خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۱ شماره ۳ پاییز ۹۳ (۲۲۹-۲۲۱)

مقاله پژوهشی

اثر لیپوپروتئین‌های با وزن مولکولی کم بر تشکیل ترومبوز عروقی

محسن حمیدپور[۱]، علی‌اکبر خادم معبودی[۲]، فاطمه سیگارچیان تقی‌زاده[۳]، محسن جانملکی[۴]، سید بهزاد سید علیخانی[۵]

چکیده

سابقه و هدف

شواهد بسیاری وجود دارند که لیپیدها به ویژه لیپوپروتئین‌ها با وزن مولکولی پایین و همین طور پلاکت‌ها نقش مهمی در پاتوژنز پلاک آترواسکلروزیس و تشکیل لخته عروقی دارند. مساله مهم این است که چگونه لیپیدها می‌توانند باعث القای تشکیل ترومبوز اولیه گشته و چه آزمایش‌هایی در تشخیص زودرس این ترومبوس‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؟

مواد و روش‌ها

این تحقیق به روش مقطعی(cross sectional) انجام شد. ۴۲ نفراز میان افرادی که سابقه افزایش چربی با کلسترول تام سرم بالاتر از ۲۰۰ mg/dL داشتند و ۱۴ نفر از میان افراد داوطلب سالم (کلسترول طبیعی) به عنوان شاهد سالم انتخاب شدند. پس از جمع‌آوری LDL سرم نمونه‌ها و اکسید کردن آن‌ها، فعالیت پلاکت‌ها در مجاورت این نمونه‌ها آزمایش شد. نتایج با استفاده از SPSS ۱۶ و آزمون t-test تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

میزان جذب LDL اکسیده نمونه ها از ۰/۴۵ در LDL طبیعی به ۰/۹۸ در فرم اکسیده تبدیل شده($p< ۰/۰۰۰۸$). برخلاف LDL طبیعی، لیپوپروتئین‌های اکسید شده موجب افزایش تجمع پلاکتی با اگریگومتری شدند، فعالیت پلاکت‌ها در مجاورت n-LDL فقط ۱۱٪ بود، در صورتی که در مجاورت ۲۰ mg/dL از OX-LDL ، این فعالیت تا ۴۵٪ رسید. فلوسیتومتری نشان داد که حداکثر میزان باند شدن پلاکت‌ها به فیبرینوژن در مجاورت ۱۰ میکرومول ADP و ۲۰ mg/dL لیپوپروتئین‌های طبیعی و اکسید شده، به ترتیب ۸٪ و ۸۲٪ بود.

نتیجه گیری

آزمایش‌ها نشان دادند که چنانچه لیپیدها در مجاورت مواد و داروهای اکسیدان قرار گیرند، اکسید شده و موجب فعالیت بیشتر پلاکت‌ها می‌گردند. بنابراین احتمال ایجاد ترومبوز وریدی و بیماری‌های قلبی عروقی زیاد می‌شود.

کلمات کلیدی: **آترواسکلروزیس، ترومبوز، LDL کلسترول**

تاریخ دریافت : ۹۲/۳/۲۸
تاریخ پذیرش : ۹۲/۱۱/۱

۱- مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی ـ استادیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۹۷۱۶۵۳۳۸۳
۲- PhD آمار حیاتی ـ دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ گروه آمار حیاتی ـ تهران ـ ایران
۳- کارشناس ارشد محیط زیست ـ شورای تخصصی دندانپزشکی معاونت آموزشی ـ وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ـ تهران ـ ایران
۴- کارشناس مهندسی پزشکی ـ دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مهندسی بافت ـ تهران ـ ایران
۵- کارشناس مهندسی پزشکی ـ دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

مقدمه

لخته‌هایی که در ضایعات آترواسکلروزیس عروق به خصوص عروق کرونری ایجاد می‌شود، می‌تواند مسؤول ترومبوس و نهایتاً ایسکمی قلبی گردد. در بررسی‌های اپیدمیولوژی گزارش شده که عامل بیش از ۵۰٪ بیماران قلبی عروقی در ایالات متحده، ژاپن و اروپا ناشی از آترواسکلروزیس می‌باشد(۳-۱). گر چه مکانیسم پاتوفیزیولوژیکی ایجاد ترومبوس شریانی به طور گسترده‌ای مشخص شده، ولی هنوز نکاتی قابل بحث وجود دارد که باید مورد بررسی قرار گیرد. به دنبال رسوب لیپیدها به خصوص LDL و اکسید شدن آن‌ها در ماکروفاژهای جدار عروق و سلول‌های مزانشیال عضلات صاف و انتقال آن‌ها به سلول‌های فوما لیپیدی- لیدن (Lipid- Laden foam cells)، بیشترین تغییر را در لایه اینتمای شریان‌ها ایجاد می‌کنند. پیشرفت آترواسکلروزیس توام با نفوذ و گسترش این سلول‌ها به زیر اندوتلیوم، تحت تاثیر مواد ماتریکسی قرار گرفته که نهایتاً منجر به تشکیل آتروما می‌گردد(۵، ۴).

