مقاله پژوهشی
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
جلد سوم، شماره چهارم، پاییز ۱۳۸۳

بررسی وجود میان‌کنش آلفا ۱- آنتی‌تریپسین و لیپوپروتئین‌های با دانسیته کم در سرم انسان «چشم‌اندازی به ارتباط بیماری‌های کبد و قلب»

عباس صاحبقدم لطفی[۱*] ، فریبا فرجی[۲]، عبدالامیر علامه[۳]، افشین محسنی‌فر[۴]، حمیدرضا رشیدی‌نژاد[۵]، مهدی محمودی[۶]

دریافت: ۱۳۸۳/۳/۳، بازنگری: ۱۳۸۳/۹/۲۰، پذیرش: ۱۳۸۳/۹/۲۸

خلاصه

سابقه و هدف: آلفا ۱- آنتی‌تریپسین (AAT) یکی از آنتی سرین پروتئازهای مهم پلاسماست.apoB100 هم آپوپروتئین موجود در لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL-C) می‌باشد،که به عنوان یک واسطه در اتصال و برداشت LDL-C توسط بافت‌ها اهمیت دارد، بخشی از AAT و apoB100 می‌تواند در سرم به هم متصل شده و سپس در برداشت LDL-C توسط بافت‌ها مؤثر باشد. هدف این پژوهش میزان بر هم کنش این دو پروتئین در سرم بیماران قلبی و مبتلایان به نقص AAT بود؛که می‌تواند چشم‌اندازی به درک صحیح‌تر ارتباط بیماری‌های قلب و کبد باشد.

مواد و روش‌ها: برای بررسی میان‌کنش AAT و LDL-C و تشکیل کمپلکس، ۲۱ نمونه سرم انسانی تهیه و همه نمونه‌ها بروش الکتروفورز کانونی و با استفاده از سرم‌های استاندارد AAT تعیین فنوتیپ شدند. سپس در این نمونه‌ها میزان LDL-C و سایر چربی‌ها به روش آنزیماتیکی و فعالیت AAT سرم به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از آنزیم تریپسین و سوبسترای بنزوییل آرژینین پارانیترو آنیلید (BAPNA) اندازه‌گیری شد. برای تأیید وجود کمپلکس AAT-LDL در نمونه‌های سرم با میزان LDL-Cهای مختلف و فعالیت‌های متفاوت AAT از روش الایزای ساندویچی با به کارگیری آنتی بادی‌های ضد apoB و AAT استفاده شد.

یافته‌ها: تشکیل کمپلکس AAT-LDL در نمونه‌های سرم با فنوتیپ طبیعی و غیرطبیعی AAT با مقادیر مختلف تأیید گردید میانگین میزان جذب کمپلکس در کل نمونه‌ها ۶۵٪ بود.این امر حاکی از آن است که حداقل بخشی از AAT و LDL توانسته اند با غلظت قابل قبولی با هم میانکنش داشته باشند

نتیجه‌گیری: با توجه به این که با روش فوق شواهدی دال بر وجود کمپلکس‌و به عبارتی کنش بین LDL-C و AAT بدست آمد، با مطالعات بیشتر می‌توان پیش بینی کرد که AAT می‌تواند با LDL-C به عنوان عامل خطر بیماری‌های قلبی به نوعی مرتبط باشد.

واژه‌های کلیدی: کمپلکس AAT-LDL، نقص AAT، بیماری‌های قلبی، LDL-C، ATT ، آلفا-۱-آنتی‌تریپسین، لیپوپروتئین با دانسیته کم

۱*- دانشیار گروه بیوشیمی بالینی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس (نویسندهٔ مسئول)

تلفن: ۸۰۱۱۰۰۱-۰۲۱، فاکس: ۸۰۰۶۵۴۴-۰۲۱، پست الکترونیکی: Lotfi_ab@modares.ac.ir

۲- کارشناس ارشد گروه بیوشیمی بالینی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۳- استاد گروه بیوشیمی بالینی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۴- دانشجوی دکتری گروه بیوشیمی بالینی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۵- استادیار گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۶- دانشیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]

مقدمه

آلفا ۱- آنتی‌تریپسین از مهم‌ترین آنتی‌سرین پروتئازهای سرم است و به طور عمده در کبد ساخته می‌شود.

