# جامعة المنارة

# كلية: الصيدلة

# اسم المقرر: الكيمياء الحيوية السريرية

# رقم الجلسة (4)

# عنوان الجلسة

# الكوليسترول Cholesterol

#

**الفصل الدراسي الثاني العام الدراسي2022-2023**

جدول المحتويات

Contents

|  |  |
| --- | --- |
| العنوان | رقم الصفحة |
| الغاية من الجلسة والمقدمة | 3 |
| طرائق معايرة الكوليسترول | 3 |
| القيم المرجعية | 3 |
| تفسير النتائج والتغيرات المرضية | 4 |
| مبادئ معايرة كوليسترول البروتينات الشحمية | 4 |
| القيم المرجعية للبروتينات الشحمية | 4 |
| القسم العملي | 5 |

## الغاية من الجلسة:

التعريف بالكوليسترول وأنواع البروتينات الشحمية، طرق معايرتها والقيم المرجعية، تفسير النتائج والتغيرات المرضية.

## مقدمة:

يُنقل الكولسترول في البلازما عن طريق البروتينات الشحمية حيث يكون مرتبطاً مع البروتينات والفوسفولبيدات والشحوم الثلاثية لتشكيل بنية البروتين الشحمي، ويوجد الكولسترول بشكلين: حر غير مؤستر يتركز على سطح lipoprotein، ومؤستر مع الحموض الدسمة (حمض الزيت وحمض الشمع) يتركز داخل اللب الكاره للماء في lipoprotein، ويمثل الكولسترول المؤستر ثلثي الكولسترول الكلي في البلازما.

وللكولسترول مصدرين: خارجي عن طريق الغذاء الحيواني (الكبد، المخ، صفار البيض، السمك..) وداخلي عن طريق الاصطناع الحيوي له في خلايا الكبد بدءاً من Acetyl Co A.

ويلعب الكولسترول دوراً حيوياً هاماً في بناء وإصلاح الأغشية الخلوية وهو طليعة لاصطناع الحموض الصفراوية وفيتامين D (cholecalciferol) والهرمونات ذات البنية الستيرويدية.

## طرائق معايرة الكولسترول:

* **طرائق غير مباشرة:** وهي طرائق مرجعية قديمة تعتمد في المرحلة الأولى على تحطيم الروابط بين الشحوم والبروتينات ثم استخلاص الكولسترول بمحل عضوي مناسب وتصبين المؤستر منه، ثم ترسيبه على شكل معقد مع الديجيتونين. وفي المرحلة الثانية تتم معايرة المعقد السابق إما وزنياً أو حجمياً أو بمقياس العكر.
* **طرائق مباشرة:** وهي طرائق حديثة تلائم الكيمياء السريرية الحديثة وتضم المعايرات اللونية والمعايرات الأنزيمية. وتعتمد الطرائق اللونية على تفاعل ليبرمان أو تفاعل سالكوفسكي Salkowski Test.
1. **معايرة الكولسترول الكلي في مصل الدم بطريقة ليبرمان Liebermann-Burchard Test:**

تعتمد هذه الطريقة على ترسيب بروتينات المصل باستخدام كبريت حمض الصفصاف sulfosalicylic acid المذاب في حمض الخل المركز ثم يطبق تفاعل ليبرمان حيث يتفاعل الكولسترول مع بلا ماء حمض الخل بوجود حمض الكبريت المركز ليعطي معقد أخضر مزرق.

1. **معايرة الكولسترول بالطريقة الأنزيمية:**

تعتمد على حلمهة استرات الكولسترول ثم أكسدة الكولسترول بوجود أنزيم نوعي هو الكولسترول أوكسيداز لينتج الماء الأوكسجيني الذي يعاير عن طريق قياس شدة اللون الناتج عن أكسدته لمادة مولدة للون بوجود أنزيم البيروكسيداز:



**القيم المرجعية**: **حتى 200 mg/dl**

**تفسير النتائج والتغيرات المرضية:**

يعد فرط كولسترول الدم أكثر اضطرابات الشحوم ارتباطاً بالداء القلبي الاكليلي CHD وأهم أسبابه هو فرط كولسترول الدم العائلي familial hypercholesterolemia (FH) الناجم عن خلل وراثي يؤدي إلى ارتفاع في LDL البلازما نتيجة نقص مستقبلات LDL لديهم. كذلك يؤدي السكري غير المراقب إلى فرط الكولسترول ويترافق ذلك مع ارتفاع الشحميات الأخرى. ويرتفع الكولسترول أيضاً في المتلازمة الكيلائية، ويرتفع أو ينخفض في أمراض الكبد ويتعلق ذلك بطبيعة المرض وشدة الإصابة، ويؤدي نقص نشاط الدرق إلى فرط كولسترول الدم بينما ينخفض مستواه في فرط الدرق. إن قيم الكولسترول لا تتأثر كثيراً بالتغيرات الغذائية.