تغییرات در شدت جریان خون شریانی موجب گسیختگی پلاک و به دنبال آن تماس پلاکت‌ها با پروتئین‌های زیر اندوتلیال مانند کلاژن، فون‌ویلبراند و ترمبواسپوندین گشته و موجب تشکیل ترومبوس اولیه می‌گردد.

از طرف دیگر پلاک آترواسکلروتیک باعث فعال شدن فاکتورهای انعقادی شده و لخته فیبرینی تشکیل می‌گردد و با افزایش اندازه لخته، تنگی عروق شروع می‌شود(۶، ۴). همین طور Minimal OX-LDL (m-OX-LDL) می‌تواند پلاکت‌ها را فعال کرده و باعث تغییر شکل آن‌ها شده و تجمع پلاکتی را افزایش دهد. با توجه به شرایط فیزیولوژیکی هر فرد ممکن است تاثیر لیپیدها بر روی فعالیت پلاکتی متغیر باشد(۷).

از طرفی نفوذ LDL به درون این سلول‌ها و اکسید شدن آن‌ها باعث القای آپوپتوزیس در سلول‌های فوما شده، پس از آپوپتوزیس سلولی، لیپیدها بر سطح غشای سلول تراوش کرده و موجب فعال شدن بیشتر فاکتورهای انعقادی و افزایش تجمع پلاکتی می‌گردد(۱۰-۸).

در افرادی که دچار هیپر لیپیدمی تیپ II هستند، میزان ترومبوکسان TXA2 افزایش یافته که خود موجب پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت‌های پلاکت می‌گردد(۱۱، ۲). در این پروژه چگونگی اثرات LDL اکسید شده در فعال کردن پلاکت‌ها به عنوان اولین عامل تشکیل لخته خونی مورد بررسی قرار خواهد گرفت و در عین حال با توجه به امکانات موجود در سطح بیمارستان‌ها، بناست تا از دو روش اگریگومتری و فلوسیتومتری در جهت انجام این پروژه استفاده شود.

مواد و روش‌ها

مطالعه پروژه به صورت مقطعی(cross sectional) انجام شد. پس از کسب رضایت از افرادی که به آزمایشگاه برای انجام آزمایش‌های لیپیدی مراجعه نموده بودند، ۴۲ نفر که سابقه افزایش چربی خون با کلسترول بالای ۲۰۰ mg/dL را داشتند و ۱۴ نفر داوطلب سالم که میزان چربی و قند آن‌ها طبیعی بود، به عنوان نمونه‌های بیمار و کنترل منفی مورد بررسی قرار گرفتند. در شرایط ۱۴ ساعت ناشتا، خونگیری انجام شد که پس از جداسازی سرم و تعیین میزان کلسترول خون به روش فتومتری با کیت آنزیماتیک(شرکت پارس آزمون) و دسته‌بندی (بر اساس میزان کلسترول)، سرم آن‌ها در فریزر تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد.

جدا کردن LDL سرم:

برای جدا کردن LDL سرم از دستگاه اولترا سانتریفیوژ با بهره‌گیری از روش اصلاح شده هاول و فرمول $\{A*Y + B* Z = (A+B) X\}$ استفاده شد(۱۲). در این فرمول: (A : حجم سرم، B : حجم نمک جداکننده، Y : وزن مخصوص LDL سرم (۱۰۰۶)، Z : وزن مخصوص نمک جداکننده(۱۰۰۵)، X : وزن مخصوص مخلوط بافر جداکننده و سرم).

تهیه محلول نمکی جداکننده:

۱۵۳ گرم کلرور سدیم با ۳۵۴ گرم بر مول پتاسیم را در یک لیتر آب مقطر حل کرده، این محلول به عنوان محلول

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

نمک با دانسیته بالا(با دانسیته ۱/۳۴۶) ذخیره می‌شود. برای تهیه محلول نمکی کار جداکننده، محلول نمکی ذخیره را با استفاه از محلول کلرور پتاسیم ۰/۱۵ مولار رقیق کرده و دانسیته آن را به (۱/۰۰۵) می‌رسانیم تا محلول نمکی آماده کار شود. ۴ میلی‌لیتر سرم بیمار را در یک لوله در پیچ‌دار ریخته و مقدار مورد نیاز محلول نمکی کار را طبق فرمول فوق(هاول) اضافه کرده و خوب مخلوط می‌کنیم. سپس ۶ میلی‌لیتر از مخلوط سرم و بافر جداکننده را با سرنگ درون لوله‌های مخصوص اولترا سانتریفیوژ(ساخته شرکت بیکمن) ریخته و با دور ۱۰۰۰۰۰ برای ۲/۵ ساعت در دمای ۱۶ درجه سانتی‌گراد با اولترا سانتریفیوژ بیکمن در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ سه لایه جداگانه در لوله تشکیل شد که با سرنگ از هر سه لایه محلول‌ها جدا شدند. میزان LDL جدا شده در لایه رویی با استفاده از کیت(Elitech Ref: LDLD-03600 France) به روش فتومتری اندازه‌گیری شد.

