

مقایسه کارکرد آنالیتیک دو روش مستقیم و محاسباتی سنجش میزان LDL در تشخیص و طبقه‌بندی هایپرکلسترولمی

روناک نعلینی*^۱، ایرج حیدری^۱، محمد علی بهار^۲

چکیده

مقدمه: هدف از این مطالعه، بررسی ویژگی‌های کارکرد آنالیتیک دو روش مستقیم و محاسبه‌ای سنجش میزان LDL و مقایسه دو روش از نظر تاثیر بر طبقه‌بندی در تشخیص هایپرکلسترولمی است.

روش‌ها: تعداد ۳۵۲ نفر از مراجعه کنندگان به یکی از آزمایشگاه‌های تهران به صورت پی در پی وارد مطالعه شدند. داده‌های جمعیت شناختی و خصوصیات بالینی و عوامل خطر بیماری‌های کرونر با یک پرسشنامه جمع‌آوری شدند. یک نمونه خون ناشتا از شرکت کنندگان تهیه و سرم آن جداسازی و فریز شد. همه نمونه‌ها در یک روز از نظر میزان کلسترول تام، لیپوپروتئین با تراکم بالا و میزان تری‌گلیسرید (TG) به روش آنزیمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان لیپوپروتئین با تراکم پایین (LDL) به دو روش محاسبه‌ای فریدوالد و روش مستقیم هموزن مورد سنجش قرار گرفت. برای مقایسه کارکرد آنالیتیک دو روش از تحلیل رگرسیونی و منحنی بلاند-آلمن استفاده شد.

یافته‌ها: مقدار LDL سنجش شده با دو روش ارتباط قوی و معنی‌داری داشت ($r=0.95$). روش محاسباتی دارای سوگیری مثبت نسبت به روش مستقیم بود که این سوگیری در سطوح بالاتر TG واضح‌تر بود. عملکرد روش محاسباتی در طبقه‌بندی بیماران بر اساس معیارهای NCEP-ATP-III به ویژه در افراد دارای عوامل خطر بیشتر، بهتر از روش مستقیم بود. **نتیجه‌گیری:** در این مطالعه روش مستقیم سنجش LDL برتری خاصی در مقایسه با روش محاسباتی نداشت. تا زمانی که روش‌های مستقیم دقیق‌تری در دسترس قرار بگیرند، استفاده از روش‌های مستقیم باید با احتیاط بیشتری انجام شود.

واژگان کلیدی: بیماری کرونری قلب، روش‌های آزمایشگاهی بالینی، لیپوپروتئین با تراکم پایین (LDL)، هایپرکلسترولمی

۱- گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۲- گروه ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

***نشانی:** تهران، خیابان ولیعصر، خیابان به‌آفرین، بیمارستان فیروزگر، گروه داخلی انستیتو غدد، کد پستی ۱۵۹۳۷۴۸۷۱۱، تلفن همراه ۰۹۱۲۴۱۳۵۲۸۴، نمابر ۵-۸۸۹۴۲۶۶۱، پست الکترونیک: ronakn2000@yahoo.com

مقدمه

رابطه بین میزان کلسترول خون و خطر بروز بیماری‌های کرونر قلب در مطالعات زیادی از جمله مطالعه معروف فرامینگهام به اثبات رسیده است. عمده کلسترول در جریان خون به صورت لیپوپروتئین با تراکم پایین (LDL) است که در بسیاری از مطالعات آینده‌نگر و نیز کارآزمایی‌های بالینی به عنوان یکی از علل اصلی ایجاد آترواسکلروز شناخته شده است [۱،۲]. به همین دلیل سومین پانل خبرگان برنامه ملی آموزش کلسترول در شناسایی، ارزیابی و درمان افزایش کلسترول خون در بزرگسالان (NCEP-ATP III)، بر کاهش کلسترول LDL به عنوان هدف اولیه پیشگیری از بیماری‌های قلبی تاکید می‌کنند. بنابراین یکی از مسائلی که می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای در شناسایی بیماران نیازمند درمان داشته باشد، دقت و صحت اندازه‌گیری LDL است [۱].

روش استاندارد اندازه‌گیری LDL، روش کمی سازی بتا است که در این روش از اولتراسانتریفوژ و رسوب دادن برای سنجش استفاده می‌شود اما این روش بسیار وقت‌گیر و پرهزینه است و امکان استفاده از آن در سنجش‌های معمول LDL وجود ندارد [۳]. روش دیگر، استفاده از روش محاسباتی فریدوالد است که بر مبنای معادله $LDL = Total\ Cholesterol - (HDL + TG/5)$ و با استفاده از میزان کلسترول تام، میزان HDL و میزان تری‌گلیسرید به صورت تخمینی، میزان LDL را (بر حسب میلی‌گرم در لیتر) محاسبه می‌نماید [۴]. این روش در واقع برای مطالعات اپیدمیولوژیک پیشنهاد شده بود اما خیلی زود و به دلایل اقتصادی و سهولت انجام آن به عنوان روش انتخابی در آزمایشگاه‌های بالینی معرفی شد [۵]. اما این روش محدودیت‌های متعددی دارد که مهمترین آنها نیاز به نمونه خون ناشتا، عدم دقت در بیماران دارای تری‌گلیسرید بالا ($TG \geq 400$) و بیماران مبتلا به نوع III هیپرلیپوپروتئینمی یا دیس بتا لیپوپروتئینمی است [۴]. علاوه بر این استفاده از فرمول فریدوالد در بیماران دیابتی، بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی و بیماران مبتلا به نارسایی کبد و زنان تحت درمان با درمان هورمون جایگزین (HRT) نیز خالی از اشکال نیست [۶-۱۰]. با توجه به همین محدودیت‌ها، پانل NCEP-ATPIII توصیه

می‌کند که روشی قابل اعتماد برای اندازه‌گیری مستقیم LDL شناسایی شود [۴].

