢- دینامیک انتقال لیپوپروتئین در جریان خون در یک نگاه	٤٠
١-١٢-٢- اعمال فیزیولوژیک لیپوپروتئین ها (LPs) اصلی	٤٠
٢-١٢-٢- انتقال " رو به جلوی " لیپید (FLT)	٤١
٣-١٢-٢- انتقال " معکوس " لیپید (RLT)	٤٢
١٣-٢- تفسیر پروفایل لیپیدی و لیپوپروتئینی موش رت	٤٣
١٤-٢- استرس اکسیداتیو	٤٦
١٥-٢- شاهدانه	٤٩
١-١٥-٢- غله استراتژیک	٤٩

۲-۱۵-۲- شاهدانه به عنوان یک منبع تغذیه ای ۵۲
۳-۱۵-۲- واریته فینولا شاهدانه ۵۵
۴-۱۵-۲- شاهدانه و کانابینوئیدها ۵۷
۵-۱۵-۲- کارآزمائی های تغذیه ای شاهدانه در حیوانات ۶۰
۶-۱۵-۲- پروتئین شاهدانه ۶۰
۱۶-۲- فیتو استروژنها (PEs) ۶۳
۱-۱۶-۲- معرفی فیتواستروژن ها ۶۳
۲-۱۶-۲- جذب و متابولیسم فیتواستروژنها ۶۴
۳-۱۶-۲- نحوه عملکرد فیتواستروژنها ۶۵
۴-۱۶-۲- اثر هیپوکلسترولمیک استرولها و استانولهای گیاهی ۶۵
۵-۱۶-۲- بتا – سیتو استرول ۶۹
۱۷-۲- سیستم حشیش درون زا: سیستم اندوکانابینوئید (ECS) ۷۱
۱-۱۷-۲- معرفی سیستم اندوکانابینوئید ۷۱
۲-۱۷-۲- اعمال فیزیولوژیک ECS ۷۴
۳-۱۷-۲- بیولوژی سلولی اندوکانابینوئیدها: کانابینوئیدهای درون زا ۷۵
۴-۱۷-۲- گیرنده های کانابینوئیدی ۷۶
۵-۱۷-۲- انتقال پیام گیرنده CB1 ۷۷
۶-۱۷-۲- عملکرد طبیعی ECS ۷۹
۱-۶-۱۷-۲- اخذ غذا و رهایی از استرس ۸۰
۲-۶-۱۷-۲- تعادل انرژی و مکانیزم محیطی ۸۱
۱۸-۲- اعمال دیگر ECS ۸۲
۱۹-۲- عملکرد غیرطبیعی ECS ۸۲
۱-۱۹-۲- چاقی ۸۳
۲۰-۲- میانکنش ECS با دیگر مسیرها ۸۵
۱-۲۰-۲- لپتین ۸۵
۲-۲۰-۲- گرلین ۸۶
۳-۲۰-۲- کوله سیستوکینین (CCK) ۸۶
۴-۲۰-۲- سیستم ملانوکورتین ۸۷

۵-۲۰-۲- نروپپتید Y (NPY) ۸۷

فصل سوم: مواد و روش کار

۱-۳- حیوانات و جیره آنها ۸۸
۲-۳- نحوه تهیه پلت ۸۸
۳-۳- محتوی ماکرونوترینت های خوراک در گروهها ۸۸
۴-۳- آنالیز فیتو کمیکال دانه شاهدانه ۸۹
۱-۴-۳- آنالیز اسیدهای چرب ۸۹
۱-۱-۴-۳- استخراج چربی توده خشک شاهدانه ۸۹
۲-۱-۴-۳- تهیه متیل استر اسیدهای چرب از چربی استخراج شده ۹۰
۳-۱-۴-۳- آنالیز اسیدهای چرب با دستگاه گاز کروماتوگرافی ۹۰
۲-۴-۳- آنالیز پروتئین موجود در شاهدانه ۹۱
۵-۳- مراحل آماده سازی و نمونه گیری حیوانات ۹۲
۶-۳- عملیات بخش فراسنجه های سرمی ۹۲
۱-۶-۳- سنجش apo A1 ۹۳
۲-۶-۳- سنجش apo B ۹۴
۳-۶-۳- سنجش کلسترول ۹۶
۴-۶-۳- سنجش HDL-C ۹۷
۵-۶-۳- سنجش LDL-C ۹۹
۶-۶-۳- سنجش تری گلیسرید TGs ۱۰۰
۷-۳- اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم ۱۰۲
۸-۳- مطالعه هیستوپاتولوژیک ۱۰۲
۹-۳- بررسی اثر اشتها آوری و یا ضد اشتهاء شاهدانه ۱۰۳
۱-۹-۳- نحوه انجام آزمایش بررسی اثر اشتها آوری ۱۰۳
۱۰-۳- روش آنالیز آماری ۱۰۴