این پروتئین مهار کننده اصلی الاستاز نوتروفیلی است و در حفاظت بافت ریوی در برابر تخریب الاستازی دارای نقش حیاتی می‌باشد. نقص مادرزادی این پروتئین با خطر بالای ابتلا به آمفیزم ریوی، بروز بیماری‌های مزمن کبدی، آرتریت‌ها، وسکولیت‌ها، عفونت‌های جلدی و گلومرولونفریت در ارتباط است [۷،۲۰]. این پروتئین، در میان مهار کننده‌های الاستازی متعدد؛ مؤثرترین مهارکننده می‌باشد [۶] هم‌چنین ۹۰٪ توانایی سرم در مهارتریپسین مربوط به این پروتئین می‌باشد [۳۰].

آلل‌های آلفا ۱- آنتی‌تریپسین به طور قراردادی در ۴ طبقه قرار می‌گیرند: ۱- آلل‌های طبیعی [۲۴] ۲- آلل‌های ناقص که شایع‌ترین آن‌ها S و Z هستند. [۸،۱۶،۲۴] ۳- آلل‌های نول [۱۷،۱۸،۲۵،۲۶] ۴- آلل‌های غیرعامل[1] که پروتئین در مقادیر طبیعی ساخته می‌شود، اما عملکرد آن دچار اختلال است [۱۲،۱۵،۲۴،۲۷].

لیپوپروتئین یا دانسیته کم[2](LDL-c) یکی از لیپوپروتئین‌های پلاسماست که تنها جزء پروتئینی آن یک مولکول بزرگ، apoB100 می‌باشد [۲۸]. apoB100 با وزن مولکولی ۵۱۰ کیلو دالتون یکی از بزرگترین منومرهای پروتئینی شناخته شده می‌باشد که در کبد ساخته می‌شود [۹،۲۸]. شواهدی وجود دارد که LDL-C که شاخص خطر بیماری‌های قلبی است از طریق apoB خود با AAT سرمی میان‌کنش دارد [۱۱،۱۹،۲۱].

وجود کمپلکس LDL-AAT اولین بار در سال ۱۹۹۹ در کنگره هپاتولوژی آمریکا مطرح شد که بر اساس آن گزارش سنجش‌های ژنتیک آزمایشگاهی در مخمر نشان داد که AAT به عنوان یک پروتئین متصل شونده با apoB100، میان‌کنش می‌دهد. سنجش‌های ایمونولوژی رسوبی[3] هم نشان داد که آلفا۱- آنتی‌تریپسین و apoB می‌توانند به صورت متصل به هم از سرم رسوب داده شوند [۲۲]. در بررسی دیگری که در سال ۱۹۹۹که بر روی بیماران مبتلا به تصلب شرایین صورت گرفت، مشاهده شد که افراد دارای آلل‌های غیرطبیعی آلفا۱- آنتی‌تریپسین؛ پیشرفت خیلی بیشتری در تصلب شرائین نسبت به سایرین داشتند و چنین پیشنهاد شده که مکانیسم این اثر از طریق آلفا ۱-آنتی‌تریپسین محافظت کننده می‌باشد که می‌تواند به LDL-C (apoB) متصل شده و در ساختمان پلاک‌های تصلب شرائین شرکت کرده و اثرات الاستاز و سایر پروتئازها را مهار کند [۲۹].

در جدیدترین پژوهش انجام شده روی کمپلکس AAT-LDL در اواخر سال ۲۰۰۱، به کمک آنتی‌بادی ضد AAT اکسیده وجود کمپلکس LDL-oxAAT در سرم نشان داده شده است. هم‌چنین به وسیله بررسی‌های هیستولوژی، کمپلکس LDL-AAT در ضایعات آترواسکلروتیک مشاهده شده است که این مسئله می‌تواند به نقش آن در تصلب شرائین اشاره داشته باشد [۲۳].