تغلیظ LDL:

لایه رویی را با لوله‌های فیلتردار سانتریفیوژ کرده که نهایتاً میزان LDL برابر ۱۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. ۵۰ µL/L از LDL جدا شده از سرم بیماران و شاهد به مدت ۸ ساعت در معرض ۹۵۰ µL سولفات مس قرار داده شد، تا LDL سرم اکسید شود. برای اطمینان از اکسید شدن LDL ، میزان جذب محلول در طول موج ۲۳۴ نانومتر با فتومتر (Clinic II) سنجیده شد.

از خون سیتراته افراد داوطلب گروه خونی O منفی که تا ۱۵ روز قبل از نمونه‌گیری آسپرین و سایر داروهای غیر استروئیدی مصرف نکرده بودند، پلاسمای غنی شده از پلاکت {Platelet Rich Plasma (PRP)} با سانتریفیوژ کردن خون در دور g ۲۰۰ تهیه شد.

بررسی میزان تجمع پلاکتی:

۵۰ میکرولیتر از PRP حاوی mL/ $۱۰^{۵}$ × ۲ پلاکت را به ترتیب در ۲ لوله حاوی ۵۰ میکرولیتر n-LDL و OX-LDL با غلظت‌های مختلف برای مدت ۳۰ دقیقه انکوبه کرده و سپس آن‌ها را با غلظت‌های مختلف ADP (µmol/mL ۱۰، ۱، ۰/۱)؛ مجاور نموده و میزان فعالیت آن‌ها توسط دستگاه اگریگومتری در مرکز هموفیلی ایران بررسی شد.

تعیین درصد باند شدن فیبرینوژن به پلاکت‌ها:

۵۰ میکرولیتر از PRP حاوی mL/ $۱۰^{۵}$ × ۲ پلاکت به ترتیب در ۲ لوله حاوی ۵۰ میکرولیتر n-LDL و OX-LDL با غلظت‌های مختلف برای مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد و سپس آن‌ها را با غلظت‌های مختلف ADP (µmol/mL ۱۰، ۱، ۰/۱)؛ مجاور کردیم تا میزان باند شدن فیبرینوژن به پلاکت‌ها را توسط فلوسیتومتری آزمایشگاه گروه ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران تعیین کنیم. لازم به ذکر است که قبل از آماده کردن دستگاه فلوسیتومتری برای جلوگیری از فعالیت بیشتر پلاکت‌ها، بلافاصله پس از افزودن ADP ، با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر پارافرمالدئید ۱۰٪ به پلاکت‌ها، فعالیت آن‌ها را تثبیت کردیم.

با استفاده از برنامه آماری SPSS ۱۶ و آزمون t- student و t زوجی، داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

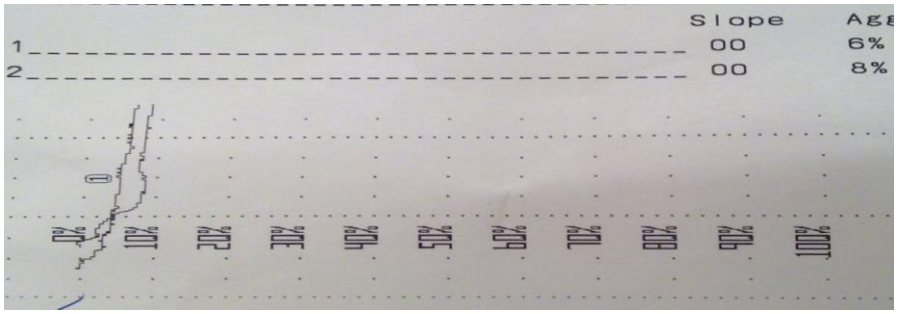
از میان افرادی که مورد پژوهش قرار گرفتند و میزان کلسترول آن‌ها بالا بود، ۵۵٪ مرد و بقیه از میان زنان انتخاب شدند. بر اساس میزان کلسترول، افراد در سه گروه تقسیم شدند:

گروه اول ۱۴ نفر(کلسترول mg/dL ۲۳۵-۲۰۰)، گروه دوم ۱۶ نفر(کلسترول mg/dL ۲۷۰-۲۳۶) و گروه سوم ۱۲ نفر(کلسترول بالای mg/dL ۲۷۰). نتیجه بررسی LDL اکسید شده نشان داد که میانگین جذب در طول موج ۲۳۴ نانومتر، دو برابر شده است به نحوی که میزان جذب از OD= ۰/۴۵ ± ۰/۰۵ به OD= ۰/۹۸ ± ۰/۰۳ افزایش یافته است(n= ۱۴ ، p< ۰/۰۰۰۸).