فصل چهارم: نتایج

۱-۴- خصوصیات پروفایل اسید چرب موجود در گروههای مورد مطالعه ۱۰۵
۲-۴- نتایج حاصل از فراسنجه های سرمی در گروههای مورد مطالعه ۱۰۵
۳-۴- نتایج تغییرات وزن و اندام های داخلی ۱۰۸

۴-۴- نتایج تغییرات قطر سلولهای چربی احشائی و مغابنی ۱۰۹
۵-۴- ارزیابی همبستگی فراسنجه های سرمی با شاخص های متابولیک ۱۰۹
۶-۴- اثر تغذیه با شاهدانه بر روی دریافت الکل ، آب و غذا ۱۱۰

فصل پنجم: بحث

۱-۵- اثر تغذیه با شاهدانه برروی پروفایل لیپیدی، لیپوپروتئینی و آپولیپوپروتئینی ۱۱۱

فصل ششم: منابع

منابع ۱۲۱

ضمایم:

جداول، تصاویر و نمودارها ۱۴۹
چکیده انگلیسی ۱۹۰
صفحه گواهی ۱۹۱

تقدیم به آستان مقدس باریتعالی که نعمت حیات به من ارزانی فرمود.

تقدیم به روح بلند مادر عزیزم که مشوقم در راه تحصیل علم بود.

تقدیم به همسرم دکتر معصومه یوسفی که فداکاری های بیدریغش و تلاشهای فراوانش تنها پشتوانه و دلگرمی من در تمام مراحل زندگی می باشد.

تقدیر و تشکر از :

پدر عزیزم که در راه تحصیلم زحمات زیادی کشید

پدر و مادر عزیز همسرم که حامیانی دلسوز و مهربانند

برادرم و خانواده محترمش

برادر همسرم و خانواده ارجمندش

خواهرانم و خانواده های محترمشان

جناب آقای مهندس امیر دادیان و خانواده بزرگوارشان

تقدیر وتشکر :

با تشکر از استاد ارجمند، مهربان و دلسوز جناب آقای دکتر حسین حیات غیبی که اتکا به نفس در زندگی را به من آموخت.

با تشکر از استاد محترم وفرزانه جناب آقای دکتر حسن انصاری که با وجود مشغله فراوان از هیچ کمکی دریغ نکردند.

با تشکر از استاد ارجمند جناب آقای دکتر حسن ملکی نژاد که با صبر و حوصله در تمام مراحل این پایان نامه مرا یاری فرمودند.

با تشکر از استاد بزرگوار و ارجمندم جناب آقای دکتر سیامک عصری رضایی که همچون استادی دلسوز، متین و مهربان و با بینش علمی خود همواره مرا راهنمایی فرمودند و امر داوری این پایان نامه را نیز بر عهده گرفتند.

با تشکر از استاد محترم جناب آقای دکتر مسعود مهام که زحمت داوری این پایان نامه را قبول فرمودند.

با تشکر از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر فیروز قادری پاکدل که قبول زحمت فرموده و امر داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند.

با تشکر از استاد ارجمند جناب آقای دکتر یوسف رسمی که قبول زحمت فرموده و امر داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند.

با تشکر از جناب آقای دکتر حسین تاجیک ریاست محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

با تشکر از جناب آقای دکتر سعید عزیزی معاونت محترم آموزشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

با تشکر از جناب آقای دکتر شهرام جوادی مسئول محترم تحصیلات تکمیلی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

با تشکر فراوان از دوست عزیزم جناب آقای دکتر عباس احمدی که زحمات زیادی در بررسی هیستوپاتولوژی این پایان نامه متقبل شدند.

با سپاس از دوست عزیزم جناب آقای دکتر حسینی که در انجام عملیات آزمایشگاهی این پایان نامه مرا یاری دادند.

با تشکر از سرکار خانم سونا سیدی نژاد کارشناس محترم آزمایشگاه فیزیولوژی که مادرانه مرا یاری دادند.