در مطالعه حاضر سعی بر این بوده که اولاً: میان‌کنش بین AAT و LDL-c و تشکیل کمپلکس در سرم انسانی اثبات گردد، ثانیاً: به صورت مقدماتی میزان تشکیل آن در فنوتیپ‌های غیرطبیعی AAT (SZ,MS,MZ) و فنوتیب‌های طبیعی(MM) مشخص شود. چشم‌انداز مهم‌تر این مطالعه وجود ارتباط بین بیماری‌های کبدی مرتبط با AAT و بیماری‌های قلبی (از طریق LDL-c) می‌باشد که افق‌های جدیدی را برای پژوهشگران در تشخیص و درمان خواهد گشود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، از هیجده نمونه سرمی افراد مختلف افراد طبیعی و افراد با میزان افزایش یافته LDL-C سرم (کمتر از ۱۵۰ میلی‌گرم در صد و بیشتر از آن) با فنوتیپ طبیعی AAT و سه نمونه سرم دارای فنوتیپ‌های غیرطبیعی AAT مورد آزمایش قرار گرفت. در این نمونه‌ها ابتدا میزان تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL-C سرم به روش آنزیماتیک اندازه‌گیری و میزان LDL-C نمونه‌های سرم بعد از تعیین مقداری TG و کلسترول با استفاده از رابطه [LDL-C=totalChol-(HDL-C+TG/5)] محاسبه شد. سپس میزان فعالیت مهاری AAT در نمونه‌های سرم با

1- Dysfunctional
2- Low Density Lipoprotein
3- Immunoprecipitation

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]

استفاده از آنزیم تریپسین و سوبسترای BAPNA[1] به روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت [۲،۱۴] به نتیجه این آزمایش، ظرفیت مهار تریپسین[2] (TIC) اطلاق می‌شود.

در مرحله بعد فنوتیپ AAT در نمونه‌های سرمی به روش الکتروفورز کانونی[3] (IEF) تعیین شد [۱،۳،۴،۱۰،۱۳].

در این روش از آمفولیت با pH بین ۴/۲ تا ۴/۹ استفاده گردید و سپس الگوهای الکتروفورزی بدست آمده با الگوی الکتروفورزی سرم‌های استاندارد با فنوتیپ مشخص، مقایسه و فنوتیپ نمونه‌ها تعیین شد لازم به توضیح‌است سرم‌های استاندارد از آزمایشگاه رفرانس AAT نروژ تهیه گردید.

برای اثبات میان‌کنش بین AAT و LDL-C و تشکیل کمپلکس LDL-AAT در نمونه‌های سرم از روش الایزای ساندویچی استفاده شد [۵،۲۳] بدین منظور با بهره‌گیری از آنتی‌بادی منوکلونال ضد AAT (با غلظت ۱µgr/ml) و آنتی‌بادی پلی‌کلونال بر ضد apoB100 خرگوشی (با رقت ۴۰۰۰:۱) استفاده نمودیم. این رقت‌ها با استفاده از منحنی‌های خاص (Checker Board) بدست آمد. نهایتاً برای تشخیص نهایی آنتی‌بادی ضد lgG خرگوشی کونژوگه با HRP (با رقت ۱:۱۰۰۰۰) و سوبسترای اورتو فنیلن‌دی‌آمین (OPD) بکار رفت. در این آزمون بهترین رقت برای سرم (۱:۵۰) بود.

لازم به ذکر است قبل از انجام تست الایزا، یک اتصال غیر اختصاصی[4] (NSB) بروش ایمنواستریپینگ از نمونه سرم انسانی تهیه گردید تا از وجود اتصالات غیر ویژه در تست الایزا اطلاع حاصل شود. بدین منظور تمام AATها و کمپلکس‌های در ارتباط با کمک آنتی‌بادی‌ضد AAT از سرم حذف شده است. نهایتاً جذب نوری[5] (OD) چاهک حاوی NSB از جذب نوری مربوطه به نمونه‌های سرمی کسر گردید تا جذب واقعی مربوط به تشکیل کمپلکس بدست آید.

نتایج

نتایج این آزمایشات در جدول ۱ بیان شده است.