روش‌های مستقیم هموژن برای سنجش LDL از اواخر دهه ۱۹۹۰ در دسترس قرار گرفتند. در این روش‌ها از دترجنت‌ها و مواد شیمیایی مختلف استفاده می‌شود که باعث بلوک و یا حل شدن لیپوپروتئین‌ها می‌شوند و امکان اندازه‌گیری LDL-C را به صورت ویژه فراهم می‌کنند. در این روش‌ها کلسترول موجود در LDL به صورت آنزیماتیک و یا ایمونولوژیک اندازه‌گیری می‌شود و قابلیت اتوماسیون کامل دارند [۴]. این روش‌ها بنا به نظر تولید کنندگان آنها محدودیت‌های روش محاسباتی را ندارند و معیارهای مورد نظر پانل خبرگان NCEP را نیز تامین می‌کنند. اما هزینه این روش‌ها بالاست و در مطالعات مختلف نتایج متفاوتی پیرامون عملکرد آنالیتیک آنها در مقایسه با روش محاسباتی به دست آمده است [۴]. هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های کارکرد آنالیتیک دو روش مستقیم و محاسبه‌ای سنجش میزان LDL و مقایسه دو روش از نظر تأثیر بر طبقه‌بندی در تشخیص هایپر کلسترولمی در نمونه‌ای از جمعیت ایرانی است.

روش‌ها

نمونه‌های این پژوهش از بین مراجعین به یک آزمایشگاه تشخیص طبی معمولی در تهران انتخاب شدند. نمونه‌گیری به صورت پی در پی انجام شد. معیار ورود به مطالعه سن بالای ۱۸ سال و حالت ناشتا حداقل به مدت ۱۲ ساعت بود. کلیه نمونه‌ها پس از اخذ رضایت آگاهانه وارد پژوهش شدند. داده‌های جمعیت شناختی و بالینی در بخش پذیرش آزمایشگاه و توسط یک کارشناس آموزش دیده با استفاده از یک پرسشنامه جمع‌آوری گردید. داده‌های جمعیت شناختی شامل سن، جنس، تحصیلات و شغل بود. داده‌های بالینی بر مبنای عوامل خطر بیماری‌های کرونر و بر اساس معیارهای پانل خبرگان شماره III درمان بزرگسالان از برنامه ملی برای آموزش کلسترول (NCEP-ATP-III) تعیین شد و شامل ابتلا به دیابت، ابتلا به فشار خون (سابقه مصرف داروهای ضد فشارخون یا تشخیص فشارخون بر مبنای اندازه‌گیری میزان فشار سیستولی یا دیاستولی)، سابقه

یافته‌ها

در مجموع ۳۵۲ بیمار وارد مطالعه شدند. میانگین سنی بیماران 50 ± 15 بود. سایر خصوصیات دموگرافیک بیماران در جدول ۱ ذکر شده است.

هدف از جمع‌آوری این داده‌ها، تعیین عوامل خطر مورد نظر پانل خبرگان NCEP برای درمان هیپرکلسترولمی در بزرگسالان (ATP-III) بود. فراوانی این خصوصیات بالینی در جدول ۲ ذکر شده است.

تعداد ۱۶۴ نفر (46.6%) از بیماران یا داروی ضد فشار خون مصرف می‌کردند و یا فشار خون بالاتر یا مساوی $140/90$ میلی‌متر جیوه داشتند. میانگین و انحراف معیار فشار خون سیستولیک و دیاستولیک بیماران مورد بررسی به ترتیب عبارت بود از $123/03 \pm 18/54$ mmHg و $79/85 \pm 11/51$ mmHg.

میانگین و انحراف معیار تعداد نخ سیگار مصرفی در روز $6/58 \pm 17/65$ و تعداد سال‌های مصرف سیگار $21/41 \pm 14/05$ بود. میانگین و انحراف معیار تعداد عوامل خطر مازور (غیر از LDL-C) طبق تقسیم‌بندی پانل خبرگان NCEP برابر با $1/7 \pm 0/8$ بود. تعداد و فراوانی افرادی بر مبنای تقسیم‌بندی گروه‌های خطر تدوین شده توسط پانل خبرگان NCEP در جدول ۳ ذکر شده است.

۱۳ نفر از بیماران که دارای تری‌گلیسرید بالاتر از 400 mg/dl بودند برای این قسمت از تحلیل‌ها از مطالعه کنار گذاشته شدند. علت این موضوع نیز عدم دقت روش فریدوالد در تری‌گلیسریدهای بالای 400 بود. کمینه، بیشینه، میانگین و انحراف معیار مقادیر لیپیدهای سرم بیماران در جدول ۴ ذکر شده است.

میانگین تفاوت مطلق بین کلسترول LDL به روش محاسباتی فریدوالد (C-LDL) و کلسترول LDL به روش مستقیم (D-LDL) برابر با $15/87 \pm 4/25$ بود. میانگین تفاوت مطلق این دو روش بر اساس مقادیر مختلف TG در جدول ۵ ذکر شده است. مقایسه این میانگین‌ها با استفاده از تحلیل واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تفاوت در مقادیر C-LDL و D-LDL در مقادیر مختلف تری‌گلیسرید وجود دارد ($P < 0/0001$). آنالیز متعاقب Post Hoc Analysis با تست شفه نشان داد که این تفاوت‌ها در

ابتلا به هایپرلیپیدمی، سابقه خانوادگی بیماری کرونر (منسوب درجه اول مرد با سن کمتر از ۵۵ سال و زن با سن کمتر از ۶۵ سال)، سابقه بیماری‌های دیگر مانند آنوریسم آئورت، بیماری عروق محیطی و بیماری عروق مغزی، نارسایی کلیوی، نارسایی کبدی و سابقه مصرف سیگار بود.