با تشکر از جناب آقای دکتر آق مسئول محترم مرکز تحقیقاتی آرتمیا که در آنالیز پروفایل لیپیدی شاهدانه همکاری نمودند.

با تشکر فراوان از کارکنان محترم پژوهشکده علوم زیستی آقایان مشکی وعزیزی .

با تشکر از کارکنان محترم بخش تحصیلات تکمیلی دانشگاه ارومیه.

با تشکر از کارکنان زحمتکش کتابخانه ، نشریات و بخش کامپیوتر دانشکده دامپزشکی.

با تشکر از آقایان بادنورد و ماهوری

و

در نهایت تشکر از تمامی دوستان وعزیزانی که مرا یاری دادند.

خلاصه فارسی:

عنوان: بررسی اثر تغذیه با شاهدانه بر روی پروفایل لیپید، لیپوپروتئین و آپولیپوپروتئین ها در موش صحرایی نر

شماره پایان نامه: ۳۸-۱

سال تحصیلی:۱۳۸۷-۱۳۸۶

نام نگارنده: دکتر اسحق کریمی

زمینه: شاهدانه کارخانه طبیعی بسیاری از ترکیبات شیمیایی گیاهی فعال زیستی می باشد. شواهد روایتی بیانگر این نکته است که شاهدانه به عنوان یک منبع غنی و متعادل از اسیدهای چرب غیر اشباع چند گانه(امگا-۶، امگا-۳)، فیتوکانابینوئیدها و فیتواستروژنها می تواند در التیام آلام مختلفی مفید باشد اما اثرات آن بر روی فیزیولوژی طبیعی هنوز در پرده ابهام می باشد!

هدف: در این مطالعه ما به بررسی اثرات اسید چرب رژیم غذایی که تنها از شاهدانه تامین شده بود بر روی پروفایل لیپیدی، لیپوپروتئینی و آپولیپوپروتئینی موش صحرایی پرداختیم.

مواد وروش کار : موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به پنج گروه (n=۱۰) تقسیم شدند : یک گروه (SCD) تنها رژیم غذایی کنترل (AIN 93 Mتعدیل شده) دریافت می کرد در حالیکه گروههای باقیمانده دو نوع مختلف از رژیم غذایی را دریافت می کردند.

نوع اول رژیم غذایی جیره ایزوانرژتیک نسبت به گروه کنترل بود که به نسبت دو درصد و چهار درصد شاهدانه در اختیار گروههای HST4,HST2 قرار می گرفت.

نوع دوم رژیم غذایی با انرژی و چربی بالا (HFHE) بود که به نسبت ۵۰ و۱۰۰ درصد شاهدانه به ترتیب در اختیار گروههای MD و WHS قرار می گرفت.

پس از ۳۵ روز، متعاقب محرومیت غذایی شبانه از حیوانات خونگیری شد و فراسنجه ها و پروفایل لیپیدی ،لیپوپروتئینی و آپولیپوپروتئینی آنها توسط اتوآنالایزر اندازه گیری شد.

نتایج: میزان تری گلیسرید بطور معنی داری در گروه WHS (۳/۸۳±۲۸/۱) و بطور غیر معنی داری در گروه HST2 (۲/۸۶±۴۳/۳) نسبت به گروه کنترل SCD(۲/۱۸±۴۰/۲) بود.

کلسترول تام سرم در گروه WHS(۲/۳۵ ±۳۵/۳) بطور معنی داری از همه گروههای مورد مطالعه کمتر بود و همچنین رژیم غذایی ایزوانرژتیک اختلاف معنی داری را با گروه کنترل ایجاد نکرد.

میزان کلسترول – لیپوپروتئین پر چگال در بین گروههای مورد مطالعه اختلافی را نشان نداد در حالیکه میزان کلسترول- لیپوپروتئین کم چگال در گروه WHS (۱۲/۷±۰/۵۱) بطور معنی داری و در گروههای دیگر بطور غیر معنی داری نسبت به گروه MD (۱۵/۱±۰/۷۹) کاهش یافته بود.

میزان سرمی آپولیپوپروتئین A-1 در گروه ایزوانرژتیک HST4 (۰/۴۷±۰/۱۱۱) نسبت به همه گروهها بطور معنی داری افزایش یافته بود و بطور کلی مصرف شاهدانه در تمام سطوح (۱۰۰ ،۵۰، ۴، ۲، ۰ درصد) بطور معنی داری میزان آپولیپوپروتئین A-1 را نسبت به گروه کنترل SCD(۰/۱۴±۰/۰۱۴) افزایش داده بود.

