

واژه‌های کلیدی:

غشا،
خون،
لیپوپروتئین با چگالی کم،
صافش،
جذب

غشاهای بر پایه پلی سولفون در جداسازی لیپوپروتئین با چگالی کم از خون

رحیم دهقان^۱، جلال برزین^{۱*}، سید حسین ابطحیان^۲، بهنام دارابی^۳، حمیدرضا قادری^۴
^۱ تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، پژوهشکده علوم، گروه پلیمرهای زیست سازگار
^۲ ایران، نورآباد ممسنی، کلینیک درمانی پاسارگاد
^۳ شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پیراپزشکی
^۴ فسا، دانشگاه علوم پزشکی فسا، دانشکده فناوری های نوین، گروه مهندسی بافت

چکیده ...

بیماری‌های قلبی و عروقی شایع‌ترین دلیل مرگ‌ومیر در سراسر جهان به شمار می‌آید. افزایش بیش از حد سطح لیپوپروتئین با چگالی کم (Low Density Lipoprotein) در خون به‌عنوان اصلی‌ترین دلیل بیماری‌های عروق کرونری و تصلب شرایین محسوب می‌شود. جداسازی LDL از خون بیماران، به‌خصوص آن‌هایی که با دارودرمانی بهبود نمی‌یابند، یکی از انتخاب‌های سخت‌افزاری برای این منظور است. روش‌های جداسازی LDL به‌طور کلی به دو دسته روش‌های مبتنی بر جذب و صافش آبشاری تقسیم‌بندی می‌شوند. در این مطالعه علاوه بر این که به بررسی مروری این روش‌ها پرداخته شده، استفاده از غشاهای بر پایه پلی سولفون در جداسازی LDL مورد بررسی قرار گرفته است. با الهام از ساختار گیرنده ذاتی LDL در بدن (LDLR)، روش‌های اصلاح متفاوتی همچون هیپارینه کردن از طریق کلرومتیل دار کردن غشا، اصلاح با پلاسمای آمونیاک، اصلاح از طریق پلی‌دیپامین و پلی‌اتیلن‌ایمین، گلیکوزیله کردن غشا با روش شیمی کلک و اتصال آلزینات‌سولفات به سطح غشای پلی سولفون برای جذب LDL استفاده شده است. به‌منظور بررسی صحت فرایند اصلاح از آزمون‌های مختلفی همچون طیف‌سنجی تبدیل فوریه (ATR-FTIR)، طیف‌سنجی اشعه ایکس (XPS)، اندازه‌گیری زاویه تماس آب و پتانسیل زتا استفاده می‌شود. همچنین خون‌سازگاری این دسته از غشاها از موارد اساسی در توسعه آن‌ها برای کاربرد بیان‌شده است.

*پست الکترونیکی مسئول مکاتبات:

J.Barzin@ippi.ac.ir

۱ مقدمه

پلیمر، در این مطالعه مروری سعی شده است ضمن معرفی روش‌های جداسازی کلسترول LDL به صورت خارج بدنی، آخرین مطالعات در زمینه غشاهای پلیمری در راستای هدف بیان شده مورد بررسی قرار گیرد.

۲ انواع لیپوپروتئین‌ها و عملکرد آن‌ها

هر ذره لیپوپروتئینی دارای دو بخش مجزا است: ۱- بخش مرکزی که شامل لیپیدهای آب‌گریز تری‌آسیل‌گلیسرول و استرکلسترول است و ۲- بخش قشری که شامل لایه‌ای از لیپیدهای آمفی‌پاتیک فسفولیپید، گلیکولیپید و کلسترول آزاد به همراه آپولیپوپروتئین‌ها است.

اساس تقسیم‌بندی لیپوپروتئین‌ها چگالی آن‌ها است که عبارتند از: ۱- شیلومیکرون‌ها (CM) که در بین لیپوپروتئین‌ها دارای بزرگ‌ترین اندازه، بیشترین درصد تری‌گلیسرید و کم‌ترین وزن مخصوص است و آپولیپوپروتئین اصلی شیلومیکرون، Apo-B48 است. ۲- لیپوپروتئین با وزن مخصوص بسیار پایین (VLDL) که حاوی ۹۰ درصد چربی است (۶۰ درصد تری‌گلیسرید و مابقی چربی‌هایی نظیر فسفولیپید و استرکلسترول). آپولیپوپروتئین‌های VLDL شامل Apo B100 و Apo C-II است. ۳- لیپوپروتئین با وزن مخصوص پایین (LDL) با بیشترین میزان کلسترول که در بخش بعدی به تفسیر در مورد آن پرداخته خواهد شد. ۴- لیپوپروتئین با وزن مخصوص بالا (HDL) که حاوی حدود ۵۰ درصد لیپید (۲ درصد تری‌گلیسرید، ۳۰ درصد فسفولیپید و ۱۸ درصد کلسترول آزاد) و دارای آپولیپوپروتئین‌هایی مانند Apo E و Apo C-II است. در جدول ۱ مشخصات لیپوپروتئین‌های خون آورده شده است [۱۱].

۳ لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)

VLDL در پلاسما تحت تأثیر آنزیم لیپوپروتئین لیپاز (LPL) از بار تری‌گلیسریدی خود تا حدودی تهی شده و به IDL تبدیل می‌شود. در حین این فرایند، مقداری استرکلسترول نیز از HDL

جدول ۱ مشخصات لیپوپروتئین‌های خون.