از هر فرد یک نمونه خون (حدود ۱۰ میلی‌لیتر) گرفته و در شرایط استاندارد سرم آن جدا شد و در لوله آزمایشی که کد بیمار روی آن ثبت شده و دارای درپوش پلاستیکی بود، جمع‌آوری شد. لوله‌های آزمایش به فریزر منتقل و تا زمان سنجش نهایی نگهداری شد. سنجش لیپیدهای سرم برای حذف اثر خطای اندازه‌گیری معمول آزمایشگاه‌ها و نیز خطای ابزار پس از جمع‌آوری همه نمونه‌ها در یک آزمایشگاه و توسط یک تکنیسین مجرب آزمایشگاه و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور هیتاچی مدل ۷۱۷ انجام شد. همه نمونه‌ها در یک روز از نظر میزان کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با تراکم بالا (HDL) و میزان تری‌گلیسرید (TG) به روش آنزیمی و با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور هیتاچی مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان لیپوپروتئین با تراکم پایین (LDL) به دو روش محاسبه‌ای فریدوالد و روش مستقیم هموژن مورد سنجش قرار گرفت. نمونه‌های دارای تری‌گلیسرید بالاتر از 400 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر از مطالعه کنار گذاشته شدند.

کارکرد آنالیتیک دو روش با هم مقایسه شد. تفاوت میزان LDL سنجش شده با دو روش مستقیم و محاسباتی بر حسب مقادیر مختلف تری‌گلیسرید مقایسه گردید. همچنین فراوانی گروه‌های خطر بر مبنای اهداف درمانی تعیین شده توسط پانل خبرگان NCEP-ATPIII برای دو روش مستقیم و محاسباتی تعیین و با هم مقایسه گردید.

برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون‌های آماری t-test و ANOVA استفاده شد. برای ارزیابی همبستگی بین دو روش اندازه‌گیری LDL از تحلیل رگرسیون خطی و برای مقایسه کارکرد آنالیتیک دو روش از منحنی رگرسیون و پلات تفاوت بلاند-آلمن استفاده شد. کلیه تحلیل‌های آماری با استفاده از نگارش ۱۶ نرم افزار SPSS انجام شد.

برای بررسی رابطه بین مقادیر C-LDL و D-LDL از تحلیل رگرسیونی استفاده شد. این بررسی نشان داد ارتباط قوی بین این دو وجود دارد ($P < ۰/۰۰۰۱$ ، $r = ۰/۹۵$ ، $t = ۲۶/۱۵ - ۰/۹۵ C-LDL = D-LDL$). شکل ۲ منحنی ارتباط بین مقادیر C-LDL و D-LDL را نشان می‌دهد. میانگین و انحراف معیار مقدار LDL با روش مستقیم و محاسباتی در افراد مبتلا دیابت به ترتیب برابر $۴۰/۸۳ \pm$ و $۱۱۳/۹۹$ و $۵۳/۳۷ \pm$ و $۱۱۸/۰۳$ و در افراد غیر مبتلا به دیابت $۲۹/۳۱ \pm$ و $۱۱۳/۳۹$ و $۳۹/۰۷ \pm$ و $۱۱۶/۷۶$ بود. مقایسه آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین افراد مبتلا به دیابت و افراد غیر مبتلا وجود نداشت. همچنین تفاوت معنی‌داری بین زنان و مردان، در میزان LDL اندازه‌گیری شده توسط روش مستقیم و روش محاسباتی وجود نداشت. رابطه‌ای بین تفاوت مقادیر C-LDL و D-LDL و سن افراد مشاهده نشد. برای مقایسه دقیق‌تر تاثیر روش اندازه‌گیری LDL روی تقسیم‌بندی بیماران بر مبنای پانل خبرگان NCEP و به تبع آن تصمیم‌گیری درمانی، تعداد و درصد افرادی که در گروه‌های ریسک متفاوت بر اساس دو روش اندازه‌گیری قرار می‌گیرند مشخص شد که در جدول ۶ نمایش داده شده است.

مقایسه دو به دو مقادیر مختلف تری‌گلیسرید تنها مربوط به مقادیر تری‌گلیسرید بالاتر از ۲۰۰ است. برای تعیین رابطه بین مقدار تری‌گلیسرید و LDL اندازه‌گیری شده با دو روش محاسباتی و مستقیم از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. ضریب همبستگی پیرسون برای D-LDL برابر $۰/۳۸$ ($P < ۰/۰۰۰۱$) و برای C-LDL معادل $۰/۱۹$ ($P < ۰/۰۰۰۱$) بود. همچنین برای مقایسه دو روش مستقیم و محاسباتی از روشی که به ویژه در مقایسه دو روش در بیوشیمی بالینی رایج است نیز استفاده شد. در این روش از پلات تفاوت بلاند-آلتمن (Bland-Altman Difference Plat) استفاده شد. برای ترسیم این پلات میانگین تفاوت دو روش در محور Y و میانگین مجموع دو روش در محور X قرار می‌گیرد و به این ترتیب میزان سوگیری (Bias) دو روش نسبت به یکدیگر مشخص می‌شود. نتایج نشان داد که میزان سوگیری (یا تفاوت) بین دو روش $۱۵/۸۷ \pm ۴/۲۵ -$ است و با میانگین $۴/۸۸ -$ در یک گستره بین $۳۵/۳۴ -$ تا $۲۵/۳۸$ قرار می‌گیرد (شکل ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های دموگرافیک نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران ($n = ۳۵۲$)

متغیر	تعداد	درصد
جنسیت		
مرد	۱۲۷	۳۶
زن	۲۲۵	۶۴
تحصیلات		
بی سواد	۲۲	۶/۲۵
ابتدایی	۱۱۳	۳۲/۱
راهنمایی	۶۲	۱۷/۶۱
دیپلوم و دیپلم	۸۶	۲۴/۴۳
بالاتر از دیپلم	۶۹	۱۹/۶۰
شغل		
بیکار	۱۴	۳/۹۷
خانه دار	۱۹۰	۵۳/۹۷
شاغل	۱۰۲	۲۸/۹۷
بازنشسته	۴۴	۱۲/۵
دانش آموز یا دانشجوی	۲	۰/۵۶

جدول ۲- تعداد و فراوانی عوامل خطر بیماری‌های کرونر طبق تقسیم‌بندی پانل خبرگان NCEP مطرح هستند در نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران (n=۳۵۲)