میزان سرمی آپولیپوپروتئینی B در گروهHST2 (۵۱/۲±۱/۰۸۲) در مقایسه با گروههای دیگر افزایش یافته بود و رژیم های غذایی ایزوانرژتیک (HST2& HST4) بطور معنی داری میزان این فراسنجه را بین همه رژیمهای غذایی افزایش داده است.

نتیجه گیری: شاهدانه به صرف یک منبع تغذیه ای نه تنها پروفایل لیپیدی و لیپوپروتئینی را بطور مثبت تعدیل ساخت بلکه عامل های خطر ساز بیماری های قلبی-عروقی را بهبود بخشید . بهر حال این تغییرات از نوع رژیم غذایی بسیار متاثر می شود.

فصل اول: مقدمه و هدف

به نام پر برکت حضرت دوست ، خداوند جلیل و ودود که هرچه نیکوست از اوست و سلام و درود بر پیامبر و سلاله پاک او که هر چه داریم به یمن وجود آل اوست.

بیماریهای قلبی – عروقی علل اصلی افزایش مرگ ومیر در جهان صنعتی می باشند (Grundy et al., 2004) و کاهش میزان کلسترول – لیپوپروتئین کم چگال (LDL-C) نخستین استراتژی برای کاهش خطر بیماریهای عروق کرونر قلب (CHD) می باشد و برای افراد در معرض خطر بالا میزان (LDL) کمتر از ۱/۸ mmol/L (۷۰ mg/dl) آرمانی می باشد (O Keefe et al., 2004).
بهر حال حفظ چنین حدی ازغلظت (LDL-C) بدون مداخلات درمانی غیر محتمل به نظر می رسد. داروهای استاتینی[1] در کاهش کلسترول موثر به نظر می رسند و به طور وسیع تجویز می شوند (Stein, 2003) ولی بسیار گران بوده و دارای اثرات جانبی و حتی کشنده می باشند (Evans& Ress, 2002; Farmer, 2003).
تعدیل پروفایل لیپیدی و لیپوپروتئینی خون از طرق غیر دارویی نظیر دریافت اجزای غذایی خاص به نظر بسیار منطقی می آید. مواد غذایی خاص با منشاء گیاهی از جمله استرولهای گیاهی به عنوان پایین آورندگان موثر کلسترول مطرحند(Katan et al.2003; Ostlund , 2004) لذا غذاهایی با منشاء گیاهی و محصولات صناعی غنی از مواد شیمیایی گیاهی[2] به عنوان محافظت کننده های قلب وعروق مطرحند هرچند بعضی اوقات دارای مواد آسیب رسان نیز می باشند.
گیاه شاهدانه که گیاهی دو پایه و یک ساله است (Adams & Martin, 1996) دارای محصولات بسیار مهمی در بازار دارو و غذا شامل دانه کامل ، دانه پوست کنده، روغن دانه، ماری جوانا، حشیش و الیاف می باشد در تمام کشورهای دنیا این گیاه را به عنوان" غله بیلیون دلاری" می شناسند و در کشورهای آسیایی مثل چین، ایران، پاکستان، ترکیه و.... دانه های بو داده آن همراه با گندم در هر عطاری و سوپر مارکتی یافت می شود. شاهدانه در کشورهای اروپایی و کانادا بعنوان یک غله صنعتی مطرح است(Callaway, 2004). در ایران به منظور جلوگیری از سوء مصرف محصولات این گیاه: حشیش و علف (ماری جوانا) هر دو گونه داروئی و غیر داروئی آن توسط نیروی انتظامی منهدم می شود.

---

[1] . Statin drug
[2] . Phytochemical

دانه کامل شاهدانه حدودا حاوی ۲۵ درصد پروتئین، ۳۱ درصد چربی و۳۴ درصد کربوهیدرات می باشد علاوه بر این حاوی طیف وسیعی از ویتامین ها و مواد معدنی می باشد (Callaway, 2004; Darshan & Rudolph, 2000; Leizer et al., 2000).

روغن شاهدانه حاوی ۱۱-۹ درصد اسید چرب اشباع و ۸۰-۷۵ درصد اسید چرب غیر اشباع چند گانه (PUFA) می باشد . دانه این گیاه حاوی ترکیبات ترپنی نظیر فیتو کانابینوئیدها استرولهای گیاهی و مقادیر بالایی از PUFA می باشد اما هنوز به علت سوء مصرف گیاهی ممنوعه می باشد!