جدول۱: نتایج حاصل از آزمایش‌های لیپید پروفایل روی نمونه‌های سرم (میلی‌گرم در دسی لیتر)

	LDL<۱۵۰	LDL>۱۵۰
لیپو پروتئین با دانسیته کم (LDL-c)	۱۳۰/۴±۴/۷	۱۷۵/۵±۲۴/۲۱
لیپو پروتئین با دانسیته زیاد (HDL-c)	۵۰/۶±۱۳/۵۲	۴۷/۴۶±۷/۱۹
کلسترول	۲۱۰/۲±۱۴/۲	۲۵۵/۱۲±۲۵/۸۲
تری گلیسیرید	۱۵۰/۸±۴۶/۲۰	۱۶۰/۵±۳۸/۶۶

میانگین LDL-c گروه اول ۱۳۰/۴mg/dl و میانگین گروه دوم ۱۷۵/۵mg/dl محاسبه شده است. نتایج آزمایش میزان فعالیت مهاری AAT (TIC) روی نمونه‌های سرمی و هم‌چنین فنوتیپ AAT که توسط تکنیک الکتروفورزکانونی (IEF) و در مقایسه با سرم‌های استاندارد AAT تعیین شده در جدول ۲ بیان شده است. میانگین TIC کل نمونه‌ها ۲/۴±۱(mol/min/mlµ) محاسبه شد.

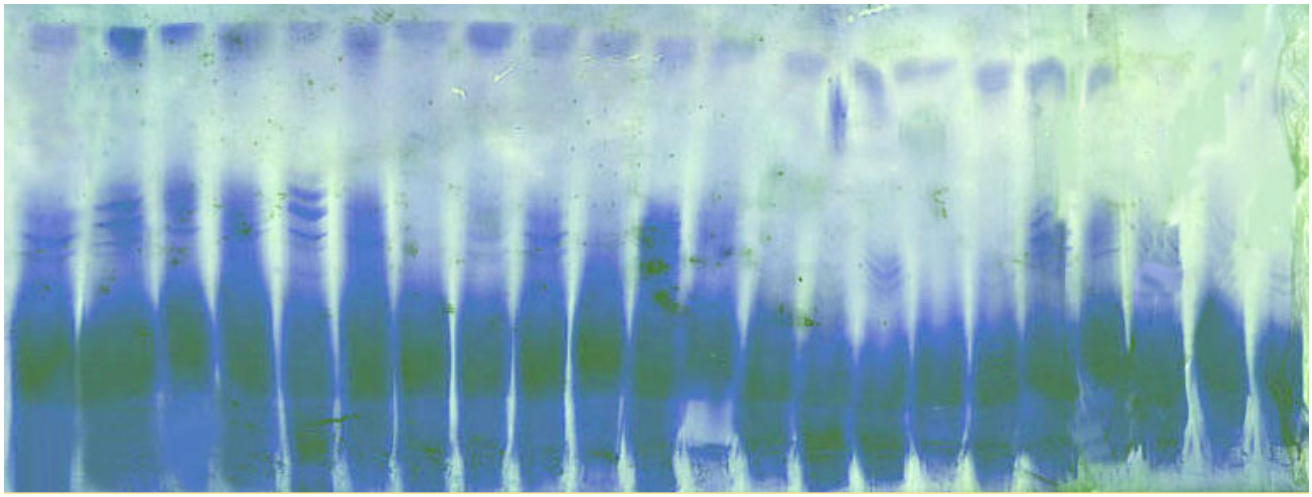
جدول۲- نتایج Mean±SEM آزمایشات ELISA، IEF و TIC روی نمونه‌های سرم

فنوتیپ	میانگین فعالیت مهاری AAT (mmol/min/ml)	میانگین جذب کمپلکس AAT-LDL	تعداد
MM	۲/۴±۱	۰/۶۵	n=۱۸
MS/MZ/SZ	<۱/۵	۰/۴۷	n=۳

