

مقایسه تورین با مهار کننده‌های آنزیم میلوپراکسیداز در فرایند تغییر

لیپوپروتئین کم تراکم توسط اسید هیپوکلروس

دکتر هادی خرازی *؛ دکتر جورج شاور **

چکیده:

سابقه و هدف: تورین اسید آمینه گوگرد داری است که احتمالاً از روند خودتخریبی سلول‌ها طی فرایند تولید مواد اکسیدان نظیر اسید هیپوکلروس ($HOCl$) جلوگیری می‌نماید. مطالعه حاضر با هدف مقایسه تورین با مهارکننده‌های آنزیم میلوپراکسیداز (MPO) در فرایند تغییر لیپوپروتئین کم تراکم (LDL) ایجاد شده توسط $HOCl$ انجام شده است.

مواد و روش‌ها: مطالعه به روش آزمایشگاهی با استفاده از خون تعدادی اهداکننده با سطح لیپید طبیعی انجام گرفت. بر این اساس دو عملیات ذیل را مورد توجه قرار دادیم: مهار عملکرد نوتروفیل‌ها با جلوگیری از تولید اکسیدان‌ها توسط MPO ، با به کارگیری مواد شیمیایی نظیر آمینو ۱، ۲، ۴، تریازول، سیانید پتاسیم و خنثی سازی یا متوقف ساختن ترکیبات حاصله از نوتروفیل‌های فعال شده نظیر $HOCl$ مشتق از MPO با استفاده از اسیدهای آمینه متیونین، تورین و گلیسین. بدین منظور تخریب تریپتوفان در حضور سیستم MPO با استفاده از تکنیک فلوریمتر ارزیابی شد و از این روند به عنوان شاخصی برای تغییر LDL استفاده گردید.

یافته‌ها: تورین در غلظت ۴۰ میکرومولی که ۳ برابر کمتر از غلظت فیزیولوژیک آن است، در مقایسه با حالت شاهد (عدم وجود تورین) ۵۰ برابر $t_{max/2}$ طولانی تر گردید (۲۰ دقیقه در برابر ۰/۴ دقیقه). همچنین پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید هیدرازید ($PHBAH$) در محدوده غلظتی ۰/۳ تا ۰/۷۵ میکرومول به عنوان یک عامل شیمیایی تأخیر دهنده قوی در روند تخریب تریپتوفان مؤثر بود.

بحث: باتوجه به یافته‌ها، تورین پس از متیونین مؤثرترین خنثی کننده $HOCl$ بوده است و از میان معرف‌ها $PHBAH$ قوی ترین مهارکننده آنزیم میلوپراکسیداز بود؛ بنابراین تورین می‌تواند با اثر خنثی کننده‌گی بر اکسیدان‌ها در شرایط پاتولوژیک در استراتژی‌های درمانی خاص به کار گرفته شود، چرا که بدین جهت از وقوع آسیب در برخی از سلول‌های هدف (نوتروفیل‌ها) توسط اکسیدان‌های قوی کلردار در پروسه بیماری‌های قلبی عروقی جلوگیری نمود.

کلیدواژه‌ها: $HOCl$ ، $PHBAH$ ، تورین، MPO ، LDL

* دانشیار بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه.

** دانشیار بیوشیمی انستیتو بیوشیمی و بیولوژی مولکولی دانشگاه گراتس - اتریش.

عهده دار مکاتبات: کرمانشاه، باغ ابریشم، بلوار شهید شیرودی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی، گروه بیوشیمی،

Email: h_kharrazi@yahoo.com

تلفن: ۰۸۳۱-۸۳۶۷۳۳۴

مقدمه :

اسید آمینه تورین (Taurine) در بسیاری از بافت‌های حیوانی به صورت یک اسید آمینه آزاد وجود دارد و در ساختمان پروتئین‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها قرار نمی‌گیرد. غلظت‌های بالایی از تورین (۲ تا ۴۰ میلی مولار) در مغز، عضله، قلب، غدد درون‌ریز، شبکه و پلاکت‌ها یافت می‌شوند و همچنین مقادیر فوق العاده زیاد آن در سیتوزول سلول‌های التهابی خصوصاً نوتروفیل‌ها وجود دارد. در لوکوسیت‌ها غلظتی برابر ۳۵ میکرومول از این اسید آمینه گزارش شده است (۱). تورین از روند خودتخریبی که در طی فرایند تولید اکسیدان‌ها ایجاد می‌شود، جلوگیری می‌کند (۲). نقش تورین در لوکوسیت‌ها احتمالاً خنثی‌سازی اکسیدان‌های کلرینه نظیر HOCl می‌باشد (۳). آنزیم MPO یک پروتئین هم‌دار موجود در گرانولوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئوفیلی و مونوسیت‌های فعال شده می‌باشد (۴). این آنزیم در معدود واکنش‌های شیمیایی باعث تغییر در LDL به‌عنوان یک عامل اصلی و عمده و در فرایند تشکیل پلاگ‌های آتروژنیک، نقش کاتالیزوری دارد (۵). یکی از این واکنش‌ها به شکل‌گیری مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای از HOCl که قوی‌ترین اکسیدان تولیدشده توسط MPO است، منتهی می‌گردد (۶). این اکسیدان قوی باعث گسترش واکنش رادیکال‌های آزاد لیپیدهای موجود در لیپوپروتئین‌های (۷ و ۸). HOCl همچنین باعث کلرینه‌شدن آمین‌های موجود در پروتئین‌ها، غیر فعال شدن گروه‌های سولفیدریل (SH) بیرنگ شدن گروه‌های هم و در

