



ارزش آزمایشگاهی لیپوپروتئین‌ها در دامپزشکی

فرزاد اسدی

لیپوپروتئین‌ها ساختارهای مدوری هستند که وظیفه انتقال لیپیدهای هیدروفوبیک (تری‌گلیسرید TG و کلسترول استریفیه EC) را در جریان خون به‌عهده دارند. این ذرات دارای یک پوسته متشکل از فسفولیپید، کلسترول آزاد (FC) و پروتئین‌ها (اصطلاحاً آپولیپوپروتئین یا آپوپروتئین) هستند که حول یک بخش مرکزی حاوی TG و EC را پوشانده‌اند.

لیپوپروتئین‌ها را بر مبنای روش جداسازی در آزمایشگاه‌ها طبقه‌بندی کرده‌اند. در این خصوص بر مبنای دانسیته شناوری در گرادیان محلول نمکی با استفاده از اولتراسانتریفوژ لیپوپروتئین‌های پلاسمایی یا سرمی را بر مبنای چگالی سنگین به سبک به انواع ذیل طبقه‌بندی شده‌اند:

(۱) High density lipoprotein (HDL)

(۲) Lipoprotein (a) (Lp(a))

(۳) Low density lipoprotein (LDL)

(۴) Intermediate density lipoprotein (IDL)

(۵) Very low density lipoprotein (VLDL)

(۶) Chylomicrone (Chy)

در این بین Chy فقط در حالت پس از صرف غذا در پلازما یا سرم حضور دارد و در شرایط ناشتایی در خون طبیعی حضور ندارد. زمان مورد نیاز جهت حذف Chy از جریان خون و یا به‌عبارت دیگر زمان ناشتایی مورد نیاز برای تست‌های آزمایشگاهی در آزمایشگاه‌های انسانی ۱۶-۱۴ ساعت است. در این خصوص در حیطة دامی ناشتایی overnight (۱۲ ساعت) جهت انجام تست‌ها کافی است.

از سوی دیگر لیپوپروتئین‌ها بر مبنای میزان حرکت در یک میدان الکتریکی بر روی بستر خنثی (الکتروفورز روی کاغذ استات سلولز) به انواع آلفا، پر بتا و بتالیپوپروتئین طبقه‌بندی شده‌اند که در این بین نوع آلفا بیشترین و نوع بتا کمترین حرکت الکتروفورتیکی را نشان می‌دهد.

۱. استاد بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

*نویسنده مسؤول: fasadi@ut.ac.ir



کلسترول موجود در (LDL-C) LDL طبق پیشنهاد فریدوالد (تفریق کلسترول‌های موجود در HDL و LDL از TC) محاسبه می‌گردد.

اختلالات لیپید و لیپوپروتئین (هیپرلیپمی یا هیپرلیپوپروتئینمی) نسبتاً در دامپزشکی شایع هستند که این اختلالات به صورت اولیه یا ثانویه تظاهر می‌یابند. تفکیک این دو نوع از یکدیگر با استفاده از تست‌های بیوشیمی امکان‌پذیر است. در حیطه دامپزشکی اختلالات لیپید و لیپوپروتئین در دام‌های کوچک (به‌ویژه سگ‌ها) و پرندگان زینتی حائز اهمیت است. نوع اولیه در سگ‌ها می‌تواند ناشی از Idiopathic hyperlipidemia یا Hypercholesterolemia باشد و انواع ثانویه می‌تواند ناشی از High fat diet, Diabetes Mellitus, Hyperadrenocorticism, Acute pancreatitis, Protein losing nephropathy و Cholestasis باشد.

شرایط هیپرلیپمی همچنین می‌تواند به صورت کاذب روی سایر پارامترهای بیوشیمیایی خون نیز مؤثر باشد. در این خصوص هیپرلیپمی به صورت کاذب موجب افزایش بیلی‌روبین تام، پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، گلوکز، کلسیم، فسفر و اسیدهای صفراوی می‌شود و به صورت کاذب موجب کاهش پارامترهای الکترولیتی و آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز، AST، ALT و ALP می‌شود.

در سگ‌ها میزان TC بالای ۳۰۰-۵۰۰ mg/dL به عنوان افزایش خفیف، ۷۵۰-۵۰۰ mg/dL افزایش متوسط و بالای ۷۵۰ mg/dL به عنوان افزایش شدید تلقی می‌شود. در خصوص TG مقادیر ۴۰۰-۱۵۰ mg/dL افزایش خفیف، ۱۰۰۰-۴۰۰ mg/dL افزایش متوسط و مقادیر بالای ۱۰۰۰ mg/dL به عنوان افزایش شدید طبقه‌بندی می‌شود. از سوی دیگر در سطح بالین می‌توان سرم‌های تورید را حاوی مقادیری بالای ۱۰۰۰ mg/dL و سفید رنگ را حاوی مقادیری بالای ۱۰۰۰ mg/dL تری‌گلیسرید دانست.