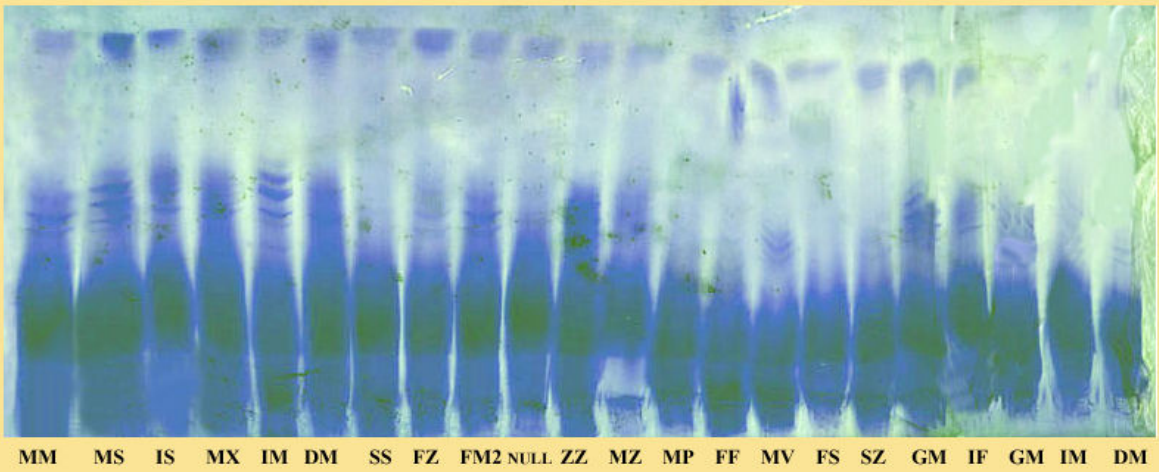
هم‌چنین در بررسی فنوتیپ‌های AAT، ۱۸ نمونه سرمی دارای فنوتیپ طبیعی(MM) و سه نمونه دارای فنوتیپ‌های غیرطبیعی (SZ,MZ,MS) بودند.الگوی ژل الکتروفورزکانونی نمونه‌های سرم طبیعی و استاندارد، به ترتیب در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. هم‌چنین نتایج کمی آزمون الایزا جهت شناسایی کمپلکس AAT-LDL در ۲۱ نمونه سرمی در جدول ۲ نشان داده شده است. لازم به ذکر است جذب نوری ذکر شده در آزمون الایزا، میانگین سه بار آزمایش در روزهای متعدد و دو آزمایش در فاصله زمانی چند ساعت در یک روز می‌باشد علاوه بر این میانگین جذب نوری برای NSB برابر ۰/۶ محاسبه گردید.

1- Benzoyl Arginine Paranitro Anilid
2- Trypsin Inhibitory Capacity
3- Iso Electeric Focusing
4- Non Specific Binding
5- Optical Density

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]



شکل ۱: ژل الکتروفورز کانونی نمونه‌های سرم



شکل ۲: ژل الکتروفورز کانونی سرم‌های استاندارد

جهت بررسی ارتباط بین سطح فعالیت‌های AAT یعنی (TIC) و LDL-c با کمپلکس AAT-LDL در سرم افراد از آزمون ضریب همبستگی استفاده شد. این آزمون ارتباط معنی‌داری بین این عوامل نشان می‌دهد ($p\leq ۰/۵۰$)، که این امر بیانگر آنست که در تشکیل این کمپلکس عواملی به جز غلظت اجزای تشکیل دهنده اهمیت دارند.

بحث

همان‌گونه که در جدول نتایج (جداول۱و۲) مشاهده می‌شود در تمامی نمونه‌ها با LDL-cهای متفاوت و TICهای مختلف، کمپلکس AAT-LDL در مقادیر تقریباً مشابه وجود دارد. بررسی و مطالعه تشکیل این کمپلکس سرمی بسیار جدید می‌باشد زیرا اولین بار در سال ۱۹۹۹ در کنگره هپاتولوژی آمریکا وجود کمپلکسی متشکل از آلفا ۱- آنتی‌ترپیسین و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]

LDL-c در سرم انسانی مطرح شد و سنجش‌های ژنتیکی آزمایشگاهی در مخمر نشان داد که آلفا ۱- آنتی‌تریپسین با اسیدهای آمینه ۴۳۰ تا ۶۹۰ از apoB میان‌کنش می‌دهد [۲۲].