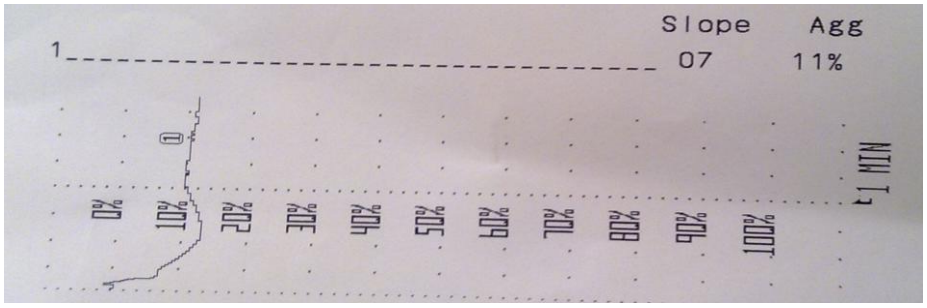
اثر n-LDL غیر اکسیده یا طبیعی بر فعالیت پلاکت‌ها:

نتایج نشان داد که n-LDL نمونه‌ها همانند کنترل (پلاکت + بافر) در مجاورت ADP اثرات قابل توجهی بر روی فعالیت پلاکت‌ها نگذاشت. شکل ۱، نشان‌دهنده نتایج آزمایش اگریگاسیون پلاکتی با n-LDL سرم بیماران و

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]



شکل ۱ : عدم مشاهده اختلاف معناداری اگریگاسیون پلاکتی در مجاورت n-LDL سرم بیماران با ۸٪ (منحنی ۲) در مقایسه با کنترل(پلاکت + بافر) ۶٪ (منحنی ۱) که با ۱ میکرومول ADP تحریک شده بودند($p< ۰/۰۵$).



شکل ۲: مشاهده ۱۱٪ اگریگاسیون پلاکتی که در معرض n-LDL سرم بیماران با ۱۰ میکرومول ADP قرار گرفتند.



شکل ۳: افزایش تجمع پلاکتی در اثر تحریک OX-LDL و در غلظت ۱۰ میکرومول ADP در چهار نمونه که به ترتیب ۴۰٪ ، ۳۹٪، ۴۴٪ و ۴۵٪ می‌باشد.

شاهد؛ منحنی ۱ (کنترل) در مقایسه با منحنی ۲ (n-LDL) که با ۱ میکرومول ADP تحریک شده بودند نشان داده می‌شود. اثر n-LDL بر فعالیت پلاکت‌ها در مجاورت ADP با غلظت بالاتر تاثیر چندانی نداشت که نشان‌دهنده فعالیت ۱۱٪ پلاکتی در مجاورت n-LDL و ۱۰ میکرومول ADP می‌باشد(شکل ۲). اثر OX-LDL بر فعالیت پلاکت‌ها؛ با اضافه کردن ADP با غلظت‌های ۱۰ و ۱ و ۰/۱ میکرومول بر روی مخلوط OX-LDL و PRP و انکوبه کردن آن‌ها به مدت یک دقیقه، نشان داد که در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میکرومول از ADP ، تجمع پلاکتی زیادی مشاهده نشد

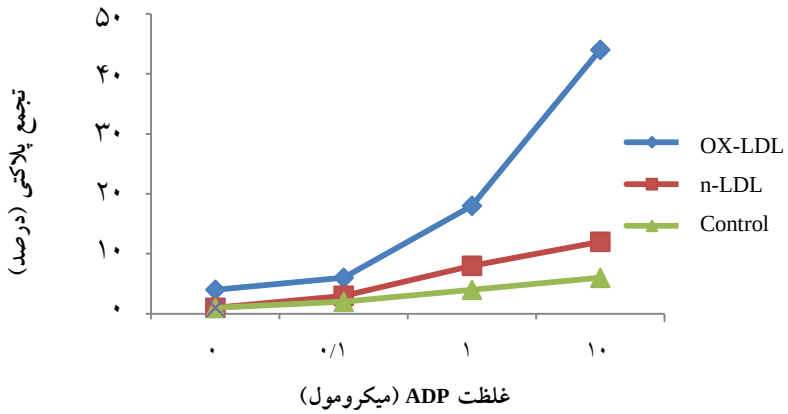
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

ولی با غلظت ۱۰ میکرومول، تجمع یا اگریگاسیون تا ۴۵٪ مشاهده گردید. شکل ۳ نشان‌دهنده افزایش تجمع پلاکتی در اثر تحریک OX-LDL و در غلظت ۱۰ میکرومول ADP می‌باشد. شکل ۴ نشان‌دهنده میزان باند شدن پلاکت‌ها در مجاورت n-LDL ، OX-LDL و کنترل با غلظت‌های مختلف از ADP می‌باشد.