حديثاً لم يعد يكتفى بمعايرة الكولسترول الكلي وتتم معايرة كولسترول البروتين الشحمي منخفض الكثافة LDLc وكولسترول البروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDLc إضافة للكولسترول الكلي TC للمساهمة في التشخيص الدقيق ومراقبة ومتابعة العلاج لدى مرضى فرط الكولسترول العائلي ومرضى السكري وغيرهم المؤهبين للإصابة بالتصلب العصيدي وأمراض الشرايين الاكليلية من خلال حساب مناسب التصلب العصيدي التي سبق ذكرها.

**مبادئ معايرة كولسترول البروتينات الشحمية:**

* فصل البروتينات الشحمية بالتثفيل الفائق ultracentrifugation بمدروج KCl ثم معايرة الكولسترول في الأجزاء المفصولة VLDL, LDL, HDL
* الرحلان الكهربائي للبروتينات الشحمية على خلات السيللوز
* الطرائق التي تعتمد على الترسيب وهي الأكثر استخداماً في المعايرات الروتينية

حيث تتم معايرة البروتين الشحمي مرتفع الكثافة HDL وذلك بمعاملة المصل مع مركبات متعددة الشاردية مثل الهيبارين، MgCl2، كبريتات الدكستران، فيترسب كل من VLDL وLDL ثم يثفل المصل ويفصل السائل الطافي الذي يحوي HDL ويعاير الكولسترول فيه بالطريقة الأنزيمية. وتتم معايرة LDL بإحدى الطرائق السابقة أو يمكن حساب قيمة الـ LDL وفق الآتي:

**Friedewald Formula**:

$$LDL\_{c}=Total Cholesterol-HDL\_{c}-\frac{TAG}{5}$$

بشرط أن يكون تركيز TAG أقل من 400 ملغ/ دل.

يجب حساب النسبة **Tchol/ HDLc** وينصح أن تكون أقل من 5.4

ويجب حساب نسبة **LDLc/HDLc** وينصح أن تكون هذه النسبة أقل من 3 وتعتبر حدية إذا كانت ضمن المجال 3- 5 وخطرة إذا كانت أعلى من 5.

**القيم المرجعية للبروتينات الشحمية:**

**LDL**: ينصح أن تكون القيمة المرجعية أقل من 130 ملغ/ دل ويعد التركيز 130 – 159 ملغ/ دل عامل خطر معتدل، أما التركيز ≥ 160 ملغ/ دل فيعد عامل خطر شديد للأمراض القلبية الوعائية.

**HDL**: ينصح أن يكون أعلى من 60 ملغ/ دل ويكون التركيز الأقل من 35 ملغ/ دل لدى الرجال والأقل من 45 ملغ/ دل لدى النساء عامل خطورة للإصابة بالأمراض القلبية الوعائية.

**القسم العملي: تحديد تركيز Total Cholesterol لعينة مرضية**

**طريقة العمل:**

قم بتحضير 3 أنابيب اختبار كما يلي:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Sample | Standard | Blank |  |
| ـــ | 10 μL | ـــ | Cholesterol Standard |
| 10 μL | ـــ | ـــ | Sample |
| 1.0 mL | 1.0 mL | 1.0 mL | Reagent (A) |

* تمزج الأنابيب ثم تحضن لمدة 10دقيقة بدرجة حرارة الغرفة أو لمدة 5 دقائق بالدرجة 37 °C.
* ثم تقاس امتصاصية كل من العياري والعينة عند طول الموجة 500 nm ويحسب تركيز العينة كما يأتي:

$$C\_{sample}=\frac{A\_{sample}}{A\_{standard}}×C\_{standard}$$