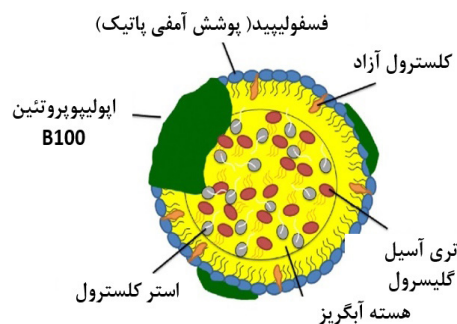
ردیف	لیپوپروتئین	چگالی (g/dl)	قطر (nm)
۱	CM	<۹۵/۰	۱۲۰۰-۷۵
۲	VLDL	۰/۹۵ - ۱/۰۰۶	۸۰-۳۰
۳	IDL	۱/۰۰۶ - ۱/۰۱۹	۳۵-۲۵
۴	LDL	۱/۰۰۶ - ۱/۰۶۳	۲۵-۱۸
۵	HDL	۱/۰۰۶ - ۱/۲۱۰	۱۲-۵

بیماری‌های قلبی و عروقی شایع‌ترین دلیل مرگ‌ومیر در سراسر جهان است. افزایش مبتلایان به بیماری‌های گرفتگی عروق کرونری قلب (CAD) و تصلب شرایین (Atherosclerosis) و ترومبوز مغزی، محققان را به تلاش هرچه بیشتر به سمت کاهش میزان این بیماری‌ها سوق داده است. کلسترول موجود در خون نقش موثری در پیشرفت بیماری‌های قلبی و عروقی دارد [۱]. خون بافت زنده‌ای است که از دو بخش جامد و مایع تشکیل شده است. بخش جامد را سلول‌های خونی شامل سلول‌های قرمز خون (اریتروسیت‌ها)، سلول‌های سفید خون (لوکوسیت‌ها) و پلاکت‌ها (ترومبوسیت‌ها) تشکیل می‌دهند که ۴۵ درصد از خون کامل را شامل می‌شوند و بخش مایع که پلاسما نام دارد شامل آب که بیش از ۹۰ درصد پلاسما را تشکیل می‌دهد، و پروتئین‌ها و املاح معدنی است [۲ و ۳]. کلسترول در خون توسط مجموعه‌ای از لیپوپروتئین‌ها از جمله لیپوپروتئین با چگالی خیلی کم (VLDL)، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، لیپوپروتئین با چگالی متوسط (IDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) حمل می‌شود و اعتقاد بر این است که LDL که حاوی میزان زیادی کلسترول بوده، یکی از اصلی‌ترین عوامل در توسعه بیماری تصلب شرایین است [۴ و ۵]. زمانی که سطح بالای LDL در خون با غلظت پایین HDL همراه شود، روند تجمع کلسترول در نواحی درون سلولی و بیرون سلولی دیواره سرخرگی افزایش یافته که منجر به تشکیل پلاک و انسداد در شریان شده، می‌تواند سبب بیماری‌های قلبی و عروقی شود. بنابراین کاهش سطح LDL در خون، راهکاری درمانی برای کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی و عروق مغزی به شمار می‌آید [۸-۶]. درمان بیماری‌هایی همچون کلسترول بالای ارثی (Familial Hypercholesterolemia) که به دلیل نقص ژنتیکی عدم وجودگیرنده‌های LDL در بدن بیمار است، با دارودرمانی موثر نبوده، نیازمند بهره‌مندی از دیگر روش‌ها است [۹]. بنابراین جداسازی LDL از خون به صورت خارج بدنی (Extracorporeal) به عنوان روشی اثربخش برای افزایش طول عمر این نوع بیماران محسوب می‌شود. از سال ۱۹۹۶ میلادی سازمان غذا و داروی آمریکا استفاده از روش جداسازی LDL را برای بیمارانی که از میزان LDL بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و بیمارانی که به بیماری عروق کرونری مبتلا هستند و سطح LDL خون آن‌ها بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است، تأیید کرد [۱۰]. با توجه به آمار بالای بیماری‌های قلبی و عروقی در ارتباط با افزایش سطح LDL در خون و ضرورت هر چه بیشتر کاهش میزان آن در خون، به‌منظور آشنایی متخصصان حوزه

LDL از آن به سمت صافی دوم هدایت می‌شود. این صافی از غشایی تشکیل شده که دارای آستانه شکست جرم مولکولی (MWC0) تقریباً یک میلیون دالتون است. کلاسترول LDL دارای وزن مولکولی تقریباً ۲,۳۰۰,۰۰۰ دالتون بوده، بنابراین توسط غشا نگه داشته می‌شود. همچنین دیگر مولکول‌ها که بزرگتر از یک میلیون دالتون هستند توسط غشا نگه داشته می‌شوند؛ درحالی‌که اجزای دیگر پلازما که کمتر از یک میلیون دالتون هستند، از غشا عبور می‌کنند و به بدن بیمار برگشت داده می‌شود. بنابراین با جداسازی پلاسمایی معادل ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ میلی‌لیتر، کل کلاسترولی که می‌تواند کاهش یابد حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد از مقدار اولیه بوده، مقدار کلاسترول LDL معادل ۳۰ تا ۴۵ درصد نسبت به مقدار اولیه کاهش می‌یابد. در انتها پس از تصفیه پلاسمای خون از عامل بیماری‌زا، پلاسمای تصفیه‌شده به سلول‌های جداشده در مرحله اول اضافه شده، به بدن بیمار برگردانده می‌شود [۱۶].

به دلیل توزیع منافذ نامنظم با قطره‌های مختلف در صافش آبشاری، اجزای پلازما با وزن مولکولی کمتر نیز می‌تواند نگه داشته شود که از این اجزا می‌توان به فیبرینوژن با وزن مولکولی ۳۴۰۰۰۰، HDL با وزن مولکولی ۴۰۰۰۰۰ و ایمونوگلوبولین (IgM) با وزن مولکولی ۹۰۰۰۰۰ دالتون اشاره کرد. با توجه به فاکتورهای ریسکی بیماری‌های قلبی و عروقی، کاهش فیبرینوژن می‌تواند مفید باشد اما کاهش کلاسترول HDL به‌عنوان فاکتور محافظ در برابر تصلب شریانی می‌تواند سبب بالا رفتن خطر بیماری شود [۱۵ و ۹]. شکل ۲ طرح‌واره عملکرد فرایند صافش آبشاری را نشان می‌دهد.

از غشاهای تجاری شده برای حذف LDL از پلاسمای خون می‌توان به غشای الیاف توخالی (Hollow Fiber) ساخت شرکت تری‌ام (3M) با نام تجاری SelectiCure 19 از جنس پلی‌اترسولفون، غشای ارائه‌شده توسط شرکت فرزنوس (Fresenius) با نام تجاری Monet از جنس پلی‌سولفون، غشای تولیدی شرکت مدیکا (Medica) ایتالیا با نام تجاری VersatileTM PES از جنس پلی‌اترسولفون و غشای ساخت شرکت آساهی (ASAHI KASEI) ژاپن با نام تجاری EC50W از جنس پلی‌اترسولفون اشاره کرد. سازوکار جداسازی LDL در این غشاها به روش صافش آبشاری است. به‌عنوان مثال غشای SelectiCure 19 تا حد زیادی قابلیت جداسازی LDL از پلازما را دارد؛ هرچند که این غشا مقدار HDL را نیز تا حدود ۵۰ درصد کاهش می‌دهد. شکل ۳، نمودار عملکرد این غشا را با معیار قرار دادن کلاسترول HDL، LDL، پروتئین آلبومین و ایمونوگلوبولین G(IgG) نشان می‌دهد [۱۷].