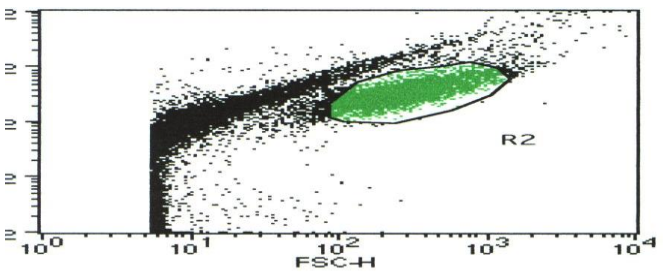
بررسی فلوسیتومتریک باندشدن فیبرینوژن به پلاکت‌ها در مجاورت OX-LDL:

کمپلکس گلیکوپروتئینی IIb/IIIa به عنوان رسپتور فیبرینوژن هنگام اضافه کردن آگونیست‌ها مثل ADP بیشتر بر سطح پلاکت بروز می‌کنند. در ابتدا برای مشخص کردن محل تجمع پلاکت‌ها، از Side Scatter بر Forward Scatter فلوسیتومتری استفاده شد. شکل ۵ نشان‌دهنده جمعیت پلاکتی است که پس از فعال شدن با ۱۰ میکرومول ADP ، به فیبرینوژن باند شدند. برای مقایسه اثر n-LDL با OX-LDL ، ۵۰ میکرولیتر لیپوپروتئین را به مدت ۳۰ دقیقه در مجاورت ۵۰ میکرولیتر PRP انکوبه کرده با اضافه کردن غلظت‌های ۰/۱ ، ۱ ، ۱۰ میکرومول از ADP و ۲ میکرولیتر از فیبرینوژن کونژوگه شده با FITC (Fluorescent Isothio Cyanide) میزان باند شدن پلاکت‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که حداکثر میزان باند شدن پلاکت‌ها به فیبرینوژن در مجاورت ۱۰ میکرومول ADP و ۲۰ mg/dL لیپوپروتئین‌های طبیعی و اکسید شده به ترتیب ۸۲٪ بودند.

در شکل‌های ۶ و ۷ ، به ترتیب میزان باند شدن پلاکت‌ها به فیبرینوژن در مجاورت لیپوپروتئین‌های طبیعی و اکسید شده را به ترتیب از روی میزان متوسط فلورسان فلوسیتومتریک { Mean Fluorescence Intensive (MFI) } نشان می‌دهد.

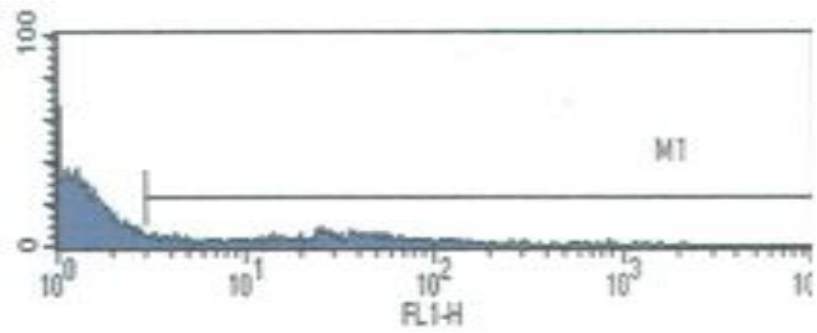


شکل ۴: تجمع پلاکتی در اثر تحریک OX-LDL ، n-LDL و کنترل در غلظت‌های مختلف ADP که بیشترین فعالیت پلاکتی در غلظت ۱۰ میکرومول ADP متعلق به OX-LDL با میانگین فعالیت ۴۵٪ در اکثر نمونه‌ها مشاهده می‌شود.

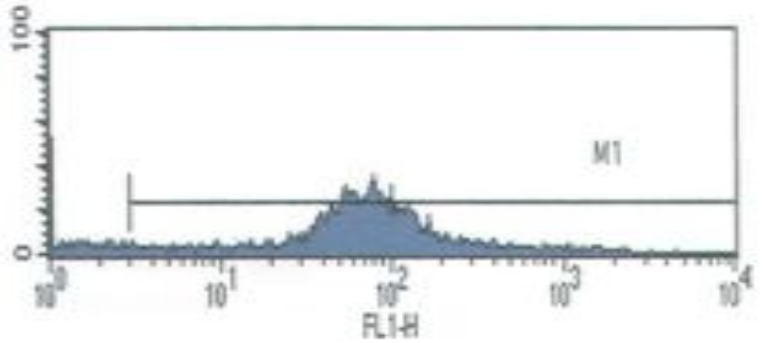


شکل ۵: برای مشخص شدن پراکنش(Gating) پلاکت‌ها و فوروارد اسکتر آن‌ها با اضافه کردن ۲ میکرولیتر آنتی‌فیبرینوژن آنتی‌بادی کونژوگه شده به FITC استفاده شد. در این شکل پراکنش پلاکت‌ها در داخل پنجره(Gate) نشان داده شدند.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]



شکل ۶: میزان MFI ۸٪ نشان‌دهنده کاهش باند شدن پلاکت‌ها با فیبرینوژن در مجاورت n-LDL می‌باشد.