نهایت تغییراتی در ساختار پروتئین‌ها از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۹ و ۱۰). Lampert و Stelmaszynska در یافتند که HOCl تولیدشده توسط MPO می‌تواند آغازگر فرایند پراکسیداسیون در لیپوپروتئین‌ها و لیپوزوم‌ها باشد (۱۱ و ۱۲).

از آنجاکه آپوپروتئین ۱۰۰ - B یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های تشکیل‌دهنده ملکول LDL می‌باشد، لذا با قراردادن LDL در معرض معرف‌هایی همچون هیپوکلریت تولیدشده طی فرایند آنزیماتیک منجر به اکسیداسیون اسیدهای آمینه باقی‌مانده از آپوپروتئین ۱۰۰ - B خواهد گردید (۱۳).

در مورد آترواسکلروزیس و نقش با اهمیت ماکروفازها و فاگوسیت‌ها به‌عنوان یک فرایند التهابی در جدار شریانی مطالعات متعددی صورت گرفته است (۱۴-۱۶)، اما در مورد نقش نوتروفیل‌ها در پاتولوژی آترواسکلروزیس مطالعات اندکی انجام شده است (۱۷ و ۱۸).

این مطالعه به منظور مقایسه تورین با دیگر مهارکننده‌های MPO در فرایند تغییر LDL توسط HOCl انجام گرفته است که در آن با بررسی ویژگی‌های یکی از ترکیبات مشتق از نوتروفیل‌ها یعنی MPO می‌توان مداخلات اختصاصی طراحی شده‌ای را در راستای پیشگیری از بروز آترواسکروتیک و سایر بیماری‌های التهابی در انسان پیشنهاد و اعمال نمود.

مواد و روش‌ها :

در یک مطالعه آزمایشگاهی از تعدادی اهداکننده خون که شامل مردان و زنان در محدوده سنی ۲۵ تا

سوکروز ۶۰ درصد که غلظت نهایی آن به ۶ گرم سوکروز در لیتر پلاسما می‌رسید، مخلوط گردید. سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد در تاریکی تا هنگام آماده سازی LDL حداکثر به مدت دو ماه نگهداری شد (۱۹).

ب- آماده‌سازی LDL: به روش Bergmann صورت گرفت (۲۰). غلظت LDL با استفاده از کیت ساخت بهرینگر - مانهایم و باروش CHOD - PAD تعیین گردید و از ضریب عددی ۳/۱۶ برای تبدیل میلی‌گرم کلسترول به کل حجم LDL در میلی لیتر استفاده شد.

ج- تهیه معرف‌ها: آنزیم انسانی میلوپراکسیداز (EC 1.11.1.7) از کارخانه Calbiochem، ۳ آمینو ۲ و ۴- تریازول (ATZ) پارا - هیدروکسی بنزوئیک اسید هیدرازید (PHBAH)، بنزو هیدروکسامیک اسید (BHA)، سالیسیل هیدروکسامیک اسید (SHA)، گلیسین و متیونین از کارخانه شیمیایی زیگما - آلد ریچ آلمان غربی تهیه شد. تورین و سدیم آزاید از کارخانه Fluka سویس و بالاخره سیانید پتاسیم ساخت کارخانه مرک آلمان غربی بوده است.