ترکیبات کانابینوئیدی این گیاه راه را برای کشف سیستم حشیش درون زا (اندوکانابینوئید)[1] هموار کرد که در بسیاری از اعمال سایکوفیزیولوژیک، وابستگی داروئی، ایمنی، باروری، کنترل حرکت، اخذ غذا و کنترل متابولیسم نقش دارد.

از آنجائیکه شاهدانه حاوی ترکیبات مشهی نظیر تترا هیدروکانابینول (THC)[2] از یک طرف و ترکیبات دیگر نظیر PUFA و استروژنهای گیاهی نظیر بتا سیتواسترول می باشد و در کل یک دانه روغنی محسوب می شود، در این مطالعه سعی شده است که به بررسی اثر تغذیه با شاهدانه با دو نوع مختلف رژیم غذایی پر انرژی و پر چرب[3] و رژیم غذایی ایزوانرژتیک[4] بر روی متابولیسم لیپیدی موش صحرایی نر بالغ پرداخته شود.

---

[1] . Endocannabinoid : Our Endogenous Marijuana system
[2] .Tetrahydrocannabinol
[3] . High fat, high energy diet
[4] . Isoenergetic diet

فصل دوم : بررسی منابع

۱-۲. ساختمان لیپوپروتئین[1] ها:

لیپوپروتئین ها، کمپلکس های محلول پروتئینی (آپولیپوپروتئین ها[2]) و لیپیدی می باشند که لیپیدها را در جریان خون همه مهره داران و حتی حشرات انتقال می دهند. لیپوپروتئین ها در کبد و روده ساخته می شوند. همچنین از تغییرات متابولیک لیپوپروتیئن های مادر و یا در سطح غشاء سلول از لیپیدهای سلولی و لیپوپروتئین ها یا آپولیپوپروتئین های با منشاء خارجی (اگزوژن) حاصل می شوند. لیپوپروتئین ها در جریان خون بسیار پویا می باشند و متحمل واکنش های آنزیمی اجزاء لیپیدی خود، انتقال لیپیدی خود به خودی تسهیل شده، انتقال آپوپروتئین های محلول و تغییرات ساختاری آپولیپوپروتئین ها درپاسخ به تغییر ترکیبات خود می شوند. در نهایت لیپوپروتئین ها توسط کبد ، کلیه و بافتهای محیطی از طریق مکانیزم های با واسطه گیرنده و دیگر مکانیزم ها برداشته و کاتابولیزه می شوند.

۱-۱-۲. رده های اصلی لیپوپروتئین ها:

هر چند اجتماع[3]، ساختمان ، متابولیسم و میانکنش های گیرنده های لیپوپروتئین ها به وسیله اجزاء آپولیپوپروتئین های آنها تعیین می شود ولی معمولترین طبقه بندی آنها براساس دانسیته هیدراته[4] آنها و یا حرکت آنها روی الکتروفورز ژل آگاروز[5] می باشد.

طبقه بندی لیپوپروتئین ها به کیلومیکرونها[6]، لیپوپروتئین بسیار کم چگال (VLDL)[7] ، لیپوپروتئین کم چگال (LDL)[8] و لیپوپروتئین پرچگال (HDL)[9] براساس میزان نسبی پروتئین و لیپید آنها است است که دانسیته آنها را مشخص می کند. کیلومیکرونها دارای یک تا دو درصد پروتئین بوده در حالیکه HDL دارای ۵۰ ٪ پروتئین می باشد. قطر لیپوپروتئین ها رابطه معکوس با دانسیته آنها دارد و از ۶۰۰۰ آنگستروم در CM تا ۷۰ آنگستروم در HDL تغییر می کند (شکل ۱-۲).