شکل ۷: میزان MFI بیشتر از ۸۲٪ نشان‌دهنده افزایش باند شدن پلاکت‌ها با فیبرینوژن در مجاورت OX-LDL می‌باشد.

بحث

امروزه مشخص شده افزایش میزان لیپوپروتئین‌ها با وزن مولکولی پایین LDL در بدن انسان به عنوان یک فاکتور خطر بیماری‌های قلبی عروقی مطرح می‌باشد. مکانیسم عمل آن در عروق متعدد است. مهم‌ترین آن‌ها ایجاد پلاک آترواسکلروزیس در جدار عروق و به دنبال آن ترومبوس‌های عروقی می‌باشد(۱۳). در این پروسه فعالیت پلاکت‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. یکی از مواردی که در تحقیقات به آن اشاره شده، اکسید شدن LDL در بدن به مقدار کم می‌باشد. تغییرات جذب LDL اکسید شده در طول موج ۲۳۴ نانومتر، نشان داد که LDL با مواد اکسیدان حتی با غلظت اندک تغییر ماهیت داده که این وضعیت می‌تواند موجب تغییرات در اعمال بیولوژیکی آن شود و یا با اثرگذاری بر بافت‌ها و یا سلول‌های دیگر، باعث تغییر در بافت‌های همجوار گردد(۱۴). مواد اکسیدان فراوانی وجود دارند، انتخاب ما در این پروژه سولفات مس به خاطر سهولت انجام کار و تایید نهایی اکسید شدن LDL با فتومتر بود. لازم به ذکر است که مس در کنار لیپوپراکسیداز موجود در سرم، قادر به اکسید کردن LDL است.

نتایج به دست آمده در این پروژه نشان می‌دهد که LDL اکسید نشده یا طبیعی(n-LDL) به تنهایی و حتی با اضافه کردن آگونیست پلاکتی مثل ADP با غلظت‌های مختلف از ۰/۱ تا ۱۰ میکرومول، موجب تجمع محسوس پلاکتی نشد. از آن جایی که آراشیدونیک اسید یکی از عوامل اصلی تجمع پلاکت‌ها می‌باشد، پس احتمال دارد که LDL طبیعی با اثرگذاری روی لیپیدهای پلاکتی باعث کاهش سرعت فعال شدن پلاکتی شود(۱۶، ۱۵). لازم به توضیح است که با افزایش مقدار n-LDL ، تجمع پلاکتی نیز حتی با غلظت بالای آگونیست کاهش می‌یابد. پس وجود اندک LDL موجود در پلاسمای غنی از پلاکت(PRP) در مقایسه با LDL تهیه شده از سرم بیماران، تاثیر چندانی در آزمایش نداشت. چرا که نتایج کنترل‌ها بدون LDL نشان از تجمع طبیعی پلاکت‌ها داشت. با توجه به این که نتایج آزمایش

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

فلوسیتومتریک فعالیت پلاکت‌ها در مجاورت n-LDL ، نشان از عدم باند شدن فیبرینوژن با سطح پلاکتی که حاصل آن تجمع می‌باشد داشت، در این آزمایش هم از غلظت‌های مختلف ADP استفاده شد که در قسمت روش‌ها توضیح داده شد. به نظر می‌رسد که n-LDL در این آزمایش، عمل پوششی را بر سطح پلاکت‌ها انجام داده و مانع از باند شدن فیبرینوژن و پلاکت‌ها شود. کولر و همکارانش نشان دادند که LDL و HDL ، گیرنده‌های گلیکوپروتئینی IIb و IIIa را بلوک کرده و مانع از فعالیت پلاکت‌ها شدند(۱۷). اگر چه امروزه مشخص شده است که عامل اصلی باند شدن فیبرینوژن بر سطح پلاکت‌ها، گلیکوپروتئین IIb/IIIa می‌باشد، ولی گفته می‌شود که اخیراً اسید آمینه‌ای در قسمت RGD Motif گلیکوپروتئین IIIa پیدا شده که شباهت‌هایی با ساختمان گیرنده Apo B/E که محل باند شدن LDL است دارد(۱۹، ۱۸).