عامل	تعداد	درصد
سابقه دیابت	۷۲	۲۰/۵
سابقه هیپرلیپیدمی	۱۱۸	۳۳/۵
سابقه بیماری عروق محیطی	۴	۱/۱۳
سابقه ابتلا به آنوریسم آئورت شکمی	۰	۰
سابقه بیماری عروق کاروتید علامت دار	۱	۰/۳
سابقه بیماری عروق کرونر در خود فرد	۳۶	۱۰/۲۲
مصرف سیگار [†]	۱۷	۴/۸
فشارخون (مصرف داروی فشار خون یا $BP \geq 140/90$) [†]	۱۶۴	۴۶/۶
پایین بودن کلسترول HDL ($HDL < 40$ mg/dl) [†]	۲۷۳	۷۷/۵۵
سابقه خانوادگی بیماری کرونر زودرس (در اقوام مذکر با سن >۵۵ سال و یا اقوام مؤنث با سن >۶۵ سال) [†]	۱۰	۲/۸۴
سن (≥ 45 مردان و ≥ 55 زنان) [†]	۱۵۳	۴۳/۴۶

[†] عوامل خطر مازور بیماری‌های عروق کرونر (غیر از LDL-C) طبق تقسیم‌بندی پانل خبرگان NCEP

جدول ۳- تقسیم‌بندی نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران بر مبنای گروه‌های خطر تدوین شده توسط پانل خبرگان NCEP (n=۳۵۲)

گروه خطر	تعداد	درصد
بیماری کرونر و یا ریسک معادل آن	۹۱	۲۵/۸۵
۲ یا بیشتر از ۲ عامل خطر	۱۲۵	۳۵/۵۲
۰ تا ۱ عامل خطر	۱۳۶	۳۸/۶۳

جدول ۴- کمینه، بیشینه، میانگین و انحراف معیار مقادیر لیپیدهای سرم در نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران (n=۳۳۹)

لیپید [†]	کمینه	بیشینه	میانگین	انحراف معیار
کلسترول تام	۱۱۰	۳۶۶	۲۰۰/۲۱	۴۶/۵۴
تری‌گلیسرید	۲۸	۳۹۷	۱۶۷/۹۸	۷۶/۳۳
کلسترول HDL	۲۵	۱۰۵	۴۹/۱	۱۱/۶۵
کلسترول LDL به روش محاسباتی فریدوالد	۲۶،۵	۲۷۴	۱۱۷/۵۴	۴۱/۰۵
کلسترول LDL به روش مستقیم	۴۸	۲۲۱	۱۱۲/۶۶	۳۰/۶۴

[†] مقادیر بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است

جدول ۵- مقایسه تفاوت بین مقادیر C-LDL و D-LDL بر حسب سطوح مختلف تری‌گلیسرید سرم در نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران (n=۳۳۹)

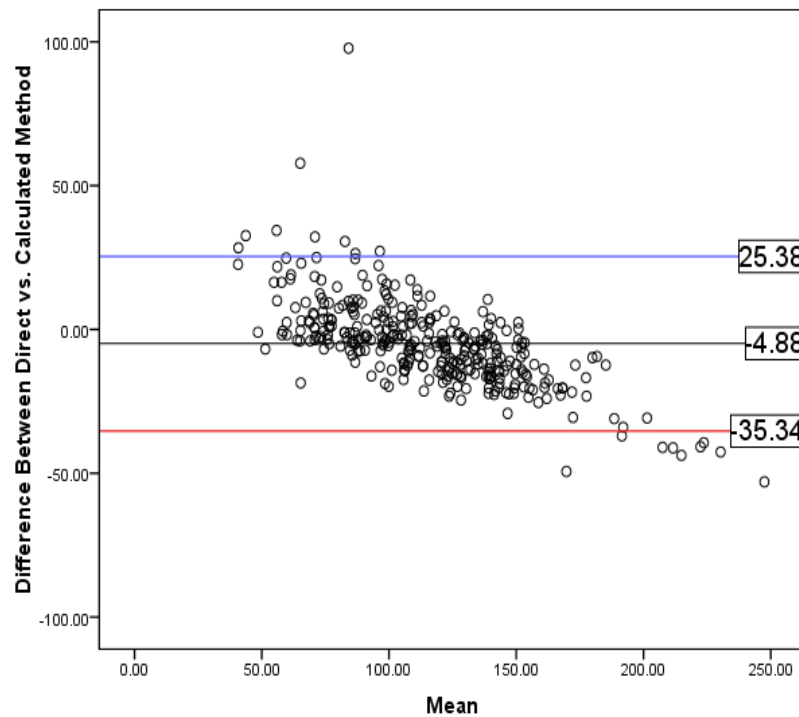
مقدار TG (mg/dl)	تعداد بیماران	تفاوت بین مقادیر C-LDL و D-LDL
< ۱۰۰	۶۹	-۹/۲۷ ± ۱۲/۷۲
۱۰۰-۲۰۰	۱۶۵	* -۶/۹۴ ± ۱۴/۲۵
۲۰۰-۳۰۰	۸۲	* -۰/۶۲ ± ۱۵/۳۱
۳۰۰-۴۰۰	۲۲	* ۸/۴۷ ± ۱۷/۵۳

تعداد نمونه‌ها ۳۳۹ نفر، مقایسه گروه‌ها با آزمون آماری ANOVA و آنالیز متعاقب با آزمون شفه انجام شد، * $P < 0.05$
مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