شکل ۱ ساختار کلاسترول LDL [۱۵].

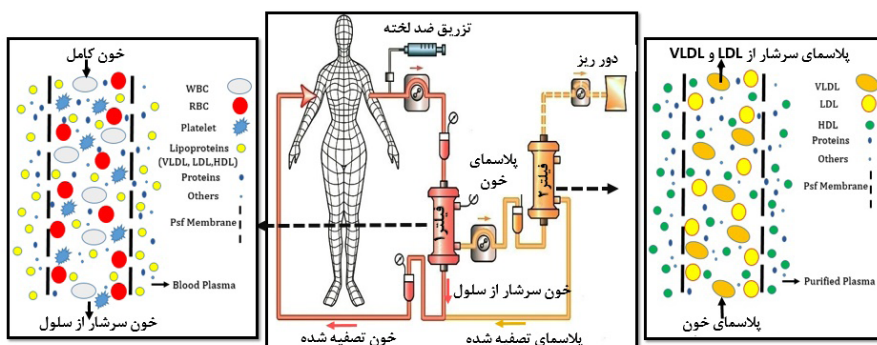
به VLDL اضافه می‌شود. IDL نیز تحت تأثیر لیپوپروتئین لیپاز مقداری از بار تری‌گلیسیریدی خود را از دست داده، به LDL تبدیل می‌شود. LDL حاوی ۲۲ درصد ApoB100، ۶ درصد تری‌گلیسیرید، ۲۲ درصد فسفولیپید، ۸ درصد کلاسترول آزاد و ۴۲ درصد استرکلاسترول است [۱۲]. حدود نصف LDL پلاسمای خون از طریق گیرنده‌های Apo B100 جذب سلول‌های کبد و نیمه دیگر به واسطه همین گیرنده جذب سایر سلول‌های بدن می‌شود. در مقایسه با سایر لیپوپروتئین‌ها، LDL دارای بیشترین میزان کلاسترول است. بنابراین با افزایش میزان ذرات LDL در پلازما، میزان کلاسترول و در نتیجه خطر ابتلا به تصلب شریانی افزایش می‌یابد [۱۳ و ۱۴]. شکل ۱ طرح‌واره ساختار LDL را نشان می‌دهد.

۴ انواع روش‌های جداسازی LDL

تاکنون شش روش مختلف جداسازی LDL توسعه پیدا کرده است که شامل: ۱- صافش آبشاری (Cascade Filtration)، ۲- جذب ایمنی (Immunoadsorption)، ۳- رسوب LDL با استفاده از تزریق هیپارین (HELP)، ۴- جذب LDL بر پایه سلولز دکستران‌سولفات، ۵- جذب مستقیم لیپوپروتئین از خون (Liposorber) و 6-Liposorber D است.

۴-۱ صافش آبشاری

صافش آبشاری یا جداسازی پلازما با دو صافی (Double Filtra-tion Plasmapheresis) توسط Agishi و همکاران در ژاپن توسعه پیدا کرده و اولین روش نیمه‌گزینش‌پذیر (Semi-selective) بوده که برای بیماران کلاسترول بالای ارثی به‌کار برده شده است. در این سامانه، ابتدا خون سیاهرگی خروجی از بدن بیمار به سمت صافی‌ای هدایت می‌شود که در آنجا سلول‌های خونی از پلاسمای خون جدا می‌شود. پلاسمای جدا شده به منظور حذف



شکل ۲ فرایند جداسازی کلسترول ال دی ال از پلاسما خون با روش صافش آبشاری.

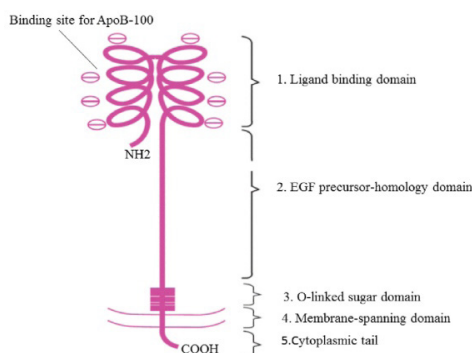
کلرومتیل دار کردن، اصلاح با پلاسما آمونیاک و اصلاح با پلی‌دی‌آمین و پلی‌اتیلین ایمین. گلیکوزیله کردن آنیونی غشا و استفاده از سدیم آلژینات سولفات اشاره کرد. هپارین به عنوان پلی ساکاریدی به شدت سولفاته از مستعدترین مواد برای اصلاح غشا برای کاربرد مورد اشاره محسوب می شود [۱۹ و ۲۰].

در تحقیقی که توسط Huang و همکاران صورت گرفت با اصلاح سطح غشای تخت پلی سولفون توسط هپارین موفق به جذب بالای LDL شدند. برای این منظور غشای پلی سولفون به روش جدایی فازی ساخته شد و سپس عملیات اصلاح بر روی غشا انجام گرفت. به منظور ایجاد اتصال شیمیایی هپارین بر روی غشا، ابتدا کلرومتیل دار کردن غشا صورت پذیرفت و در ادامه توسط غوطه‌وری در اتیلن‌دی‌آمین، گروه‌های آمینو بر روی سطح غشا متصل شد. پس از حضور گروه‌های آمینوی سطحی، اتصال هپارین بر روی سطح غشای آمین دار به کمک EDC/NHC انجام شد و در نهایت غشا با این روش هپارینه شد [۲۱ و ۲۸]. شکل ۵ طرح‌واره فرایند این روش را نشان می‌دهد [۸]. نتایج، حاکی از آن بوده که غشاهای هپارینه‌شده عملکرد مثبتی در جذب LDL و سپس احیای آن داشته‌اند. در پژوهشی دیگر که توسط Li و همکاران صورت گرفت،