---

1. Lipoproteins
2. Apolipoproteins
3. Assemby
4. Hydrated density
5. Agarose gel- electrophoresis
6. Chylomicrons (CM)
7. Very low-density lipoprotein (VLDL)
8. Low density- lipoprotein (LDL)
9. High density- lipoprotein (HDL)

سازمان دهی عمومی ساختار تمام رده های لیپوپروتئینی مشابه می باشد و شامل آپولیپوپروتئین ها و لیپیدهای دوگانه دوست (بیشتر فسفولیپیدها[1] و کلسترول غیراستریفیه[2]) می باشد که یک پوسته ۲۰ آنگسترومی روی سطح ذره کروی تشکیل می دهد . این پوسته، هسته ای از لیپیدهای خنثی (تری آسیل گلیسرول ها، استرهای کلسترول و مقادیر ناچیزی از کلسترول غیر استریفیه و لیپیدهای محلول دیگر نظیر ویتامین های محلول در چربی) را در بر میگیرد. جزء اصلی پروتئینی که خاص هر رده از لیپوپروتئین ها می باشد در شکل (۱-۲) آمده است و به صورت مبسوط در بخش ۳ همین فصل تشریح می شود. اعمال اصلی رده های لیپوپروتئینی مدیون اجزاء آپولیپوپروتئین ها (apo) و لیپید آنها می باشد و CM در روده برای انتقال تری آسیل گلیسرول های رژیم غذایی به بافت های مختلف ساخته می شود. VLDL در کبد برای صادر کردن تری اسیل گلیسرول ها درون زا ساخته می شود در حالیکه LDL حاصل تغییر شکل متابولیک VLDL در جریان خون می باشد. عمل اصلی LDL تحویل استرهای کلسترول[3] به بافت های محیطی و کبد می باشد. HDL در کبد و روده طی تغییر شکل متابولیک دیگر لیپوپروتئین ها در جریان خون و از لیپیدهای سلولی در غشاء سلول حاصل می شود. HDL کلسترول زیادی را از سلولها برداشته و به کبد و بافتهای سازنده استروئیدها به منظور متابولیسم و دفع انتقال می دهد. لیپوپروتئینها براساس حرکت الکتروفورتیک روی ژلهای آگاروز به لیپوپروتئین های آلفا، پیش بتا و بتا[4] رده بندی می شوند که به ترتیب معادل HDL ، VLDL و LDL براساس رده بندی بر پایه دانسیته می باشد. CM در صورت وجود در نقطه آغاز الکتروفورز می ماند.

اگرچه غلظت لیپوپروتیئن ها در پلاسما بسیار متغیر است و وابسته به جنس ، سن، وضعیت تغذیه ای، وضیعت هورمونی و متابولیکی و مرحله بیماری فرد می باشد اما یک توزیع نمایشی آنها در پلاسمای یک مرد بالغ سالم ناشتا تقریبا به صورت mg/dl ۰ برای CM، mg/dl ۱۵۰ برای VLDL، mg/dl ۴۱۰ برای LDL و mg/dl ۲۸۰ برای HDL می باشد(Barklay, 1972) .

۲-۱-۲. زیر رده های لیپوپروتئین ها:

لیپوپروتئین های هر رده براساس دانسیته، اندازه و محتوی لیپیدی و آپولیپوپروتئینی و همچنین خواص عملکردی ناهمگون می باشند و آنها را می توان توسط تکنیک هایی چون اولترا سانتریفیوژ[5]،

---

[1] . Phospholipids (LP)
[2] . Unesterified cholestrol
[3] . Cholestryl esters
[4] . α, pre β, β
[5] . Ultracentrifugation

فیلتراسیون ژل[1]، الکتروفورز و کروماتوگرافی ترکیبی[2] به زیر رده های مربوطه جدا کرد. HDL براساس اولتراسانتریفیوژ و فیلتراسیون ژل به زیر رده های HDL_1 ، HDL_2 و HDL_3 به ترتیب از بزرگترین اندازه و کمترین دانسیته تا کوچکترین اندازه و بیشترین دانسیته تقسیم بندی می شود.

زیر رده HDL1 غنی از apo E بوده و کمترین مقدار را دارد که اغلب در نظر گرفته نمی شود. ژل الکتروفورز غیردناتوره کننده[3] زیر رده های HDL_2 و HDL_3 را بیشتر جدا می سازد و آنها را به گونه های HDL_{2a} , HDL_{2b} , HDL_{3a} , HDL_{3b} , HDL_{3c} با دانسیته ۱/۰۸۵ g/ml تا ۱/۱۷۱ ومحدوده اندازه قطر ۱۰۶ تا ۷۶ آنگستروم به ترتیب تقسیم می کند(Blanche et al., 1981). با استفاده از ستون های با میل ترکیب ایمنی[4] برای آنتی – آپولیپوپروتئین دو زیر رده اصلی HDL از یکدیگر جدا می شوند: یک زیر رده حاوی apo A1 بوده و حاوی apo A2 نبوده که به آنها LpA-I گویند و زیر رده دیگر حاوی هر دو apoA1 و apoA2 است و LpAI/A-II می باشد. پروتئین های فرعی (apo Cs, apo E) در زیر رده های HDL در مقادیر معنی داری ممکن است وجود و یا وجود نداشته باشد (Cheung & Albers, 1984). به طور میانگین ، HDL انسانی حاوی ۷۰ درصد apo A1 ، ۲۰ درصد apo A2 و ۱۰ درصد آپولیپوپروتئین های فرعی می باشد.