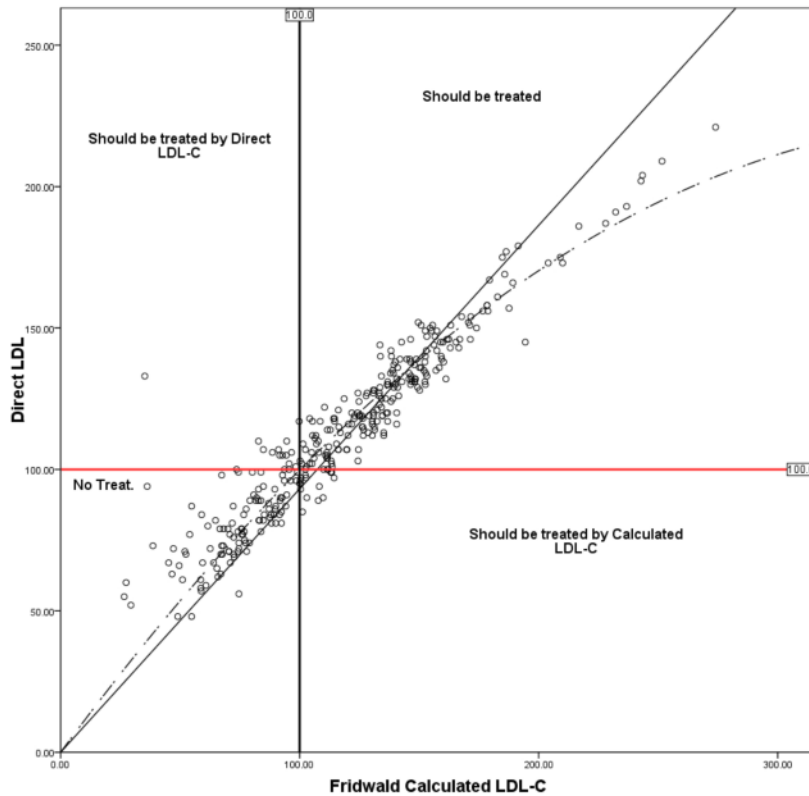
جدول ۶- تعداد و درصد افراد نیازمند درمان در گروه‌های ریسک تعیین شده توسط پانل خبرگان NCEP بر مبنای LDL اندازه‌گیری شده به روش مستقیم و محاسباتی در نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران (n=۳۳۹)

مجموع	تعداد و درصد بیماران با مقادیر مختلف LDL [†]			روش اندازه‌گیری	گروه ریسک
	LDL ≥ ۱۶۰	LDL ≥ ۱۳۰	۱۰۰ ≤ LDL < ۱۳۰		
	N (%)	N (%)	N (%)		
(/۱۴/۷۴) ۵۰	(/۱/۱۷) ۴	(/۶/۴۸) ۲۲	(/۷/۰۷) ۲۴	مستقیم	بیماری کرونر و یا ریسک معادل آن
(/۱۶/۳۳) ۵۲	(/۳/۲۴) ۱۱	(/۷/۶۶) ۲۶	(/۴/۴۲) ۱۵	محاسباتی	
(/۲۶/۵۴) ۹۰	(/۳/۲۴) ۱۱	(/۱۰/۰۲) ۳۴	(/۱۳/۲۷) ۴۵	مستقیم	۲ یا بیشتر از ۲ عامل خطر
(/۲۸/۳۱) ۹۶	(/۶/۷۸) ۲۳	(/۱۰/۹۱) ۳۷	(/۱۰/۶۱) ۳۶	محاسباتی	
(/۲۲/۱۲) ۷۵	(/۰/۸۸) ۳	(/۸/۲۵) ۲۸	(/۱۲/۹۷) ۴۴	مستقیم	۰ تا ۱ عامل خطر
(/۲۱/۵۳) ۷۳	(/۱/۷۶) ۶	(/۹/۷۳) ۳۳	(/۱۰/۰۲) ۳۴	محاسباتی	
(/۶۳/۴۲) ۲۱۵	(/۵/۳۰) ۱۸	(/۲۴/۷۷) ۸۴	(/۳۳/۳۳) ۱۱۳	مستقیم	کل گروه‌ها
(/۶۵/۱۹) ۲۲۱	(/۱۱/۷۹) ۴۰	(/۲۸/۳۱) ۹۶	(/۲۵/۰۷) ۸۵	محاسباتی	

[†] مقادیر بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است



شکل ۱- مقایسه مقادیر LDL اندازه‌گیری شده با روش مستقیم و روش محاسباتی فریدمن با استفاده از پلات تفاوت بلاند-آلتمن در نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران (n=۳۳۹)



نقطه برش ۱۰۰ بصورت فرضی به عنوان نقطه شروع درمان در هر دو روش مشخص شده تا نقش روش اندازه‌گیری در تعیین افراد نیازمند درمان به صورت شماتیک مشخص گردد. همانطور که در شکل دیده می‌شود برخی افراد در محدوده‌ای قرار دارند که با یک روش نیازمند درمان و با روش دیگر بدون نیاز به درمان خواهند بود.

شکل ۲- منحنی رگرسیونی رابطه بین مقادیر C-LDL و D-LDL در نمونه‌ای از مراجعان به یکی از آزمایشگاه‌های بالینی شهر تهران (n=۳۳۹).

نشان می‌دهد. نقش دو روش در تعیین نیاز به درمان پایین آورنده LDL در بیماران دارای گروه‌های متفاوت عوامل خطر متفاوت بود، بطوری که در گروه‌های دارای میزان LDL بالاتر از ۱۳۰ تعداد افرادی که توسط روش محاسباتی شناسایی شدند، بیشتر از روش مستقیم بود. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات گذشته قابل مقایسه است.