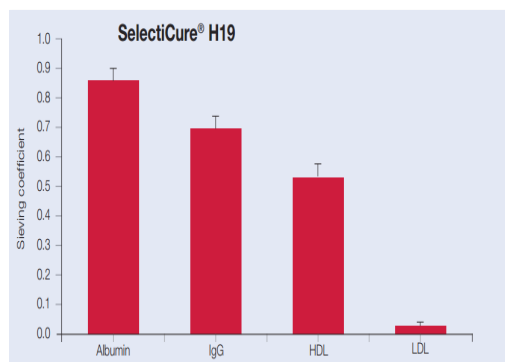
۴-۲ غشاهای جاذب LDL بر پایه پلی‌سولفون

گیرنده‌های ذاتی (LDL (Low Density Lipoprotein Receptor) وظیفه جداسازی LDL مازاد را از خون دارند. این گیرنده‌ها دارای ساختار الیگوساکاریدی و اتصالات اکسیژن و نیتروژن است و حاوی لیگاندهای باردار منفی برای برهم‌کنش با بخش‌های مثبت (Apo B100) مولکول LDL است. پلی‌اترسولفون و پلی‌سولفون از پلیمرهای محبوب در ساخت غشا در کاربردهایی نظیر همودیالیز [۱۸] و تصفیه خون هستند. اخیراً مطالعاتی بر روی غشاهای جاذب LDL بر اساس غشای صفحه‌ای بر پایه پلی‌سولفون صورت گرفته است. در این تحقیقات با الهام از ساختار LDLR از روش‌های اصلاح متفاوتی برای دستیابی به غشا با قابلیت مورد نظر استفاده شده است. گیرنده LDLR دارای لیگاند اتصال‌دهنده‌ای بوده که حاوی ۳۳۵۹ تا ۳۳۶۷ آمینواسید است. این لیگاند از آمینواسیدهایی با بار منفی تشکیل شده که در اثر برهم‌کنش الکترواستاتیک با Apo B100 که دارای بار مثبت است سبب جذب LDL می‌شود [۱۵]. طرح‌واره ساختار LDLR در شکل ۴ نشان داده شده است.

از کارهای صورت گرفته در این رابطه می‌توان به هپارینه کردن سطح غشای پلی‌سولفون با روش‌های مختلف همچون



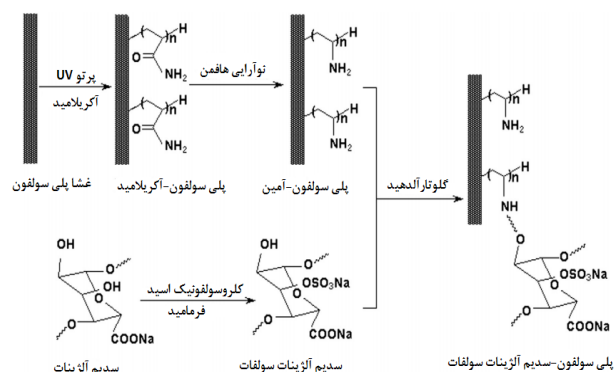
شکل ۴ طرح‌واره ساختار گیرنده ذاتی LDL [۱۵].



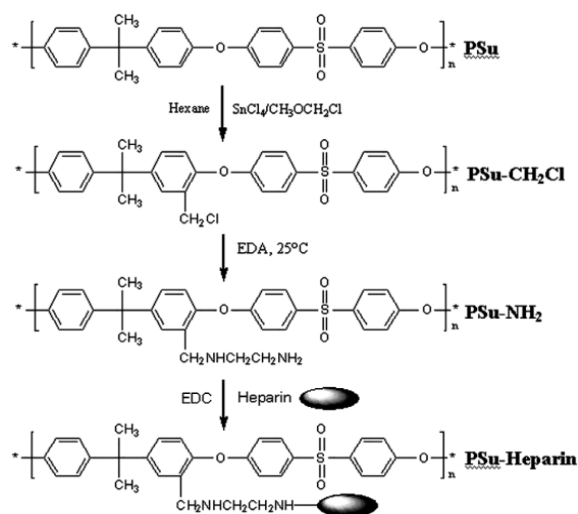
شکل ۳ نمودار عملکرد غشای تجاری Selecti Cure H19 [۱۷].

گرفته می شود [۲۱-۲۳]. فاکتور مهم دیگر در غشاهای جاذب LDL، احیای غشا از طریق دفع مواد جذب شده پس از صافش است. در واقع پس از عملیات جذب LDL بر روی غشا، غشای مذکور بایستی مجدداً احیا شده تا عملکرد غشا در طول انجام فرایند دستخوش تغییر قرار نگیرد. برای این منظور از محلول اوره یا محلول سدیم کلرید غلیظ استفاده می شود. در واقع سدیم کلرید از طریق دخالت در برهم کنش الکترواستاتیک و اوره از طریق شکستن پیوند هیدروژنی بین سطح غشا و مواد جذب شده سبب دفع LDL جذب شده، در نتیجه احیای غشا می شود [۲۴]. در مطالعه دیگری که توسط Wang و همکاران انجام گرفت، غشاهای مورد نظر ابتدا از طریق روش جدایش فازی ساخته شدند، سپس به منظور اتصال با سدیم آلزینات سولفات تحت فرایند اصلاح قرار گرفتند؛ به این صورت که ابتدا لایه ای آکریل آمیدی به کمک تشعشع UV بر روی سطح غشا متصل شده، سپس به منظور ایجاد گروه های آمینی بر روی سطح از طریق واکنش شیمیایی نوآرایی هافمن گروه های آمیدی به گروه های آمین تبدیل شد و در انتها سدیم آلزینات سولفات از طریق گروه های هیدروکسیل به گروه های آمینی موجود در سطح غشا پیوند زده شد. در این مرحله از گلو تار آلدهید به عنوان اتصال دهنده دو عاملی استفاده شد. سدیم آلزینات سولفات از طریق سولفات کردن سدیم آلزینات با کلروسولفونیک اسید در فرامید تهیه شد. شکل ۷ طرحواره فرایند اصلاح غشای پلی سولفون با سدیم آلزینات سولفات را نشان می دهد [۲۵].