در بررسی دیگری که توسط تالمود[1] در اواخر سال ۱۹۹۹ انجام شد نیز به وجود کمپلکس AAT-LDL اشاره شده است [۲۹] در اواخر سال ۲۰۰۱، ماشیبا[2] و همکاران در ژاپن وجود کمپلکس AAT-LDL را در سرم انسانی با روش الایزا روی قسمت‌های مختلف سرمی حاصل از کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون نشان دادند. این گروه هم‌چنین با تولید آنتی‌بادی علیه AAT اکسیده و با بهره‌گیری از روش‌های الایزا و بلاتینک، وجود کمپلکس خط oxAAT-LDL را در سرم انسان نشان داده و به اهمیت اکسیداسیون AAT در تشکیل آن اشاره کردند؛آن‌ها هم‌چنین با بررسی‌های هیستولوژی، کمپلکس AAT-LDL را در ضایعات تصلب شرایین مشاهده کردند که این مسئله درگیری آن را در پلاک‌زایی پیشنهاد می‌کند [۲۳]. به طور کلی در تحقیقات و بررسی‌ها روی AAT و هم‌چنین کمپلکس AAT-LDL در تصلب شرایین و سکته قلبی نقش‌های مختلف و بعضاً متفاوتی پیشنهاد شده است. از جمله اینکه؛ AAT به دلیل اثر مهاری شناخته شده‌اش روی کلاژناز و الاستاز می‌تواند فیبروز ضایعات تصلب شرایین را افزایش داده و به پیشرفت آن کمک نماید بر این اساس تشکیل کمپلکس AAT-LDL و حضور آن در پلاک‌های اترواسکلروز می‌تواند منجر به پیشرفت بیماری شود [۲۲،۲۳،۳۰].

AAT به دلیل داشتن اثر ضد التهابی، نقش محافظتی و ترمیم بافتی می‌تواند باعث مهار تصلب شرایین و سکته قلبی شود و به تبع آن کمپلکس آن با LDL-c نیز می‌تواند چنین تأثیری داشته باشد [۲۹،۳۰].

و بالاخره این که اتصال AAT به LDL-c و تشکیل کمپلکس AAT-LDL می‌تواند سبب برداشت بیشتر LDL-c توسط بافت‌های خاص شود [۲۲]. بدین ترتیب که با اتصال AAT به LDL-c ، این لیپوپروتئین همانند LDL-cهای تغییر یافته احتمالاً می‌تواند توسط گیرنده‌های ماکروفاژهای دیواره سرخرگی برداشت شده و بنابراین زمینه تصلب شرایین را فراهم نماید [۲۳].

نمونه‌های مورد مطالعه ما علاوه بر فنوتیپ طبیعی واجد فنوتیپ غیرطبیعی AAT هم بودند. در همه این نمونه‌ها وجود کمپلکس مشاهده گردید، بنابراین این کمپلکس می‌تواند هم با AATهای طبیعی و هم غیرطبیعی تشکیل شود و نتایج ما اختلاف فاحشی بین دو گروه نداشت؛ اما قدر مسلم اینست که فنوتیپ‌های طبیعی و غیرطبیعی به دلیل اختلاف فاحش ساختاری میان‌کنش‌های متفاوتی با LDL-c دارند. اگر نتایج تحقیقات و مطالعات با تعداد نمونه‌های بیشتر این مطلب را تایید کند و به ویژه تشکیل کمپلکس در افراد با فنوتیپ‌های غیرطبیعی بیشتر باشد به نظر می‌رسد بین نقص AAT که یک بیماری کبدی است با بیماری‌های قلبی می‌تواند ارتباط وجود داشته باشد و بنابراین در این گونه موارد پیشنهاد می‌شود که مبتلایان به نقص AAT برای بیماری‌های قلبی نیز مورد معاینه قرار گیرند.

منابع

[۱] اخوان ر: بررسی فنوتیپ‌های در بیماران ANCA مثبت به روشIEF. پایان‌نامه دکتری حرفه‌ای، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۷۸

[۲] صاحبقدم لطفی ع، صابر س، علمداری د: بررسی فنوتیپ‌ها و فعالیت آلفا یک آنتی‌تریپسین در بیماران آمفیزم. مجله دانشکده علوم پزشکی گیلان ۱۳۷۷، سال هفتم، شماره ۲۵ و ۲۶، صفحات: ۶۷-۶۲.

[۳] صاحبقدم لطفی ع، ملک‌زاده ر، میلانی ب: مقایسه فنوتیپ‌های آلفا یک آنتی‌تریپسین در بیماران Hbs Ag مثبت مبتلا و غیر مبتلا به سیروز کبدی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۳۷۷، دوره ششم، شماره۱.

[۴] صاحبقدم لطفی ع، قوامی س، ملک‌زاده ر، خداداد احمد: بررسی ایزوفرم‌های آلفا یک آنتی‌تریپسین در بیماران مبتلا به بیماری‌های کبدی یا علت ناشناخته مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان. مجله پزشکی کوثر، ۱۳۸۱.