در این مطالعه مشخص شد که رابطه قوی بین D-LDL و C-LDL وجود داشت و ضریب همبستگی بین این دو ۰/۹۵ تعیین شد. این یافته با یافته‌های مطالعات دیگر هماهنگی دارد. در یک مطالعه که با هدفی مشابه مطالعه کنونی طراحی شده بود، ضریب همبستگی ۰/۹۶ به دست آمد [۱۱]. مطالعه دیگر، مطالعه‌ای بود که در چارچوب مطالعه بزرگ سلامت زنان (Women Health Study) در امریکا انجام شد. ضریب همبستگی به دست آمده در این مطالعه ۰/۹۷ بوده است [۱۲]. در مطالعه دیگری که بوسیله

بحث

این مطالعه با هدف مقایسه دو روش اندازه‌گیری مستقیم و محاسباتی برای LDL انجام شد. با توجه به عدم دقت روش محاسباتی فریدوالد در تری‌گلیسرید بالاتر از ۴۰۰، تحلیل‌ها تنها بر روی گروهی ۳۳۹ نفره از بیماران انجام شد که تری‌گلیسرید کمتر از ۴۰۰ داشتند. نتایج نشان داد که دو روش مستقیم و محاسباتی دارای رابطه قوی هستند (r=۰/۹۵). تفاوت بین دو روش مستقیم و محاسباتی با مقادیر تری‌گلیسرید ارتباط داشت، بدین معنی که در مقادیر تری‌گلیسرید بالاتر از ۲۰۰ تفاوت بین مقدار LDL اندازه‌گیری شده با دو روش از نظر آماری معنادار بود. یافته‌های حاصل از تحلیل داده‌ها به هر دو روش رگرسیون و پلات بلاند-آلتمن نشان داد که روش مستقیم دارای یک نوع سوگیری منفی در مقایسه با روش محاسباتی فریدوالد است. به عبارت دیگر روش مستقیم مقدار LDL را کمتر

در توجیه این تفاوت در مطالعات مختلف غیر از تفاوت در جمعیت‌های مورد مطالعه و نوع روش مستقیم استفاده شده می‌توان به این موارد اشاره نمود: نخست آن که این موضوع ممکن است به ذرات VLDL مرتبط باشد. به این صورت که وقتی محتوای کلسترول ذرات VLDL بالا باشد روش مستقیم دارای سوگیری مثبت خواهد شد (یعنی مقدار LDL را بالاتر نشان می‌دهد) اما وقتی محتوای تری‌گلیسرید ذرات VLDL بالا باشد روش مستقیم دارای سوگیری منفی خواهد بود [۱۳]. دومین علت به سنجش کلسترول LP(a) باز می‌گردد. برخی از روش‌های اندازه‌گیری مستقیم تنها کلسترول موجود در LDL و IDL را اندازه‌گیری می‌کنند و قادر به اندازه‌گیری کلسترول LP(a) نیستند. مطالعه Li و همکاران در گذشته نشان داده که در سطوح LP(a) با مقادیر مختلف ($300 \text{ mg/L} \leq 600 \text{ mg/L}$ و $600 \text{ mg/L} >$) میزان LDL اندازه‌گیری شده متفاوت خواهد بود (به ترتیب $1/4\%$ ، $8/5\%$ و $21/4\%$). به همین دلیل این محققان پیشنهاد می‌کنند که برای دقت بیشتر میزان کلسترول LP(a) از LDL محاسبه شده با روش فریدوالد کم شود تا تخمین درست‌تری به دست آید [۱۶].

نکته جالب آنکه با توجه به مطالعات انجام شده در شرایطی که کلسترول LP(a) کمتر از 300 باشد نسبت نقش کلسترول LP(a) در برآورد محاسباتی LDL با روش فریدوالد حدود 4% است. بنابراین شاید سوگیری منفی روش مستقیم در مطالعه کنونی و نیز مطالعه Mora و همکاران مربوط به همین پدیده باشد. اما چون اندازه‌گیری کلسترول LP(a) مستلزم صرف هزینه بیشتر است، نمی‌توان اندازه‌گیری آن را بطور روتین توصیه نمود.

در مجموع اگر چه ممکن است اختلاف بین مقادیر D-LDL و C-LDL کوچک باشد، اما همین تفاوت کوچک در سطح جامعه منجر به تفاوت عظیمی در تعیین تعداد افراد نیازمند درمان و افراد فاقد نیاز به درمان شود.

از یافته‌های دیگر مطالعه حاضر اختلاف بین میانگین تفاوت D-LDL و C-LDL در سطوح مختلف تری‌گلیسرید بود که در سطوح تری‌گلیسرید بالاتر از 200 این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود. این یافته در مطالعات گذشته نیز مشاهده شده بود. [۱۵-۱۳].

De Cordova و همکارانش در برزیل انجام شد، ضریب همبستگی بین D-LDL و C-LDL بر حسب مقادیر مختلف تری‌گلیسرید بین $0/89$ تا $0/97$ تعیین گردید [۱۳]. در مطالعه حاضر روش مستقیم بطور میانگین حدود 5 mg/dl (دقیقا $4/88$ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) مقدار LDL را کمتر از روش محاسباتی نشان داد. این موضوع در بررسی با روش پلات بلاند-آتمن و نیز روش رگرسیون نیز نشان داده شد. به عبارت دیگر نوعی سوگیری منفی در روش مستقیم در مقایسه با روش محاسباتی مشاهده شد. نتایج به دست آمده در مطالعات دیگران در برخی موارد هماهنگ و در برخی موارد دیگر ناهماهنگ با نتایج مطالعه کنونی است. از مطالعات هماهنگ با مطالعه کنونی می‌توان به مطالعه Mora و همکاران اشاره نمود. در این مطالعه نیز روش مستقیم مقدار LDL را بین 5 تا 10 میلی‌گرم در دسی‌لیتر پایین‌تر نشان داده بود [۱۲]. همچنین در مطالعه De Cordova و همکارانش در سطوح پایین‌تر تری‌گلیسرید، روش مستقیم مقدار LDL را بین 2 تا 7 میلی‌گرم در دسی‌لیتر پایین‌تر نشان داده بود اما هر چه سطح تری‌گلیسرید بالاتر می‌رفت تفاوت کمتر می‌شد و در تری‌گلیسریدهای بالای 300 میلی‌گرم در دسی‌لیتر روش محاسباتی مقدار LDL را کمتر نشان داد (پدیده‌ای که خود نویسندگان مقاله نیز نتوانسته‌اند آن را دقیقاً توجیه نمایند) [۱۳]. در مطالعه دیگری که توسط Nauk و همکارانش انجام شد نیز در مقایسه با روش استاندارد کمی سازی بتا که با اولتراساتریفوژ انجام می‌شود هر دو روش مستقیم و محاسباتی مقدار LDL را کمتر نشان دادند اما در مقایسه دو روش مستقیم و محاسباتی، در روش مستقیم مقدار LDL پایین‌تر بود [۱۴].