غلظت سنجی LDL هم برای مرحله جذب و هم برای احیا با روش الایزا (ELISA) صورت گرفته است. این روش بر اساس چسبندگی پادتن و پادگن (Antigen) بر روی بستر مورد نظر عمل می کند. سازوکار عملکرد دستگاه خوانشگر الایزا بر اساس اندازه گیری چگالی نور (Optical Density) است. از طریق ایجاد



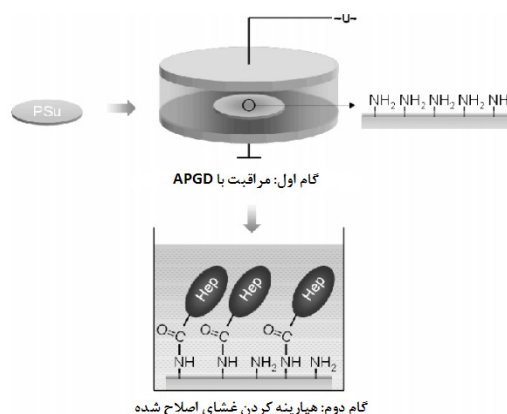
شکل ۷ فرایند اصلاح سطح غشای پلی سولفون با سدیم آلزینات سولفات [۲۵].



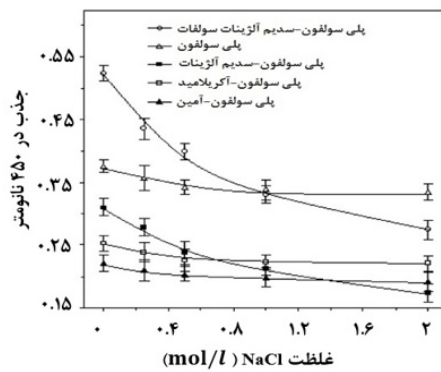
شکل ۵ طرحواره اصلاح غشای پلی سولفون [۸].

اصلاح سطح از طریق تخلیه تابشی در فشار اتمسفری (Atmospheric Pressure Glow Discharge (APGD)) انجام شد. در این سامانه از پلاسمای آمونیاک و آرگون، به ترتیب با نسبت ۵ به ۱ برای تولید گروه های آمینو بر روی سطح غشای پلی سولفون استفاده شد. همچنین به منظور جلوگیری از تخریب احتمالی غشا، نمونه ها فقط به مدت ۳۰ ثانیه در معرض پلاσμα قرار داده شد. پس از اصلاح سطح غشا با پلاسمای آمونیاک و تشکیل گروه های آمینو عملیات هیارینه کردن بر روی غشا انجام پذیرفت. شکل ۶ طرحواره فرایند شرح داده شده را نشان می دهد [۲۲].

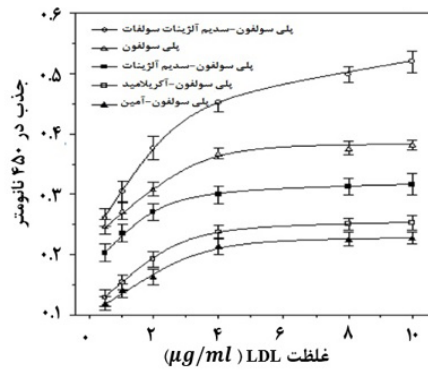
از روش هایی که برای صحت سنجی اصلاح سطح غشا در تحقیقات استفاده شده است، می توان به ATR-FTIR و XPS اشاره کرد، همچنین اندازه گیری زاویه تماس برای بررسی آبدوستی و پتانسیل زتا به منظور ارزیابی بار سطح نمونه به کار



شکل ۶ اصلاح غشای پلی سولفون با پلاسمای آمونیاک [۲۲].



(ب)



(الف)

شکل ۸ نتایج الف) جذب و ب) دفع LDL بر روی غشاهای اصلاح شده [۲۵].

با زاویه تماس آب ۱۹، آب دوستی بسیار بالاتری در مقایسه با غشای پلی سولفون اصلاح نشده دارد (شکل ۱۰-د).

۲-۲-۴ هپارینه کردن سطح غشای پلی سولفون از طریق رسوب پلی دپامین-پلی اتیلن ایمین

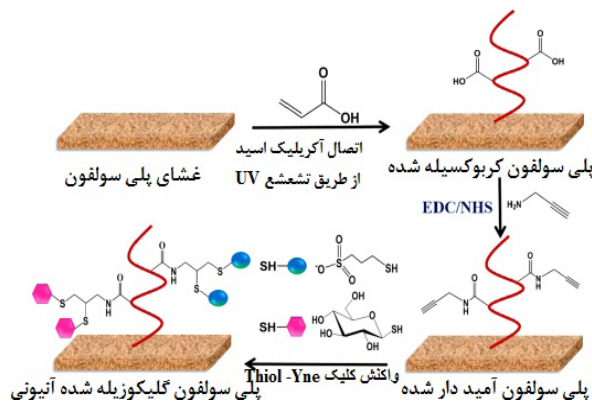
در مطالعه دیگر به منظور هپارینه کردن غشای پلی سولفون، در ابتدا پلی دپامین و پلی اتیلن ایمین در محیط بازی ضعیف بر روی سطح غشای پلی سولفون رسوب داده شده و سپس از طریق واکنش آمینو کربونیل، هپارین به سطح غشای پلی سولفون آمین دار شده با استفاده از EDC/NHS متصل شد. نتایج نشان داد که غشای اصلاح شده با هپارین با این روش دارای زاویه تماس ۴۲ بوده، از آب دوستی بالایی در مقایسه با غشاهای اصلاح نشده پلی سولفون و غشای عامل دار شده با پلی دپامین و پلی اتراپامین دارد (شکل ۱۱-الف). همچنین نتایج آزمون پتانسیل زتا (شکل ۱۱-ب) مشخص کرد که در pH خنثی، بار الکتریکی غشای پلی سولفون از منفی ۵۰ میلی ولت به ۳۰ میلی ولت پس از

تغییر رنگ به کمک واکنش گره های مخصوص الایزا، نتیجه مشخص می شود. در مورد غشاهای این دسته، علاوه بر توانایی بالا در جذب LDL بایستی سرعت بالایی هم در دفع LDL در فرایند احیای غشا داشته باشد. در شکل ۸ نتایج جذب و احیای غشای پلی سولفون اصلاح شده با سدیم آکریلات سولفات نشان داده شده است [۲۵]. بررسی غلظت LDL در مرحله دفع غشا به مانند مرحله جذب بوده با این تفاوت که قبل از انجام غلظت سنجی، نمونه های غشایی در محلول سدیم کلرید با غلظت های مختلف شستشو داده شدند.