د - تعیین فلورسانس تریپتوفان: از کاهش فلورسانس تریپتوفان تحت تأثیر MPO، به عنوان شاخصی جهت ارزیابی تأثیر ترکیبات خنثی کننده HOCl و مهارکنندگان MPO در جلوگیری از تغییر پروتئین apo B-100 در LDL استفاده گردید. LDL، فلورسانسی در محدوده اشعه فرابنفش ایجاد می‌نماید که به دلیل ۳۷ مولکول تریپتوفان باقی مانده در apo B-100 می‌باشد. اندازه گیری فلورسانس با استفاده از اسپکترومتر لومینسانس Perkin Elmer LS 50 B

۴۰ سال و با سطح طبیعی لیپیدی که مدت ۱۴ ساعت ناشتا بودند، در لوله‌های پروپیلین حاوی EDTA ۱۰ درصد (PH=7/4) خون‌گیری به عمل آمد. بر این اساس دو عملیات ذیل را انجام دادیم:

۱- مهار عملکرد نوتروفیل‌ها با جلوگیری از تولید اکسیدان‌ها توسط MPO، با به کارگیری مواد مختلف شیمیایی نظیر آمینو ۱، ۲، ۴ تریازول، سیانید پتاسیم، سدیم آزاید، پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید هیدرازید و بنزوئیک اسید هیدرازید.

۲- خنثی سازی و متوقف ساختن ترکیبات حاصل از نوتروفیل‌های فعال شده نظیر HOCl مشتق از MPO با استفاده از اسیدهای آمینه مختلف نظیر متیونین، تورین و گلیسین.

بدین منظور تخریب تریپتوفان در حضور سیستم MPO با استفاده از تکنیک فلوریمتر ارزیابی شد و از این روند به عنوان شاخصی برای تغییر LDL استفاده گردید. برای تعیین کمی خصوصیات محافظتی، میانگین و انحراف معیار پارامتر $t_{max/2}$ برای سه بار تکرار آزمایش محاسبه گردید. برای به دست آوردن $t_{max/2}$ ابتدا از نمودار روند بر حسب زمان $t_{max/2}$ استاندارد محاسبه و نمودار روند آن رسم گردید. سپس در مورد تمامی معرف‌ها در غلظت‌های ثابت این محاسبه تکرار گردید. و نمودار محاسبه میانگین و انحراف معیار $t_{max/2}$ برای همه معرف‌ها بر حسب غلظت رسم گردید.

آماده سازی مواد:

الف - تهیه پلاسما: پلاسمای تمامی نمونه‌های خونی در سانتریفوژ یخچال‌دار و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جدا شد و با حجم مساوی از محلول

تخریب تریپتوفان مشخص می‌شد یک فرایند سریع بود که در غیاب مهارکنندگان، غالباً در کمتر از ده دقیقه کامل می‌شد. برای توصیف کمی تغییرات فلورسانس، پارامتر $t_{max/2}$ به عنوان عاملی برای مشخص نمودن تأثیرات محافظتی، معرفی گردید.

$t_{max/2}$ عبارت است از مدت زمان لازم برای مشاهده یک کاهش ۵۰ درصدی از میزان فلورسانس اولیه. همچنین می‌توان $t_{max/2}$ را به عنوان واحد سرعت تخریب تریپتوفان در حین بروز تغییرات ناشی از MPO در LDL دانست. توضیح این نکته لازم است که برای هر غلظت از تمامی معرف‌های به کار گرفته شده در این مطالعه سه بار آزمایش تکرار شده است و برای تکرار آزمایش‌های میانگین و انحراف معیار محاسبه گردید. برای دستیابی به نتایج حاصل از این پژوهش از نمودار روند استفاده شد.

یافته‌ها :

وجه مشترک همه آزمایش‌های انجام شده در حضور سیستم $MPO/H_2O_2/Cl^-$ یک الگوی کینتیک عمومی می‌باشد که در منحنی ۱ به تصویر کشیده شده است. کل میزان کاهش فلورسانس، بدون در نظر گرفتن غلظت به کار رفته تقریباً در مورد تمام مهارکنندگان (به جز سدیم آزاید) مساوی بود. تنها براساس مقادیر $t_{max/2}$ تفاوت‌هایی به وجود می‌آید.

تورین، گلایسین و متیونین:

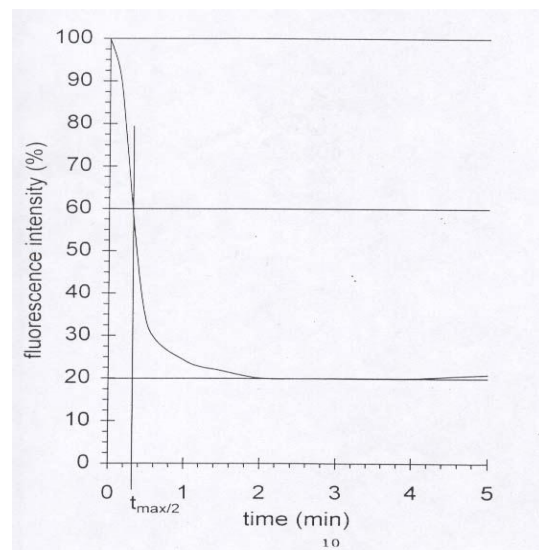
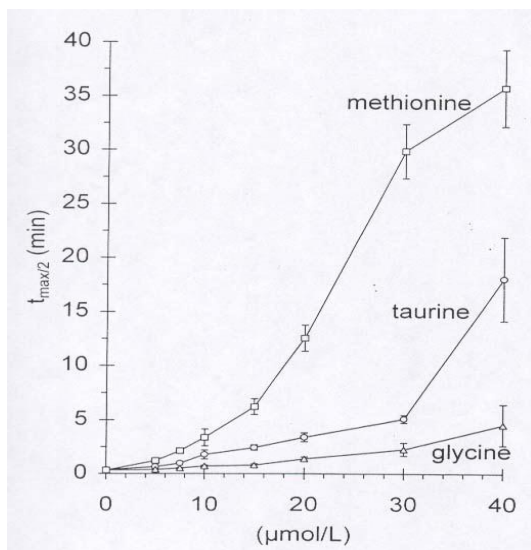
از میان این سه اسید آمینه که اثر تأخیری را بر روند تغییر LDL توسط MPO از طریق خنثی‌سازی

انجام شد. کاهش فلورسانس تریپتوفان متصل به LDL در حضور MPO، با استفاده از روش پی‌گیری زمانی^۱ در طول موج انتشاری ۳۳۱ نانومتر و با درجه القایی مشخص شده ۲۸۲ نانومتر، انجام گرفت. شکاف‌های انتشاری و القایی در طول موج ۱۵ نانومتر تنظیم شدند. در یک کووت، LDL تا غلظت ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر و نسبت به جرم مولکولی تام LDL با بافر PBS و $PH = 6$ رقیق و تا حد غلظت ۰/۱ میکروگرم در میلی لیتر آنزیم MPO اضافه گردید.

واکنش با اضافه نمودن ۰/۱ میلی مول از H_2O_2 ، که روزانه و با رقیق سازی محلول مادر به دست می‌آمد، آغاز می‌شد. تحولات کینتیکی تغییرات فلورسانس در هر نیم دقیقه اندازه‌گیری شد.

تغییرات LDL در هنگام فعالیت سیستم $MPO/H_2O_2/Cl^-$ به تنهایی و یا در حضور اسیدهای آمینه خنثی‌کننده HOCl نظیر تورین، متیونین و گلایسین و یا در حضور ترکیبات مهارکننده MPO مثل ATZ، سیانید پتاسیم، سدیم آزاید، SHA، PHBAH و BHA ارزیابی و اندازه‌گیری گردید. همه این آزمایش‌ها در شرایط یکسان از جمله حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط بافر PBS با $PH=6$ و غلظت‌های $(12/5 \mu g/ml LDL, 0.1 \mu g/ml MPO; 0.1 mmol/l H_2O_2)$ صورت پذیرفت.

سیر اختصاصی و مشخص بروز تغییرات در فلورسانس تریپتوفان کاملاً قابل تکرار بوده و عموماً به صورت یک کاهش سریع تا حد نزدیک به صفر بوده است. استحاله apo B-100 که با شاخص



منحنی ۲- چگونگی مهار توسط متیونین، تورین و گلیسین در حضور $\text{MPO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cl}^-$ و محاسبه میانگین و انحراف معیار $t_{max/2}$.

منحنی ۱- منحنی کنتیک استاندارد تغییرات فلورسانس تریپتوفان در حضور $\text{MPO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cl}^-$ و محاسبه $t_{max/2}$ بعنوان واحد سرعت تخریب تریپتوفان.

پارا-هیدروکسی بنزوئیک اسید هیدرازید (PHBAH):

این ترکیب به عنوان یک عامل مهار کننده عالی در برابر تغییرات apo B-100 ناشی از فعالیت MPO، شناسایی گردید. این ماده در محدوده غلظتی ۰/۳ تا ۰/۷۵ میکرومول، اثر تأخیردهندگی پر قدرتی را نشان داد. در مقادیر غلظتی پایین تر از ۰/۳ میکرومول تغییرات $t_{max/2}$ به سختی قابل اندازه گیری بودند (منحنی ۳).

اسید سالیسیل هیدروکسامیک (SHA) و اسید بنزوئیک هیدروکسامیک (BHA):

عملکرد مهارکننده SHA در جلوگیری از تغییر LDL توسط $\text{MPO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cl}^-$ ، در محدوده غلظت ۵ تا ۱۰۰ میکرومول اندازه گیری شد (منحنی ۴). در

HOCl اعمال می کنند، متیونین قوی ترین اثر مهاری را داشت و تورین و گلیسین به ترتیب، در رده های بعدی قرار گرفتند.