جداسازی دوبعدی[5] HDL (الکتروفورز ژل آگاروز در یک بعد و الکتروفورز غیردناتوره ژل پلی آکریل آمید[6] در بعد دوم) زیر رده های HDL مهاجر آلفا، پری بتا و گاما با اندازه و ترکیبات متنوع را را جدا می سازد. زیر رده مهاجر pre β در غلظت پائینی در پلاسما در مقابل مقادیر زیاد گونه آلفا وجود دارد در حالیکه در مایع بینابینی در غلظت بسیار بالائی می باشد اما از لحاظ متابولیکی بسیار فعال است و نمایانگر اشکال نوزاد HDL[7] بوده که در برداشت کلسترول از سلولها (pre β1-HDL) و استریفیه کردن کلسترول به وسیله LCAT[8] (pre β3-HDL و pre β2-HDL) فعال می باشند(Fielding & Fielding, 1995). به خاطر نقش کلیدی اینها در برداشت کلسترول به وسیله سلول pre β1-HDL به طور وسیع مورد مطالعه قرارگفته است. اینها حاوی دو مولکول apo A1 در هر ذره بوده و دارای apo A2 و دیگر پروتئین ها نمی باشند. محدوده جرمی آنها از ۶۰ تا ۸۰ کیلودالتون متغیر است و محتوی حدود ۹۰ درصد پروتئین ، هفت درصد فسفولیپید و ۰/۳ درصد کلسترول غیراستریفیه و۱/۸ درصد کلسترول استریفیه می باشند. pre β1-HDL تنها حدود هفت

---

1. Gel Filtration
2. Affinity chromatography
3. Non-denaturing gel electrophoresis
4. Immunoaffinity columns
5. Two- dimensional separation
6. Polyacrylamide
7. Nascent Forms
8. Lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT)

درصد apo A1 تام در پلاسما را در بردارد و دارای یک کونفورماسیون منحصر به فردی از apo A1 است که از apo A1 موجود در HDL مهاجر α متفاوت است. در مورد دیگر زیر رده pre β-HDL مطالب کمتری وجود دارد به جز اینکه شکل آن دیسکی می باشد و حاوی مقادیر زیادی فسفولیپید بوده و دارای جرمی حدود ۳۰ کیلودالتون می باشد.

رده های دیگر لیپوپروتئین به وسیله روشهای جداسازی مشابهی به زیر رده هایی با دانسیته و اندازه متفاوت جدا می شوند. زیر رده هایی از LDL در محدوده دانسیته g/ml ۱/۰۲۷ تا ۱/۰۶۰ و اندازه ۲۷۰ تا ۲۱۰ آنگستروم به دست آمده است که دارای خواص متابولیک مختلف می باشند (Shen et al., 1981)LDL. با چگالی پائین[1] حاوی مقادیر بالاتر تری آسیل گلیسرول بوده و ظاهرا پیش تصلب زاترین گونه LDL می باشد. CM و VLDL همواره در حال تغییرات دانسیته، اندازه و ترکیب به علت هیدرولیز تری آسیل گلیسرول های خود به وسیله لیپوپروتئین لیپاز و معاوضه آپولیپوپروتئین های محلول می باشند لذا این رده از لیپوپروتئین ها یک طیف ممتدی از ذرات را تشکیل می دهند.

۲-۲. اجزاء لیپیدی:

۲-۲-۱. ترکیب لیپیدی:

مقدار و ترکیب لیپید رده های اصلی لیپوپروتئین در (جدول ۲-۱) آورده شده است که بیانگر این نکته است که محتوی لیپیدی تام[2] رابطه معکوس با دانسیته لیپوپروتئین ها دارد.