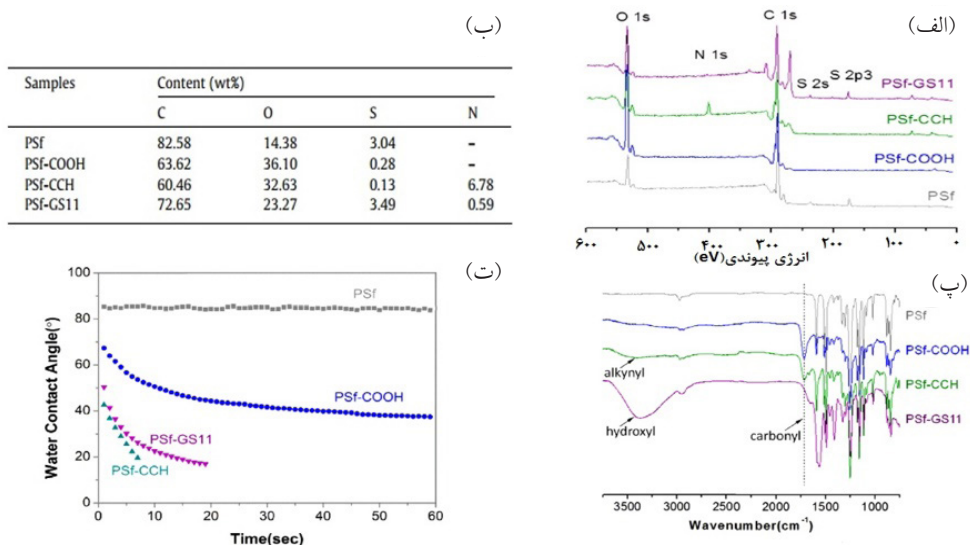
۴-۲-۱ جذب LDL از پلاسمای خون از طریق گلیکوزیله کردن سطح غشای پلی سولفون

در روش Fang و همکاران به منظور گلیکوزیله کردن آنیونی غشای پلی سولفون، اکریلیک اسید با پرتو UV به سطح غشا متصل و غشا کربوکسیله شد (PSf-COOH). در ادامه از طریق واکنش غشای کربوکسیله شده مرحله قبل با EDC/NHS، غشای آمید دار شده (PSf-CCH) به دست آمد. در نهایت با بهره گیری از روش شیمی کلیک، سطح غشای پلی سولفون، گلیکوزیله و سولفونه (PSf-GS) شد. شکل ۹ طرحواره فرایند اصلاح را نشان می دهد [۲۶].

نتایج آزمون XPS و ATR-FTIR صحت فرایند اصلاح را تأیید کرد و همان گونه که از شکل ۱۰-الف و ب مشخص شده است نتایج آزمون XPS به خوبی افزایش درصد میزان گوگرد را برای غشای اصلاح شده با هپارین تأیید می کند. همچنین نتایج آزمون ATR-FTIR (شکل ۱۰-ج) در پی ناپدید شدن قله گروه کربونیل و مشاهده قله های هیدروکسیل و گروه سولفونه صحت فرایند اصلاح را تأیید می کند. نتیجه آزمون اندازه گیری زاویه تماس به خوبی نشان می دهد که غشای اصلاح شده با هپارین



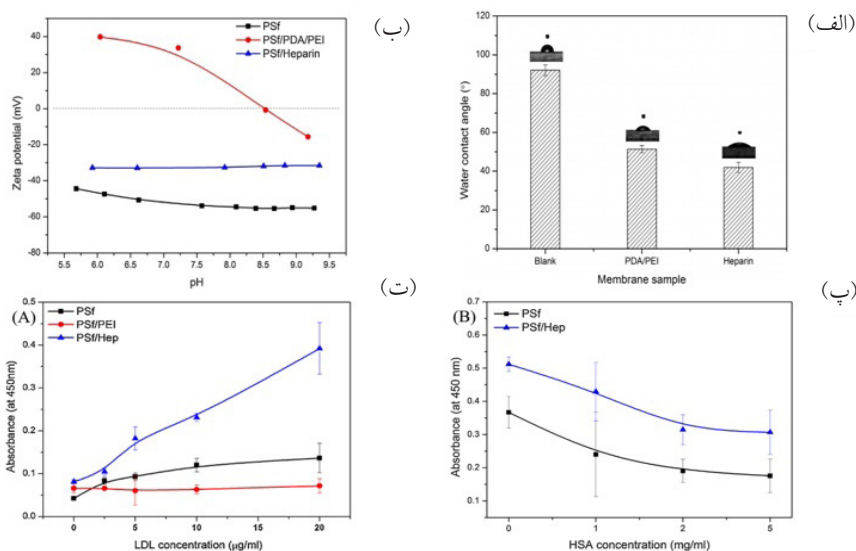
شکل ۹ طرحواره اصلاح غشای پلی سولفون [۲۶].



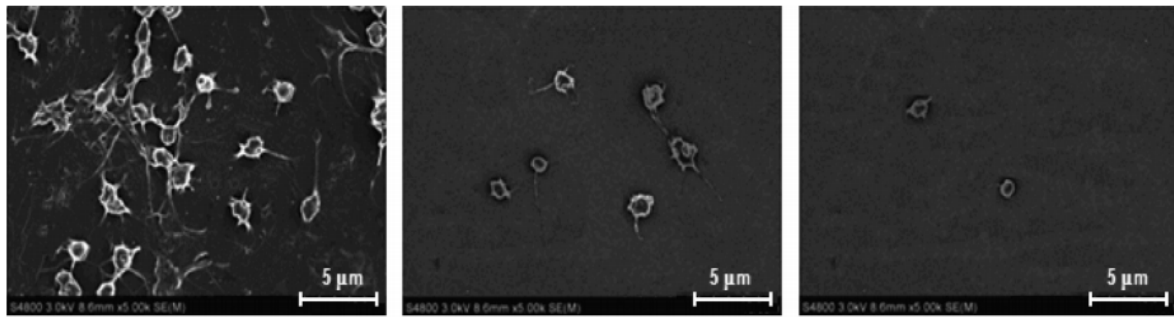
شکل ۱۰ نتایج آزمون غشاهای اصلاح شده الف و ب) نتایج آزمون XPS، پ) نتیجه آزمون FTIR و ت) نتیجه آزمون زاویه تماس [۲۶].