تورین و متیونین در محدوده ۱۰ تا ۴۰ میکرومول، تخریب تریپتوفان را مهار نموده، به نحوی که $t_{max/2}$ افزایش چشمگیری داشت. در غلظت ۴۰ میکرومول از تورین که ۳ مرتبه زیر مقادیر غلظت فیزیولوژیک این اسید آمینه در بدن می باشد، $t_{max/2}$ در مقایسه با حالت عدم وجود تورین، با ضریبی در حد ۵۰ افزایش داشت (۲۰ دقیقه در برابر ۰/۴ دقیقه). متیونین حتی اثر مهاری قوی تری نسبت به تورین نشان داد (ضریب ۱۳۲)، در حالی که گلیسین کمترین اثر (ضریب ۱۳) را دارا بود (منحنی ۲).

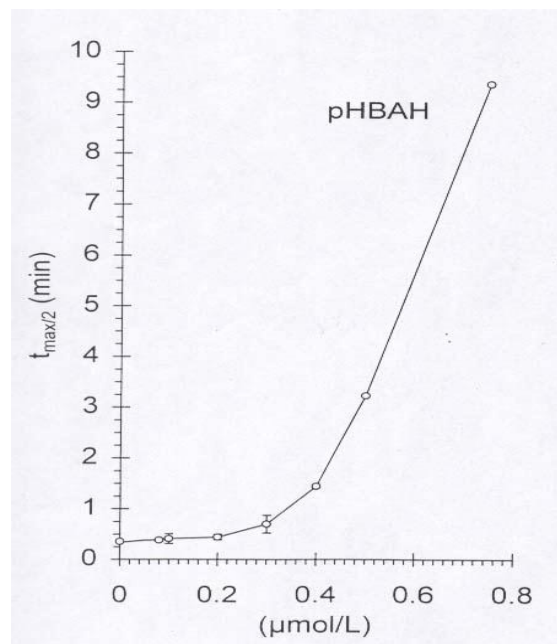
مقادیر پایین SHA (۵ تا ۱۰۰ میکرومول) بروز تغییرات در apo B-100 با سرعت بالایی صورت پذیرفت. با افزایش غلظت مهارکننده در محدوده ۲۰ تا ۱۰۰ میکرومول $t_{max/2}$ به نحوی که در منحنی ۴ نشان داده شده است، افزایش یافت. در مورد BHA نیز نتایج مشابه حالات فوق (SHA) بودند، با این تفاوت که با درجات پایین تر رخ می دادند.

۳- آمینو ۱، ۲، ۴- تریازول (ATZ):

این ترکیب ضعیف ترین تأثیرات محافظتی را در بین مهارکنندگان اثر MPO در ایجاد تغییرات LDL داشته است. ATZ تنها تأخیر کمی در کنتیک واکنش ها به وجود آورد، به نحوی که در محدوده غلظتی ۲/۵ تا ۵۰ میکرومول باعث افزایش مختصری در $t_{max/2}$ گردید. (منحنی ۵).

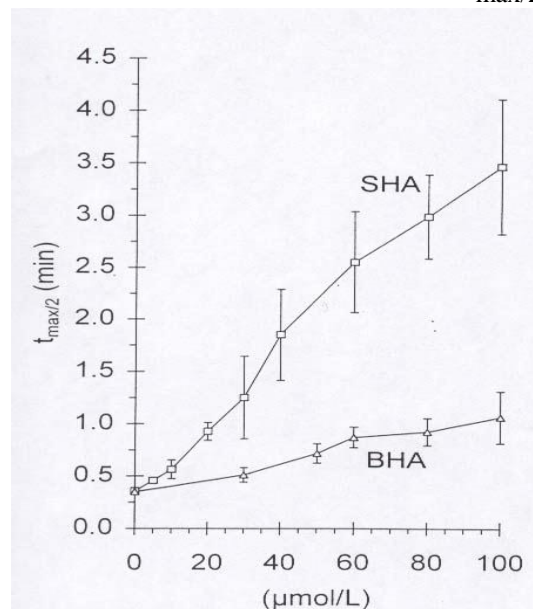
سیانید پتاسیم و سدیم آزاید:

ارتباط پیوسته بین $t_{max/2}$ و غلظت های متفاوت سموم هم (Heme) یعنی سیانید پتاسیم و سدیم آزاید در منحنی ۵ نشان داده شده است. سیانید پتاسیم در غلظتی بالاتر از ۲۰ تا ۵۰ میکرومول باعث بروز تأخیری چشمگیر در تغییر LDL گردید. درجه مهارکنندگی این ماده شبیه به تورین بود. گرچه این دو ماده مکانیزم های عملی متفاوتی دارند، درجه عملکرد مهارتی سدیم آزاید شبیه به یکی از عوامل متوقف سازنده HOCL یعنی گلیسین بود. در غلظت ۵۰ میکرومول سدیم آزاید اثر تأخیری مهمی در زمینه جلوگیری از تغییر LDL توسط MPO بروز نمود. در مقایسه با حالت شاهد که سدیم آزاید وجود