گلیسرولیپیدها[3] اساسا آسیل گلیسرول ها، اجزاء عمده لیپیدی CM و VLDL می باشند اما کمتر از ۱۱ درصد لیپیدهای موجود در LDL و HDL غنی از استرهای کلسترل (۵۱-۲۴ درصد) را تشکیل می دهند. کلسترول غیراستریفیه در همه رده های لیپوپروتئین در نسبت های پائین یافت می شود زیرا کلسترول توسط LCAT روی HDL به طور فعال استریفیه شده و آن گاه توسط پروتئین انتقال دهنده استر کلسترول[4] به LDL و VLDL انتقال می یابد. محتوی فسفولیپیدی تام لیپوپروتیئن ها با با افزایش دانستیه افزایش می یابد و به طو مستقیم مرتبط با میزان سطح ذرات لیپوپروتئینی است به طوریکه سطح لیپوپروتئین ها به وسیله یک لایه از فسفولیپیدها (PL) و آپولیپوپروتئین ها پوشیده شده است. فسفولیپیدهای اصلی شامل فسفاتیدیل کولین ها (PC) (۸۱-۵۷ درصد) و بعد از آن

---

[1]. Small dense LDL
[2]. Total Lipid Content
[3]. GlyceroLipids
[4]. Cholesterol ester transfer protein (CETP)

اسفنگومیلین ها (۲۶-۱۲ درصد) lyso PC [1] و دیگر فسفولیپیدها (فسفاتیدیل اتانول آمید، فسفاتیدیل سرین و فسفاتیدیل اینوزیتول) پنج درصد وزن فسفولیپیدها را تشکیل می دهد.
گلیکولیپیدها در مقادیر ناچیزی وجود دارند واسیدهای چرب آزاد کمتر از سه درصد توده کلی لیپیدها را تشکیل می دهند .

۲-۲-۲. ترکیب اسید چرب:

در حالت ناشتا، ترکیب اسید چرب لیپیدهای لیپوپروتئین منشاء بیوسنتتیک و تغییر شکل متابولیک آنها را در جریان خون منعکس می سازد (جدول ۲-۲) (Skipski, 1972) . گلیسرولیپیدها (غالبا تری اسیل گلیسرول) دارای مقادیر بالای اسیدهای چرب ۱۸:۱ و ۱۶:۰ می باشند که بیانگر ساخت آنها در کبد می باشد و عمده استرهای کلسترول لیپوپروتئینهای موجود در گردش خون انسان به وسیله عمل LCAT ساخته می شوند. این آنزیم روی HDL PCs [2] و کلسترول غیراستریفیه عمل کرده و Lyso PC و استر کلسترول را تشکیل می دهد. در این واکنش، LCAT ترجیحا گونه های PC با اسیدهای چرب ۱۸:۲ و ۱۸:۱در موقعیت کربن دوم گلیسرول [3] را استفاده کرده و لذا استرهای کلسترول را از این اسیدهای چرب غنی می سازد. در مقابل ، PC حاوی اسیدهای چرب ۱۸:۰ یا ۲۰:۴ سوبسترای ضعیفی برای LCAT می باشد که توضیح دهنده مقادیر کم این اسیدهای چرب در استرهای کلسترول می باشند. ترکیب اسید چرب فسفولیپیدهای موجود در لیپوپروتئین ها مشابه ترکیب اسید چرب فسفولیپیدهای غشاء سلول خصوصا سلولهای کبدی و روده ای می باشد که در برگیرنده مقادیر نسبتا بالایی از اسیدهای چرب ضروری ۱۸:۲و ۲۰:۴ می باشند. به طور کلی در شرایط ناشتا، ترکیبات اسید چرب در بین رده های لیپوپروتئین برای نوع خاصی از لیپید شبیه می باشند که علت آن انتقال لیپیدها بین همه لیپوپروتئینها به وسیله CETP و پروتئین انتقال دهنده فسفولیپید [4] (PLTP) می باشد. بعد از تناول غذا ترکیب اسید چرب گلیسرولیپیدهای VLDL تا اندازه ای منعکس کننده ترکیب اسید چرب رژیم غذایی می باشد اما ترکیب اسید چرب LDL و HDL به سختی متاثر می شود. ترکیبات اسید چرب در CMs به خوبی ترکیب اسید چرب خوراک را خصوصا ۱۰-۸ ساعت بعد از یک وعده غذایی که غلظت CM در لنف و پلاسما در حداکثر خود می باشد را منعکس می سازد.

---

[1] . Lyso phosphatidyl choline
[2]. HDL-Phosphatidylcholines
[3] . *sn*-2 position
[4] . Phospholipid transfer protein (PLTP)