LDL مربوط به غشای پلی سولفون هپارینه شده است. همچنین نکته قابل توجه در این مطالعه این بوده است که با افزایش میزان غلظت LDL در خوراک مورد نظر، قابلیت غشای هپارینه شده برای جذب LDL بیشتر بوده است. همچنین عملکرد رقابتی غشا هنگامی که در خوراک مورد نظر از ترکیب LDL و آلبومین انسانی (HSA) استفاده شده مورد بررسی قرار گرفت و

اصلاح با پلی دیامین و پلی اترامین تغییر کرد و در ادامه پس از هپارینه کردن غشا، میزان بارالکتریکی به منفی ۳۳ میلی ولت کاهش پیدا کرد که از این طریق صحت فرایند هپارینه کردن غشای پلی سولفون تأیید شد. همچنین در شکل ۱۱ نتایج عملکرد غشا در جذب LDL نشان داده شده است. همان گونه که از شکل ۱۱-ج مشخص شده است، بالاترین میزان جذب



شکل ۱۱ نتایج آزمون های الف) آبدوستی ب) پتانسیل زتا پ) جذب LDL در غلظت های متغییر پروتئین آلبومین ت) جذب LDL در غلظت های متغییر LDL بر روی غشای پلی سولفون (PSf)، پلی سولفون اصلاح شده با پلی دیامین و پلی اتیلن ایمین (PSf/PDA/PEI) و پلی سولفون هپارینه شده (PSf/Heparin) [۲۷].



شکل ۱۲ نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از چسبندگی پلاکت بر روی نمونه‌های پلی‌سولفون و پلی‌سولفون اصلاح‌شده با آکریل‌آمید و پلی‌سولفون اصلاح‌شده با سدیم‌آلژینات‌سولفات [۲۸].

به‌طورکلی پنج حالت برای فعال شدن پلاکت در نظر گرفته می‌شود (شکل ۱۳). در بهترین حالت پلاکت در حالت گرد (R) و کروی قرار دارد و فرایند فعال شدن به‌ترتیب با شاخه‌دار شدن (D)، شاخه‌دار پراکنده (SD)، در حال پخش (S) و پخش کامل (FS) پیش می‌رود که در بحث خون‌سازگاری، حالت اخیر بدترین حالت ممکن است که گویای فعال شدن پلاکت و انعقاد خون است [۳ و ۲۹].

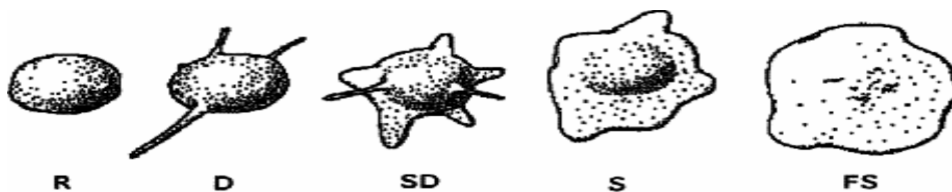
۶ نتیجه‌گیری

با توجه به آمار بالای مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های قلبی و عروقی که عمدتاً به‌دلیل بیماری‌های تصلب شرایین و عروق کرونری است که آن هم اغلب به دلیل تجمع لیپوپروتئین‌هایی از قبیل LDL در جداره عروق به وجود می‌آید، تلاش در جهت به حداقل رساندن این معضل بزرگ بسیار پراهمیت است. همان‌طور که در متن اشاره شد، روش‌های جداسازی LDL از خون بر مبنای صافش و جذب است. اخیراً فرایندهای غشایی بر پایه پلیمرهایی چون پلی‌سولفون و پلی‌اتر سولفون مورد توجه فرایندهای جداسازی LDL نیز قرار گرفته‌اند. این پلیمرها پیش از این در بخش‌های دیالیز و هموفریوژن به کار برده می‌شده‌اند. در رویکرد جذب، با ساخت غشاهای جاذب از طریق اصلاح سطح غشا، در راستای جداسازی LDL گام برداشته می‌شود. با

مشخص شد اگرچه با افزایش میزان پروتئین آلبومین در خوراک مورد نظر، میزان جذب LDL پایین می‌آید اما همچنان غشای پلی‌سولفون هپارینه‌شده توانمندی جذب LDL بالاتری نسبت به غشای پلی‌سولفون اصلاح‌نشده دارد (شکل ۱۱-د) [۲۷].

۵ خون‌سازگاری غشا

فاکتور دیگری که در جداسازی LDL به کمک فرایندهای غشایی مورد اهمیت است، بحث خون‌سازگاری غشای مربوطه است. آزمون‌های خون‌سازگاری متنوعی از جمله اندازه‌گیری زمان ترومبین (PT)، زمان نسبی ترومبوپلاستین (PPT)، چسبندگی پلاکت و فعالیت کالیکرئین وجود دارند. چسبندگی پلاکت از معمول‌ترین روش‌ها در بررسی خون‌سازگاری غشای پلیمری محسوب می‌شود. به‌عنوان مثال در تحقیق اخیر که اصلاح سطح غشای پلی‌سولفون به کمک سدیم‌آلژینات‌سولفات صورت پذیرفت، بررسی چسبندگی پلاکت توسط SEM مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در شکل ۱۲ نشان داده شده است [۲۸]. همان‌طور که در شکل ۱۲ مشخص است نمونه پلی‌سولفون اصلاح‌نشده بیشترین میزان چسبندگی پلاکت و فعال شدن آن را دارد و غشای اصلاح‌شده با سدیم‌آلژینات سولفات با چسبندگی و فعالیت پلاکت بسیار کمتری مواجه شده است. از بررسی مورفولوژی پلاکت‌ها می‌توان به فعالیت آن‌ها پی برد.



شکل ۱۳ مراحل فعال شدن پلاکت در مسیر انعقاد [۳ و ۲۹].

تشکر و قدردانی

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته از طرح شماره «۴۰۰۱۲۴۴» انجام شده است.

توجه به کارا بودن جداسازی LDL به‌خصوص برای بیمارانی که از کلسترول بالای ارثی رنج می‌برند، توسعه فرایندهای ساده‌تر و کاراتر از ضروریات فرایند جداسازی LDL محسوب می‌شود.