از مطالعات ناهماهنگ با مطالعه کنونی می‌توان به مطالعه Can و همکاران اشاره نمود که در آن روش محاسباتی مقادیر کمتری را نشان داده بود. در آن مطالعه روش مستقیم میزان LDL را حدود 14% بالاتر از روش محاسباتی (سوگیری مثبت روش مستقیم) نشان داده بود. همچنین مطالعات دیگری نیز انجام شده که نشان دهنده بالاتر بودن مقادیر حاصل از روش مستقیم و سوگیری مثبت این روش در مقایسه با روش محاسباتی بوده‌اند [۱۵، ۴].

همچنین ارزش پیش‌گویی مثبت و ارزش پیش‌گویی منفی روش فریدوالد در مقایسه با روش‌های مستقیم قابل قبول بود. در این مطالعه تنها فایده روش‌های مستقیم را در شرایط کنونی کاربرد آنها در بیماران دارای تری‌گلیسرید بالاتر از ۴۰۰ mg/dl دانسته است [۱۴].

در مطالعه Mora نیز نشان داده شد که روش فریدوالد و روش مستقیم در حالت ناشتا ارزش همسانی در ارتباط با پیش‌بینی بیماری‌های عروق کرونر دارند [۱۳].

مطالعه حاضر محدودیت‌هایی داشت. نخست این که در این مطالعه، نمونه‌ها از مراجعان به یک آزمایشگاه انتخاب شدند و بهتر بود که به صورت چند مرکزی انجام می‌شد. البته بسیاری از مطالعات انجام شده مشابه نیز تنها در یک یا تعداد محدودی آزمایشگاه انجام شده‌اند چون تعدد آزمایشگاه‌ها میزان خطای معمول اندازه‌گیری را افزایش می‌دهد و نتایج ممکن است قابل اعتماد نباشند. آزمایشگاه از بین آزمایشگاه‌های معمول تهران انتخاب شد نه آزمایشگاه‌های تحقیقاتی و مرجع و از این جهت نتایج آن تعمیم‌پذیری بیشتری به جامعه دارد.

محدودیت دیگر تعداد نمونه‌ها بود که اگر چه برای برآوردهای آماری مورد نظر مطالعه مناسب بود، اما برای تعمیم نتایج به جامعه احتمالاً حجم نمونه بالاتری مورد نیاز است. در این مطالعه تنها از یکی از روش‌های مستقیم اندازه‌گیری LDL استفاده شد و نتایج آن ممکن است قابل تعمیم به سایر روش‌ها نباشد. در این مطالعه و با وجودی که در پروپوزال اولیه پیش‌بینی شده بود، متأسفانه امکان مقایسه دو روش محاسباتی و مستقیم با روش استاندارد اولتراسانتریفوژ فراهم نشد. در صورتی که این کار میسر بود، مقایسه اعتبار دو روش مستقیم و محاسباتی به شکل کاملتری انجام می‌شد.

این مطالعه نشان داد که روش مستقیم اندازه‌گیری LDL به دلایل زیر احتمالاً برتری خاصی نسبت به روش محاسباتی فریدوالد در مقادیر تری‌گلیسرید کمتر از ۴۰۰ mg/dl ندارد:

الف- سوگیری منفی روش مستقیم در مقایسه با روش فریدوالد که موجب می‌شود این روش مستقیم مقدار LDL را پایین‌تر نشان دهد.

همچنین در این مطالعه ضریب همبستگی بین میزان D-LDL و میزان تری‌گلیسرید ($r=0/38$) برخلاف انتظار بیش از ضریب همبستگی بین C-LDL و تری‌گلیسرید ($r=0/19$) بود. این موضوع نشان می‌دهد که باور عمومی در مورد عدم تاثیر تری‌گلیسرید بر روی روش مستقیم ممکن است صحیح نباشد. به عبارت دیگر روش مستقیم نیز همانند روش محاسباتی با تغییر میزان تری‌گلیسرید تغییراتی خواهد داشت. توجه بیوشیمیایی این پدیده نیز احتمالاً تاثیر محتوای کلسترول برخی ذرات لیپوپروتئینی غنی از تری‌گلیسرید است که می‌توانند مقادیر کلسترول اندازه‌گیری شده توسط روش مستقیم را افزایش دهند [۱۴]. در هر صورت این یافته احتمالاً نشان دهنده عدم دقت کافی روش مستقیم نیز هست.

مقدار LDL اندازه‌گیری شده با دو روش مستقیم و محاسباتی تفاوت معنی‌داری در افراد دیابتی و غیر دیابتی نداشت. برخی از مطالعات در گذشته کاربرد روش محاسباتی را در بیماران دیابتی دارای محدودیت‌هایی می‌دانستند اما مطالعاتی نیز این روش را در بیماران دیابتی قابل قبول دانسته‌اند. در هر حال در مطالعه کنونی در افراد مبتلا به دیابت هر دو روش نتایج تقریباً یکسانی داشته‌اند.

شاخص مهمی که در بسیاری از مطالعات برای مقایسه روش‌های اندازه‌گیری LDL به آن توجه می‌شود، نقش این دو روش در تصمیم‌گیری بالینی و درمان بیماران پرخطر برای بیماری‌های عروق کرونر است. نتایج مطالعه کنونی نشان داد که بطور کلی تعداد افرادی که با روش محاسباتی وارد درمان می‌شوند بیشتر از روش مستقیم است البته این تفاوت اندک بود. اما نکته مهم‌تر تفاوت در تعداد افراد نیازمند درمان در مقادیر LDL بالاتر از ۱۳۰ mg/dl بود. در این گروه افراد بیشتری با روش فریدوالد وارد درمان می‌شوند. مطالعه‌ای نشان داد که روش فریدوالد ممکن است در سطوح پایین کلسترول دقت پایینی داشته باشد [۱۷]. در مطالعه‌ای که یکی از اهداف آن ارزیابی و مقایسه کارکرد بالینی روش فریدوالد در مقایسه با دو نوع روش مستقیم در مقایسه با روش استاندارد اولتراسانتریفوژ بود، یافته‌ها نشان دهنده عملکرد بهتر روش فریدوالد در طبقه‌بندی بیماران در مقایسه با روش‌های مستقیم بود.