منحنی ۳- چگونگی مهار MPO توسط پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید هیدرازید (PHBAH) در حضور سیستم $MPO/H_2O_2/Cl^-$ و محاسبه میانگین و انحراف

$t_{max/2}$



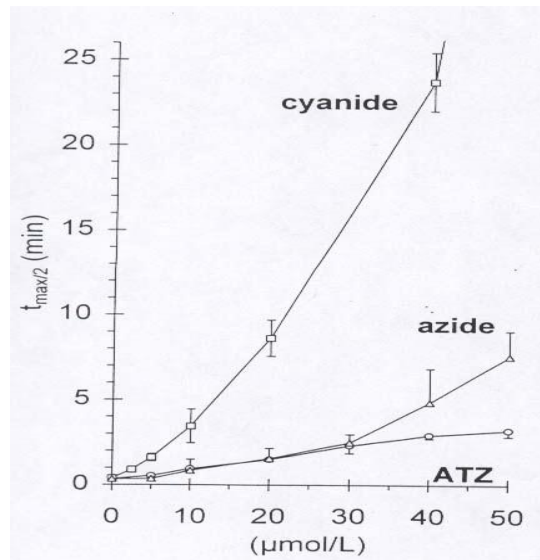
منحنی ۴- چگونگی مهار MPO توسط اسید سالیسیل هیدروکسامیک (SHA) و اسید بنزوئیک هیدروکسامیک (BHA) در حضور سیستم $PO/H_2O_2/Cl^-$ و محاسبه میانگین و انحراف

معیار $t_{max/2}$

که گرچه تورین با خنثی سازی HOCl لومینسانس شیمیایی سیستم $H_2O_2/HOCl$ را مهار می سازد، اما این ترکیب تنها اثر کوچکی بر لومینسانس شیمیایی وابسته به سیستم MPO/H_2O_2 دارد که در توافق با یافته های مطالعه ما نیست (۲۱).

اثر مهارتی متیونین قوی تر از تورین می باشد، به نحوی که $t_{max/2}$ در حضور متیونین دو برابر طولانی تر از $t_{max/2}$ نسبت به تورین است. این مطلب را می توان با توجه به این واقعیت که متیونین می تواند به سه مولکول HOCl متصل شود، توجیه نمود.

شناسایی واکنش مطلوب تورین با HOCl به مطالعات Grisham و همکارانش باز می گردد که مشخص گردید تورین واکنش سریع با HOCl داشته و در نهایت تورین - کلرآمین (TAU-NHCl) ایجاد می گردد (۲۲) که یک متابولیت تقریباً غیرسمی و کمتر واکنش دهنده بوده و بنا به نظر برخی دانشمندان به عنوان یک ملکول پیام رسان اختصاصی در نوتروفیل های فعال شده عمل کرده، باعث هماهنگی عمل ماکروفاژها در تولید مدیاتورهای التهابی می گردد و ممکن است حداقل به میزان کمی، باعث محافظت غشاها در برابر آسیب مواد اکسیدان از طریق مهار تولید نیتريت و آلفا-TNF گردد (۲). با این حال دلیل اهمیت مطالعه تورین نسبت به سایر اسیدهای آمینه این است که در فرایند التهاب حضور این اسید آمینه بسیار بالاتر از حد مورد انتظار است. از میان ترکیبات مهارکننده عملکرد نوتروفیل ها برای جلوگیری از تولید اکسیدان ها توسط MPO می توان ATZ را یک مهارکننده ضعیف MPO به شمار آورد،



منحنی ۵-چگونگی مهار MPO توسط ۳-آمینو ۴،۲،۱ تریازول (ATZ)، سیانید پتاسیم و آزید سدیم در حضور سیستم $PO/H_2O_2/Cl^-$ و محاسبه میانگین و انحراف معیار $t_{max/2}$ نداشت، در حضور این ماده با ضریبی در حدود ۲۱ افزایش نشان داد (۷/۵ دقیقه در مقابل ۰/۳۵ دقیقه).