مراجع

1. Cai A., Li L., Zhang Y., Mo Y., Mai W., and Zhou Y., Lipoprotein (a): A Promising Marker for Residual Cardiovascular Risk Assessment, *Diseases Markers*, 35, 551-559, **2013**.
2. National Institute of Health, <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/blood.html>, Available in September **2021**.
3. Dehghan R. and Koosha M., Specification of Polyurethane as Prosthetic Heart Valve, *Polymerization*, 5, 48-60, **2015**.
4. Marinetti G.V., Disorders of Lipid Metabolism, New York, *Springer Science & Business Media*, 89-95, **2012**.
5. De Castro-Orós I., Pocoví M., and Civeira F., The Genetic Basis of Familial Hypercholesterolemia: Inheritance, Linkage, and Mutations, *The Application of Clinical Genetics*, 3, 53-54, **2010**.
6. Yang C. Y., Chen S. H., Gianturco S. H., Bradley W. A., Sparrow J. T., Tanimura M., Li W. H., Sparrow D. A., Deloof H., Rosseneu M., and Lee F.S., Sequence, Structure, Receptor-Binding Domains and Internal Repeats of Human Apolipoprotein B-100, *Nature*, 323, 738-742, **1986**.
7. Fox K.M., Gandhi S.K., Bullano M.F., Ohsfeldt R.L., and Davidson M.H., Low-Density Lipoprotein Levels and Dyslipidemia Treatment in Patients Diagnosed with Atherosclerosis, *In Circulation*, 117, E425-E426, **2008**.
8. Huang X.J., Guduru D., Xu Z.K., Vienken J., and Groth T., Immobilization of Heparin on Polysulfone Surface for Selective Adsorption of Low-Density Lipoprotein (LDL), *Acta Biomaterialia*, 6, 1099-1106, **2010**.
9. Duell P.B., Low-Density Lipoprotein (LDL) Apheresis, Dyslipidemias, New York, Humana Press, **2015**.
10. Hudgins L.C., Gordon B.R., Parker T.S., Saal S.D., Levine D.M., and Rubin A.L., LDL Apheresis: An effective and Safe Treatment for Refractory hypercholesterolemia, *Cardiovascular Drug Reviews*, 20, 271-280, **2002**.
11. Encyclopedia Britannica, Low density lipoprotein physiology, <https://www.britannica.com/science/low-density-lipoprotein>, Available in June, **2021**.
12. Orlova E.V., Sherman M.B., Chiu W., Mowri H., Smith L.C., and Gotto A.M., Three-Dimensional Structure of Low Density Lipoproteins by Electron Cryomicroscopy, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 8420-8425, **1999**.
13. Moffatt R.J. and Stamford B., Lipid Metabolism and Health. CRC Press, **2005**.
14. Camacho P., Clinical Endocrinology and Metabolism, Manson publishing, Maywood Illions, USA , 171-173, **2011**.
15. Harisa G.I., and Alanazi F.K., Low Density Lipoprotein Bionanoparticles: From Cholesterol Transport to Delivery of Anti-Cancer Drugs, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 22, 504-515, **2014**.
16. Bambauer R., Bambauer C., Lehmann B., Latza R., and Schiel R., LDL-Apheresis: Technical and Clinical Aspects, *The Scientific World Journal*, **2012**.
17. Selecti cure H19 Cascade Filter, www.membrana.com, Available in May, **2020**.
18. Borberg H., Results of An Open, Longitudinal Multicenter LDL-Apheresis Trial, *Transfusion Science*, 20, 83-94, **1999**.
19. Bambauer R., Schiel R., Latza R., Current Topics on Low-Density Lipoprotein Apheresis Methods, *Therapeutic Apheresis*, 5, 293-300, **2001**.
20. Seidel D., Wieland H., Ein Neues Verfahren zur Selektiven Messung und Extrakorporalen Elimination von Low-Density Lipoproteinen, *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 20, 684. **1982**.
21. Bambauer R., Olbricht C.J., and Schoeppe E., Low-Density Lipoprotein Apheresis for Prevention and Regression of Atherosclerosis: Clinical Results, *Therapeutic Apheresis*, 1, 242-248, **1997**.
22. Bosch T., Lennertz A., Schmidt B., Fink E., Keller C., DALI Apheresis in Hyperlipidemic Patients: Biocompatibility, Efficacy, and Selectivity of Direct Adsorption of Lipoprotein from Whole Blood, *Artificial Organs*, 24, 81-90, **2000**.
23. Barzin J., Feng C., Khulbe K.C., Matsuura T., Madaeni S.S., and Mirzadeh H., Characterization of Polyethersulfone Hemodialysis Membrane by Ultrafiltration and Atomic Force Microscopy, *Journal of Membrane Science*, 237, 77-85. **2004**.
24. Fang F., Zhu X.Y., Chen C., Li.J., Chen D.J., and Huang X.J., Anionic Glycosylated Polysulfone Membranes for the Affinity Adsorption of Low-Density Lipoprotein via Click Reactions, *Acta biomaterialia*, 49, 379-387, **2017**.
25. Wang L., Fang F., Liu Y., Li J., and Huang X., Facile Preparation of Heparinized Polysulfone Membrane Assisted by Polydopamine/Polyethyleneimine Co-deposition for Simultaneous LDL Selectivity and Biocompatibility, *Applied Surface Science*, 385, 308-317, **2016**.
26. Huang X.J., Guduru D., Xu Z.K., Vienken J., and Groth T., Blood Compatibility and Permeability of Heparin-Modified Polysulfone as Potential Membrane for Simultaneous Hemodialysis and LDL Removal, *Macromolecular Bioscience*, 11,

131-140, **2011**.

27. Li J., Huang X.J., Ji J., Lan P., Vienken J., Groth T., and Xu Z.K., Covalent Heparin Modification of a Polysulfone Flat Sheet Membrane for Selective Removal of Low-Density Lipoproteins: A Simple and Versatile Method, *Macromolecular Bioscience*, 11, 1218-1226, **2011**.

28. Wang W., Huang X.J., Cao J.D., Lan P., and Wu W., Immo-

bilization of Sodium Alginate Sulfates on Polysulfone Ultrafiltration Membranes for Selective Adsorption of Low-Density Lipoprotein, *Acta Biomaterialia*, 10, 234-243, **2014**.

29. Aksoy E.A., Synthesis and Surface Modification Studies of Biomedical Polyurethanes to Improve Long-term Biocompatibility, Ph.D Thesis, Middle East Technical University, **2008**.