انجام آزمایش تجمع پلاکتی با دستگاه اگریگومتری، با اضافه کردن آگونیست‌های پلاکتی می‌تواند نشان‌دهنده تشکیل ترومبوز در عروق باشد، به خاطر این که چرخاندن پلاسمای غنی از پلاکت در لوله‌های حاوی مگنت در دستگاه اگریگومتری، شباهت‌هایی با شدت جریان خون دارد، لذا با اضافه کردن ADP ، فعالیت پلاکت‌ها به واسطه (TXA2) بستگی به اگریگاسیون دارد و نه باند شدن فیبرینوژن(۲۰). برخلاف n-LDL ، لیپوپروتئین‌های اکسید شده(OX-LDL) موجب افزایش تجمع پلاکتی شدند. بیشترین فعالیت در غلظت ۲۰ mg/mL از LDL و ۱۰ میکرومول ADP نشان داده شده است. با توجه به وجود پراکسیداز در خون، احتمال اکسید شدن لیپیدها وجود دارد که یکی از علل تجمع پلاکتی و ایجاد پلاک لیپیدی می‌باشد. به نظر می‌رسد که OX-LDL توسط سلول‌های فومای پلاک آترواسکلروزیس آزاد و در گردش خون جریان پیدا می‌کند(۲۱). از طرف دیگر OX-LDL باعث تحریک افزایش تولید و تجمع میکروویزیکول‌های پلاکتی شده و به دنبال آن موجب افزایش تجمع پلاکتی می‌شود، زیرا افزایش میکروویزیکول‌های CD36 مثبت موجب افزایش فعالیت پلاکت‌ها می‌شود. مجموعه میکروویزیکول CD36 موجب فعال شدن سیگنال MKK4/JNK2 می‌شود(۲۲). به عبارتی OX-LDL باعث القای فسفوریلاسیون JNK2 و MKK4 وابسته به CD36 پلاکت‌ها توسط خانواده کینازهای src می‌شود(۲۳). امروزه ثابت شده که میکروویزیکول‌های پلاکتی همانند دیگر میکروویزیکول‌ها تشکیل‌دهنده هسته اصلی پلاکت‌های پلاکتی و ترومبوس می‌باشند(۲۴). کنستانتینوس استلوس و همکارانش در پروژه‌ای که روی بیماران مبتلا به سندرم حاد کرونر انجام دادند، مشاهده کردند که افزایش پلاکت‌های باند شده به OX-LDL در این بیماران نقش بارزی را در تشکیل آتروترومبوزیس ایفا می‌کند(۲۴).

نتیجه‌گیری

افزایش چربی بد یا LDL در بدن با وجود مواد لیپواکسید فراوان در غذاها، احتمال تشکیل OX-LDL را زیاد می‌کند. از این رو می‌توان به عنوان یک مورد بالقوه جهت درمان و بیماران قلبی عروقی مورد نظر قرارداد.

از آن جا که بر سطح پلاکت‌ها گیرنده‌هایی برای اتصال LDL و HDL کلسترول وجود دارد، میزان بیان این گیرنده‌ها در بیماران آترواسکلروتیک حائز اهمیت است، لذا بررسی میزان بیان این گیرنده‌ها و عملکرد آن‌ها در این بیماران پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت فناوری و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به خاطر تصویب طرح و کمک مالی تشکر می‌نمایند. همین طور از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مهندسی بافت دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و مرکز هموفیلی ایران به خاطر همکاری بی‌دریغشان تشکر می‌شود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

References:

1- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature 1993; 362(6423): 801-9.
2- Rauch U, Osende JI, Fuster V, Badimon JJ, Fayad Z, Chesebro JH. Thrombus formation on atherosclerotic plaques: Pathogenesis and clinical consequences. Ann Intern Med 2001; 134(3): 224-38.
3- Fuster V. Mechanisms of arterial thrombosis: foundation for therapy. Am Heart J 1998; 135(6 Pt 3 Su): S361-6.
4- Ananyeva NM, Kouiavskaia DV, Shima M, Saenko EL. Intrinsic pathway of blood coagulation contributes to therbogenicity of atherosclerotic plaque. Blood 2002; 99(12): 4475-85.
5- Libby P. Changing concepts of atherogenesis. J Intern Med 2000; 247(3): 349-58.
6- Delafontanine P. Growth factors and vascular smooth muscle cell growth responses. Eru Heart J 1998; 19 Suppl G: G18-22.
7- Haserück N, Erl W, Pandey D, Tigyi G, Ohlmann P, Ravanat C, *et al*. The plaque lipid lysophosphatidic acid stimulates platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation in whole blood: involvement of P2Y1 and P2Y12 receptors. Blood 2004; 103(7): 2585-92.
8- Váradi K, Elödi S. Formation and functioning of the factor IXa-VIII complex on the surface of endothelial cells. Blood 1987; 69(2): 442-5.
9- Björkerud S, Björkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesion; especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may contribute to the accumulation gruel and plaque instability. Am J Pathol 1996; 149(2): 367-80.
10- Block LH, Knorr M, Vogt E, Locher R, Vetter W, Groscurth P, *et al*. Low density lipoprotein causes general cellular activation with increased phosphatidylinositol turnover and lipoprotein catabolism. Proc Natl Acad Sci U S A 1988 ; 85(3): 885-9.
11- Ardlie NG, Selley ML, Simons LA. Platelet activation by oxidatively modified low density lipoproteins. Atherosclerosis 1989; 76(2-3): 117-24.
12- Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultra centrifugally separated lipoproteins in humans serum. J Clin Invest 1955; 34(9): 1345-53.
13- Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, *et al*. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21(5): 844-8.
14- Weidtmann A, Scheithe R, Hrboticky N, Pietsch A, Lorenz R, Siess W. Mildy oxidized LDL induces platelet aggregation through activation of phospholipase A2. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995; 15(8): 1131-8.
15- Hackeng CM, Relou IA, Pladet MW, Gorter G, van Rijn HJ, Akkerman JW. Early platelet activation by low density lipoprotein via p38MAP kinase. Thromb Haemost 1999; 82(6): 1749-56.
16- van Willigen G, Gorter G, Akkerman JW. LDLs increase the exposure of fibrinogen binding sites on platelets and secretion of dense granula. Arterioscler Thromb 1994; 14(1): 41-6.
17- Koller E, Volf I, Gurvitz A, Koller F . Modified low-density lipoproteins and high-density lipoproteins. From investigation tools to real *in vivo* players. Pathophysiol Haemost Thromb 2006; 35(3-4): 322-45
18- Hackeng CM, Huigsloot M, Pladet MW, Nieuwenhuis HK, van Rijn HJ, Akkerman JW. Low-density lipoprotein enhances platelet secretion via integrin-alphaIIbbeta3-mediated signaling. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19(2): 239-47.
19- Schmid W, Assinger A, Lee A, Bielek E, Koller E, Volf I. Platelet-stimulating effects of oxidized LDL are not attributable to toxic properties of the lipoproteins. Thromb Res 2008; 122(5): 630-9.
20- Chen R, Chen X, Salomon RG, McIntyre TM. Platelet activation by low concentrations of intact oxidized LDL particles involves the PAF receptor. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2009; 29(3): 363-71.
21- Wang H, Wang ZH, Kong J, Yang MY, Jiang GH, Wang XP, *et al*. Oxidized low-density lipoprotein-dependent platelet-derived microvesicles trigger procoagulant effects and amplify oxidative stress. Mol Med 2012; 18: 159-66.
22- Chen K, Febbraio M, Li W, Silverstein RL. A specific CD36-dependent signaling pathway is required for platelet activation by oxidized low-density lipoprotein. Circ Res 2008; 102(12): 1512-9.
23- Leroyer AS, Tedgui A, Boulanger CM. Role of microparticles in atherothrombosis. J Intern Med 2008; 263(5): 528-37.
24- Stellos K, Sauter R, Fahrleiner M, Grimm J, Stakos D, Emschermann F, *et al*. Binding of oxidized low-density lipoprotein on circulating platelets is increased in patients with acute coronary syndromes and induces platelet adhesion to vascular wall *in vivo*--brief report. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2012; 32(8): 2017-20.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2014; 11(3): 221-229

Original Article

The influence of Low Density Lipoprotein on vein thrombus formation

Hamidpour M.[1], Khadem Maboudi A.A.[1], Sigarchian Taghizadeh F.[2], Janmaleki M.[3], Seyed Alikhani S.B.[1]

[1]Faculty of Allied Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2]Council of Dental Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
[3]Medical Nano-Technology & Tissue Engineering Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

There are several evidences that show lipoproteins especially Low Density Lipoprotein (LDL) and platelets play an important role in the pathogenesis of atherosclerotic plaque and thrombosis. The important issue is how lipids induce primary clot formation and detect primary thrombosis.

Materials and Methods

The present cross-sectional study evaluated 42 of hyper-cholesterolmias who had serum cholesterol levels above the normal range (200 mg/dL; based on the Iranian serum cholesterol reference) and 14 healthy volunteers as the normal control. The serum LDLs of the samples were isolated and oxidized; then, the function of platelet after being affected by natural LDL (N-LDL) and oxidized LDL (OX-LDL) was observed. Finally, the data were statistically analyzed using SPSS version 16 software and the student T-test.

Results

The serum ox-LDL was detected in 234 nm, the absorbance from 0.45 in LDL turned to 0.98 in OX-LDL, ($p < 0.0008$). Results in our study indicated that, in contrary to N-LDL, OX-LDL induced increased platelet aggregation in aggregometry method, respectly 11% platelet agggragation with N-LDL and 45% with OX-LDL. Flowcytometry analysis of platelet function indicated that; in the vicinity of N-LDL confirm the only 8% of platelets were binding with fibrinogen, whereas 82% of platelets binding with 20 mg/mL of OX-LDL.

Conclusions

The study shows that LDLs modified by serum lipooxidants and exposed to OX-LDL may induce platelet activity and aggregation followed by the increase risk of thrombosis and cardiovascular diseases.

Key words: Atherosclerosis, Thrombus, Low Density Lipoprotein Cholesterol

Received: 18 Jun 2013
Accepted: 21 Jan 2014

Correspondence: Hamidpour M., PhD of Hematology. Assistant Professor of Faculty of Allied Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences.
P.O.Box: 19716-53383, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 2272504; Fax: (+9821) 22721150
E-mail: *mohsenhp@sbmu.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-24]