1- Talmud
2- Mashiba

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]

[۵] مطهری م: اندازه‌گیری سطح سرمی کمپلکس lgA-α1-Antitrypsin توسط روش الایزا در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۰.

[6] Bieth JG. In vivo investigation of kinetic constants of protein proteinase inhibitors- ***Biochem Med.,*** **1984; 32(3): 387-9.**

[7] Brantly M, Nukiwa T, Crytal RG: Molecular basis of alpha-1- antitrypsin deficiency. ***Am J Med.,*** **1988; 84 (supple 6A):13-31.**

[8] Brantly M, Nukiwa, SL, Benavent A, Country M, et al: In vitro demonstration of the molecular basis of the secretary defect associated with expression of the Z alpha-1-antitrypsin gene, ***Am Rev Respir Dis.,*** **1987; 135: A291**

[9] Boren J, White A, Wellesten M, Scott J, Graham L, et al: The molecular mechanisms for the assembly and secretion of apoB100 Containing lipoproteins. ***Prog Lipid Res.,*** **1991; 30(213):205-218.**

[10] Broox KP, Immarin RM: Determination of alpha-1- antitrypsin phenotypes and M subtypes by isoelectric focusing in immobilized pH gradients. ***Clinical Biochemistry.,*** **1985; 18: 280-284.**

[11] Hurt-Camejo EH, Olsson U, Wilklund O, Bondjers G, Camejo G: Cellular consequences of the association of apoB lipoprotein with proteoglaycans, Atherosclerosis ***Theromb Vasc Biol.,*** **1997; 17(6):1011-1017.**

[12] Correl Rw, Jeppsson JO, Laurel B, Brennan SO, Owen MC, et al: Structure and variation of human α-1-antitrypsin. ***Hum Genet.,*** **1980; 53: 429-33.**

[13] Cox DW, Johnson AM, Fagerhol MK: Report of nomenclature meeting for alpha 1-antitrypsin. ***Hum Genet.*****, 1980; 53: 429-433.**

[14] Dietz AA, Rubinstein HM, Hodgesl: Measurment of alpha –1- antitrypsin in serum by immunodiffusion and by enzymatic assay. ***Clinical Chemistry*****, 1974; 20(3):396-399.**

[15] Fagerhol MK, Cox DW: The pi polymorphism-genetic- biochemical and clinical aspects of human α -1- antitrypsin, ***Ad Hum Genet.*****, 1981; 11(11): 371-2.**

[16] Fagerhol MK, Tenfijord OW: Serum pi type in some European-American- asian and African population. ***Acta Pathol Microbiol Scand.*****, 1988; 72: 601-8.**

[17] Garver RIjr, Mornex JE, Nukiwa T, et al: Alpha antitrypsin deficiency and emphysema caused by homozygous inheritance of non expressing alpha-1- antitrypsin genes. ***N Engl J Med*****, 1986; 314(12): 762-6.**

[18] Hardick C, Stifers R, Carlson J, Kidd V, Woo SLC: A null allele of the human alpha1-antitrypsin. ***Genet*****, 1986; 39: A202.**

[19] Herttuala SY, Palinski W, Rosenfeld ME, Steinberg D, Witztum JL: Lipoproteins in normal and atherosclerotic aorta ***European Heart J*****, 1990; 11: 88-99.**

[20] Hutchison DC: Natural history of alpha –1-protese inhibitor deficiency. ***Am J Med.*****, 1988; 84(6A): 3-12.**

[21] Itab h, Suzuki K, Tsukamoto Y, Komatsu R, Ueda M, et al: Lysosomal accumulation of oxidized phosphatidyl choline-apoliporotein B complex in macrophages BBA., 200- 1487:233-45.

[22] Lewin B, Behari A, Deckelbaum RJ, Sturley S: Interactions of alpha –1- antitrypsin ith low density lipoproteins: A role of the liver in heart disease hepathology Congress. 1999.