در سگ‌ها هیپرلیپیدمی (هیپرکلسترولمی) پایدار می‌تواند علی‌رغم مقاوم بودن آن‌ها موجب ایجاد ضایعات عروقی در آن‌ها شود. به علاوه این سگ‌ها بیشتر در معرض دیابت ملیتوس و هیپوتیروئیدسم هستند. گربه‌های مبتلا در چنین حالتی Xanthomas (ندول‌های زرد رنگ) را در سطح جلد نشان می‌دهند. در شرایط هیپرتری‌گلیسریدمی احتمال بروز دیابت ملیتوس و پانکراتیت در سگ‌ها افزایش می‌یابد. در پرندگان زینتی هیپرلیپمی می‌تواند همراه با Hepatolipidosis و در نهایت مرگ آن‌ها به‌ویژه در طوطی‌ها شود؛ از این رو انجام تست الکتروفورز سرم علاوه بر تست‌های بیوشیمیایی لیپید و لیپوپروتئین می‌تواند مفید باشد.

نسبت درصد انواع لیپوپروتئین‌ها در حیوانات مختلف متفاوت است. در این خصوص لیپوپروتئین غالب در حیوانات آزمایشگاهی نوع بتا، در حیوانات اهلی (گاو، اسب، بز، گوسفند) و همچنین حیوانات وحشی (مینک، فکس، آهو) از نوع آلفا است. انسان و خوک از نوع بتا هستند. در شرایط کلینیکی اندازه‌گیری TG و کلسترول تام (TC) جهت ارزیابی وضعیت لیپید و لیپوپروتئین خون در دامپزشکی کاربرد دارد. البته در حیطه پزشکی از روش ای اولترا سانتریفوژ و الکتروفورز نیز استفاده می‌شود. در صورتی که یک نمونه پلاسمای کدر به آزمایشگاه ارجاع شود؛ اولین تستی که در آزمایشگاه می‌توان به صورت چشمی در خصوص وضعیت لیپیدهای پلاسمایی انجام داد، تست یخچال است. برای این منظور کافی است پلاسما را ۱۲ ساعت در یخچال قرار داد و متعاقباً پلاسما را نگاه کرد. در صورتی که شفاف شد و یک لایه چربی در سطح آن تجمع یافت؛ ناشی از غذا بوده و در غیر این صورت ناشی از اختلال در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها است. نمونه‌های ارجاعی به آزمایشگاه برای انجام پانل لیپید و لیپوپروتئین‌ها بایستی بلافاصله انجام شوند در غیر این صورت بایستی در یخچال نگهداری شوند. نمونه‌ها تا ۴ روز در یخچال برای انجام تست‌های لیپیدی و لیپوپروتئینی پایدار هستند. در غیر این صورت نمونه‌ها را بایستی در ویال‌های درب‌دار در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد. سنجش TC در نمونه‌های سرمی، پلاسمایی، غذا یا محصولات دامی را می‌توان به صورت مستقیم یا غیر مستقیم انجام داد. در روش مستقیم که برای نمونه‌های سرمی یا پلاسمایی کاربرد دارد؛ عمدتاً روش‌های آنزیمی بوده که ابتدا EC را به کلسترول آزاد تبدیل کرده و در ادامه میزان تام کلسترول سنجش می‌شود. برای سایر نمونه‌ها بهتر است با یکی از روش‌های استخراج لیپید ابتدا اقدام به استخراج لیپید کرد و در ادامه میزان TC را سنجش کرد. سنجش TG نیز به همین دو شکل امکان‌پذیر است با این تفاوت که در این خصوص ابتدا TG را هیدرولیز کرده و در ادامه میزان گلیسرول آزاد شده به عنوان نماد میزان TG جهت تخمین آن به کار می‌رود. در خصوص فسفولیپیدها (PL) نیز می‌توان با این روش اقدام کرد که در این رابطه فسفولیپیدها را هضم کرده و میزان فسفر آزاد شده به عنوان شاخص جهت تخمین میزان PL به کار می‌رود. سنجش کلسترول موجود در (HDL-C) HDL با استفاده از رسوب لیپوپروتئین‌های حاوی آپولیپوپروتئین B100 توسط فسفوتنگستات، لی‌دکستران یا هپارین در حضور یون‌های منیزیم یا منگنز انجام می‌شود. برای این منظور ابتدا این لیپوپروتئین‌ها رسوب داده می‌شوند و در ادامه در مایع رویی که HDL حضور دارد اقدام به سنجش HDL-C می‌شود. غلظت کلسترول موجود در VLDL (VLDL-C) طبق روش تخمین (یک پنجم میزان TG) و میزان