نمونه‌های ناشتا و غیر ناشتا با روش‌های مختلف می‌تواند اطلاعات جدیدی را فراهم کند. با توجه به رایج شدن روش‌های مستقیم در کشورمان، انجام یک مطالعه چند مرکزی و با در نظر گرفتن فاکتور هزینه‌ها، شامل هزینه‌های انجام تست و هزینه‌های تخمینی درمان یا عدم درمان بیماران بر مبنای نتایج روش‌های مختلف اندازه‌گیری LDL بسیار حائز اهمیت است. چنین مطالعه‌ای احتمالاً یکی از مطالعات ضروری در جهت تدوین راهنمای کشوری درمان هیپرکلسترولمی در ایران خواهد بود.

سپاسگزاری

این مقاله بر اساس پایان‌نامه دوره دکترای تخصصی بیماری‌های داخلی و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شده است. لازم است از جناب آقای دکتر محمدرضا منافی ریاست محترم آزمایشگاه بالینی بقراط و سرکار خانم اخوان و خانم صدوقی از کارکنان آزمایشگاه به خاطر همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش قدردانی گردد.

ب- با توجه به این سوگیری منفی، تعداد کمتری از افراد در سیستم طبقه‌بندی گروه‌های خطر مورد نظر NCEP-ATP III قرار می‌گیرند و این تفاوت در گروه‌های دارای LDL بالاتر چشم‌گیرتر است. بنابراین در سطح جامعه ممکن است تعدادی از افراد نیازمند درمان، درمانی دریافت نکنند.

ج- مقادیر LDL اندازه‌گیری شده در روش مستقیم برخلاف انتظار بیش از روش محاسباتی تحت تاثیر مقدار تری‌گلیسرید قرار گرفت که احتمالاً می‌تواند دلیلی برای دقت کمتر این روش باشد.

علاوه بر موارد فوق روش مستقیم مستلزم هزینه‌های خاصی برای انجام تست است اما روش محاسباتی هزینه اضافی ندارد. بنابراین در شرایط کنونی و تا زمانی که روش‌های مستقیم با دقت و کیفیت بهتری در دسترس قرار بگیرند، همچنان از روش محاسباتی فریدوالد در مقادیر تری‌گلیسرید کمتر از ۴۰۰ mg/dl می‌توان برای تصمیم‌گیری‌های درمانی استفاده نمود.

برای مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود که روش‌های هموزن مختلف همزمان با یکدیگر و با روش محاسباتی و روش استاندارد اولتراسانتریفوژ مقایسه شوند. همچنین مقایسه

مأخذ

- Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285:2486-97.
- Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein levels: the Framingham study. *JAMA* 1986; 256:2835-8.
- Cole TG, Ferguson CA, Gibson DW, Nowatzke WL, Bachorik PS, Ross JW. Optimization of beta-quantification methods for highthroughput applications. *Clin Chem* 2001; 47(4):712-21.
- Nauck M, Warnick R, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assay versus calculation. *Clin Chem* 2002; 48: 236-54.
- Bachorik PS, Ross JW. National Cholesterol Education Program recommendations for measurements of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurements. *Clin Chem* 1995; 41: 1414-20.
- Branchi A, Rovellini A, Torri A, Sommariva D. Accuracy of calculated serum low-density lipoprotein cholesterol for the assessment of coronary heart disease risk in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1998; 21:1397-402.
- Johnson R, McNutt P, MacMahon S, Robson R. Use of the Friedewald formula to estimate LDL-cholesterol in patients with chronic renal failure on dialysis. *Clin Chem* 1997;43:2183-4.
- Bairaktari ET, Tzallas C, Kalientzidou M, Tselepis AD, et al. Evaluation of alternative calculation methods for determining low-density lipoprotein cholesterol in hemodialysis patients. *Clinical Biochem* 2004; 37: 937- 40.
- Matas C, Cabre M, La Ville A, Prats E, Joven J, Turner PR, et al. Limitations of the Friedewald formula for estimating low-density lipoprotein cholesterol in alcoholics with liver disease. *Clin Chem* 1994; 40:404-6.
- Legault C, Stefanick M, Miller V, Marcovina S, Schrott H. Effect of hormone replacement therapy on the validity of the Friedewald equation in postmenopausal women: the Postmenopausal Estrogen/Progestins Interventions (PEPI) trial. *J Clin Epidemiol* 1999; 52: 1187-95.

11. Can M, Acikgoz S, Mungan G, et al. Is direct method of low density lipoprotein cholesterol measurement appropriate for targeting lipid lowering therapy? *Int J Cardiol Jan* 2010; 142(1): 105-7.
12. Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Comparison of LDL Cholesterol Concentrations by Friedewald Calculation and Direct Measurement in Relation to Cardiovascular Events in 27 331 Women. *Clin Chemistry* 2009; 55(5): 888-94.
13. De Cordova CMM, Schneider CR, Juttel ID, de Cordova MM. Comparison of LDL-Cholesterol Direct Measurement with the Estimate Using the Friedewald Formula in a Sample of 10,664 Patients. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2004; 83:282-87.
14. Nauck M, Rifai N. Analytical performance and clinical efficacy of three routine procedures for LDL cholesterol measurement compared with the ultracentrifugation-dextran sulfate-Mg (2+) method. *Clin Chim Acta* 2000; 294:77-92.
15. Yu HH, Ginsbrug GS, Harris N et al. Evaluation and clinical application of a direct low density lipoprotein cholesterol assay in normolipemic and hyperlipidemic adults. *Am J Cardiol* 1997; 80: 1295-99.
16. Li KM, Wilcken DE, Dudman NP. Effect of serum lipoprotein (a) on estimation of low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald formula. *Clin Chem* 1994; 40: 571-3.
17. Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, Marz W. The Friedewald formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 426-31.