[23] Mashiba S, Wada Y, Takeya M, Sugiyama A, Hamakubo T, et al: In vivo complex formation of oxidized alpha–1-antitrypsin and LDL ***Arteroscler Thromb Vasc Biol.*****, 2001; 21(11): 1801-1808.**

[24] Massi G, Chiarelli C: Alpha 1- antitrypsin: molecular structure and the Pi system. ***Acta Paediatr.,*** **1994; 1-4.**

[25] Muensch H, Gaidudis L, Kueppers F, et al: Complete absence of serum alpha-1- antitrypsin

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]

in conjunction with an apparently normal gene structure. ***Am J Hum Genet.,*** **1986; 38(6): 898-907.**

[26] Nukiwa T, Takahashi H, Brantly M, Crystal RG: Alpha-1-Antitrypsin null Granite Falls nonexpressing alpha1- antitrypsin gene associated with a frame shift to stop mutation in a coding exon, ***J Biol chem,*** **1987; 262(25): 11999-12004.**

[27] Scott CF, Carrell RW, Glaster CB, Kuepper F, Lewis JH, Colman RW: Alpha-1- antitrypsin Pittsburg: A potent inhibitor of human plasma factor Xla- Kallikerin and factor XIIF. ***J Clin Invest*****., 1986; 77(2): 631-4.**

[28] Segrest JP, Jones MK, De Loof HD, Dashti N: Structure of apoliprotein B-100 in low density lipoproteins. ***J Lipid Res.,*** **2001; 42(9):1346-67.**

[29] Talmud PJ, Martin SG, Sturley SL, Humphries SE, Taskinen R, et al: Genetic variation in the 3' flanking sequence of alpha –1-antitrypsin gene is associated with increased progression in the loped coronary angiographies trial, Abstract of 1999 Serpin meeting.

[30] Vasantha VC, Somayajulu GL, Pai HS: Serum alpha 1-antitrypsin activity in ischaemic heart disease, ***J Indian Med Ass.,*** **1985; 83(6): 297-99.**

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]

Interaction of Human Serum alpha-1-Antitrypsin and Low Density Lipoprotein "a Perspective to the Relation of Liver and Heart diseases"

A.S. Lotfi PhD[1*], **F. Faraji** MSc[2], **A. Allameh** PhD[3], **A. Mohsenifar**MSc[4], **HR. Rashdi Nejad** MD[5], **M. Mahmoodi** PhD[6]

1- Associate Professor in Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
2- MSc. in Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
3- Professor of Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
4- Ph.D Student of Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
5- Assistant Professor of Cardiology, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
6- Associated Professor of clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Background: Alpha-1-antitrypsin (AAT) is one of the important plasma antiserins proteases. This protein is the major inhibitor of leucocytes elastases and plays a crucial role in protecting the pulmonary tissue from elastolytic destruction. ApoB100, is an apoprotein that exist in the low density lipoprotein, and provides structural integrity and functions as a ligand mediating the cellular association and uptake of LDL-C by tissues. Alpha 1-antitrypsin and apoB100, are two proteins that are produced in the liver, can be bound to each other in serum, and affect LDL-C uptake by tissues.

Materials and Methods: In the present study, 21 serum for the formation of AAT-LDL complex were investigated initially. All samples were phenotyped by use of isoelectrofocusing using standard serua. We also determined LDL-C level and lipid profile by enzymatic method. Sera AAT activities (TIC) were measured by spectrophotometric method by the use of trypsin enzyme and BAPNA as substrate. The AAT-LDL complex in samples with different LDL-C and AAT activities, was investigated by sandwich ELISA method using anti-apoB antibody and anti AAT monoclonal antibody.

Results: The results of this study showed that the AAT-LDL complex is formed in serum with normal and abnormal AAT phenotypes and these preliminary data indicated the different level of complex in different samples. The average of the complex absorbance was 65% in all samples. This showed that at least a part of AAT and LDL interacted with an acceptable concentration.

Conclusion: It has been concluded that AAT-LDL complex level in sera of patients with liver disease due to AAT deficiently may correlate with the atherosclerosis. Further studies are needed to show the association of AAT and LDL-C and AAT-LDL complex formation, in various diseases specially heart and liver diseases.

Key words: Alpha 1-antitrypsin, AAT deficiency, Low density Lipoprotein, AAT-LDL complex , Heart diseases

Corresponding author Tel: (021) 8011001, Fax: (021)8006544, E-mail: lotfi_ab@modares.ac.ir

Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, 2004, 3(4): 250-257

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1383.3.4.5.2]