بحث:

این پژوهش نشان داد که تورین دومین خنثی کننده قوی HOCl حتی در غلظت های حدود ۴۰ میکرومول است که سه مرتبه کمتر از مقادیر آن در لوکوسیت انسانی است؛ بنابراین فعالیت بیولوژیک MPO وابسته به یون کلر ممکن است تحت کنترل درونزای تورین باشد. $t_{max/2}$ در حضور تورین ۵۰ برابر طولانی تر از حالت شاهد (عدم وجود تورین) به دست آمد (۲۰ دقیقه در برابر ۰/۴ دقیقه). برخلاف این نتایج Edwards و Davies نشان دادند

Edwards و Davies در مطالعات خود این نکته را روشن ساختند که SHA هم می تواند باعث مهار لومینسانس شیمیایی تولید شده توسط سیستم سلولی آزاد MPO/H_2O_2 گردد و هم بر فعالیت پراکسیداتیو MPO خالص شده تأثیرات مهاری داشته باشد. غلظت SHA لازم جهت مهار کامل فعالیت MPO، بین ۳۰ تا ۵۰ میکرومول بود. در آزمایش های به عمل آمده در این مطالعه جلوگیری کامل از تغییرات LDL ناشی از MPO حتی در غلظت ۱۰۰ میکرومول SHA دیده نشد. احتمالاً دلیل عمده اثر مهاری قوی SHA بر MPO، مهار پراکسیداز می باشد و خنثی سازی HOCl تأثیر جزئی را در این خصوص موجب می گردد (۲۶). SHA و BHA نسبت به یون کلر تمایل بیشتری به اکسید شدن دارند و از اتصال کلر به گروه های هم آنزیم جلوگیری می نمایند. اتصال SHA سه برابر قوی تر از اتصال BHA ارزیابی شده است. نتایج این مطالعه این نظریه را تأیید و تقویت می کند که تورین در محیط آزمایشگاهی دارای اثر بالقوه درمانی می باشد، چرا که از وقوع آسیب در برخی از سلول های هدف توسط اکسیدان های کلرینه قوی جلوگیری می نماید. فرایند خنثی سازی HOCl می تواند در شرایط پاتولوژیک با ارزش باشد؛ زیرا که با توجه به آن می توان استراتژی های درمانی خاص را طراحی نمود و خصوصاً فعالیت طوفانی نوتروفیل های فعال شده را در تولید مواد اکسید کننده با توقف و تعویق مواجه ساخت.

که در عین حال خاصیت مهارکنندگی برای آنزیم کاتالاز را نیز داراست. سدیم آزاید و سیانید پتاسیم در زمینه تعدیل و کندسازی اثر MPO بر apo B- 100 کاملاً مؤثر می باشند که به دلیل مکانیزم غیراختصاصی شان در تأثیرگذاری بر تمام پروتئین های هم دار (Heme)، ارزش درمانی بالایی ندارند (۲۳). میزان کارایی سیانید پتاسیم در اعمال اثر مهاری و در نهایت جلوگیری از تغییر LDL مشابه تورین و کارایی مهاری سدیم آزاید معادل گلايسين بود. نمودار تغییرات LDL در حضور هر دو ترکیب فوق، مشابه الگوی کلی کیتیکی شرح داده شده در مورد سایر مهارکنندگان بود. نکته قابل ذکر اینکه در مورد سدیم آزاید نوعی کاهش وابسته به غلظت در روند تخریب تریپتوفان وجود داشت که احتمالاً در نتیجه غیرفعال سازی آنزیم بوده است. Kettle و همکارانش یک سلسله مطالعات را روی بنزوئیک اسید هیدرازیدو مشتقات آن انجام داده اند (۲۴ و ۲۵)، که دریابند کدام خصوصیات این دسته از ترکیبات باعث مؤثر بودن آنان در جلوگیری از تولید HOCl توسط آنزیم MPO شده است. این محصول منتج از اکسیداسیون (که احتمالاً یک رادیکال می باشد)، به صورت غیرقابل برگشت باعث غیرفعال شدن آنزیم می گردد. آزمایش های ما در مورد PHBAH، نشان دهنده تأثیرات چشمگیر تأخیر دهنده این ترکیب در روند تغییر LDL توسط MPO، حتی در غلظتی به میزان ۰/۳ میکرومول بود.

REFERENCES:

1. Pasantes - Moralses H, Fellman JH. Taurine and hypotaurine and membrane lipid peroxidation . In: Miquel J, editor. CRC handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1989, P.105-119.
2. Marcinkiewicz J, Grabowska A, Bereta J, Stelmaszynska T. Taurine chloramine, a product of activated neutrophils inhibits in vitro the generation of nitric oxide and other macrophage inflammatory mediators . J Leukoc Biol 1995; 58: 667-674.
3. Marquez LA, Dunford HB. Chlorination of taurine by myeloperoxidase. Kinetic evidence for an enzyme-bound intermediate. J Biol Chem 1994; 269: 7950-7956.
4. Daugherty A, Rateri DL, Dunn JL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest 1994; 94:437-444.
5. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. Free Rad Biol Med 1996; 20:707-727.
6. Harrison JE, Schultz J. Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase. J Biol Chem 1976; 251:1371-1374.
7. Jerlich A, Fabjan JS, Tschabuschnig S, Smirnova AV, Horakoval L, Hayn M, et al. Human low density lipoprotein as a target of hypochlorite generated by myeloperoxidase. Free Radic Biol Med 1998; 24:1139-1148.
8. Panasenko OM, Evgina SA, Aidyaliev RK, Sergienko VI, Vladimirov YA. Peroxidation of human blood lipoproteins induced by exogenous hypochlorite generated in the system of myeloperoxidase+ $H_2O_2 + Cl_2$. Free Radic Biol Med 1994; 16:143-148.
9. Heinecke JW, Li W, Mueller DM, Boher A, Turk J. Cholesterol chlorohydrin synthesis by the Myeloperoxidase hydrogenperoxide-chloride system: potential markers for lipoproteins oxidatively damaged by phagocytes. Biochemistry 1994; 33:10127- 10136.
10. Aruoma O, Halliwell B. Action of hypochlorous acid on the antioxidant protective enzymes superoxide dismutase catalase and glutathione peroxidase. Biochem J 1987; 248: 973-976.
11. Stelmaszynska T, Kukovelz E, Egger G, Schaur RJ. Possible involvement of myeloperoxidase in lipid peroxidation. Int J Biochem 1992; 24:121-128.
12. Lampert MB, Weiss J. The chlorinating potential of the human monocyte. Blood 1993; 62: 645-651.

13. Hazell JL, Van den Brg JJM, Stocker R. Oxidation of low density lipoprotein by hypochlorite causes aggregation that is mediated by modification of lysine residues rather than lipid oxidation. *Biochem J* 1994; 304:297-304.
14. Zgliczynski JK, Stelmaszynska T. The respiratory burst of neutrophilic granulocytes and its influence on infected tissues: In: Sbarra AJ, Strauss RR, editors. *The respiratory burst and its physiological significance*. New York: Plenum Press, 1988, P.315-347.
15. Roessner A, Vollmer E, Jaeger E, Rauterberg J, Bocker W. Differentiation and role of macrophages in the early human atherosclerotic plaque: In: Vollmer E, Roessner A; editors. *Recent progress in atherosclerosis research*. Berlin: Springer Verlag; 1993, P.59-71.
16. Ricevuti G, Mazzone A, Pasotti D, De Servi S, Specchia G. Role of granulocytes in endothelial injury in coronary heart disease in humans. *Atherosclerosis* 1991; 91:1-14.
17. Ainsworth TM, Lynam EB, Sklar LA. Neutrophil function in inflammation and infection: In: Sirica AE, editor. *Cellular and molecular pathogenesis*. Philadelphia: Lippincott - Raven Publishers; 1998, P.37-55.
18. Key NS, Platt JL, Vercellotti GM. Vascular endothelial cell proteoglycans are susceptible to cleavage by neutrophils. *Arterioscler Thromb* 1992; 12:836-842.
19. Kleinfeld HA, Hak-Lemmers HLM, Stalenhoef AFH, Demacker PNM. Improved measurement of low-density lipoprotein. Susceptibility to copper-induced oxidation: application of a short procedure for isolating low-density lipoprotein. *Clin Chem* 1992; 38: 2066-2072.
20. Bergmann AR, Ramos P, Esterbauer H, Winklhofer-Roob BM. RRR- tocopherol can be substituted for by Irolox in determination of kinetic parameters of LDL oxidizability by copper. *J Lipid Res* 1997; 38: 2580-2588.
21. Davies B, Edwards SW. Inhibition of myeloperoxidase by salicylhydroxamic acid. *Biochem J* 1989; 258: 801-806.
22. Grisham MB, Jefferson MM, Melton DF, Thomas EL. Chlorination of endogenous amines by isolated neutrophils: ammonia-dependent bactericidal, cytotoxic and cytolytic activities of chloramines. *J Biol Chem* 1984; 259:10404-10.

23. Hazen SL, Heinecke JW. 3-Chlorotyrosine: a specific marker of myeloperoxidase – catalyzed oxidation is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *J Clin Invest* 1997; 99:2075-2081.
24. Kettle AJ, Gedye CA, Hampton MB, Winterbourn CC. Inhibition of myeloperoxidase by benzoic acid hydrazides. *Bio J* 1995; 308:559-563.
25. Kettle AJ, Gedye CA, Winterbourn CC. Mechanism of inactivation of myeloperoxidase by 4-aminobenzic acid hydrazide. *Biochem J* 1997; 321:503-508.
26. Ikeda-Saito M, Shelley DA, Lu L, Booth KS, Caughey WS, Kimura S. Salicylhydroxamic acid inhibits myeloperoxi activity. *J Biochem Chem* 1991; 266:3611-3616.