

مقایسه سطح LDL-C اکسید شده و آنتی بادی ضد آن در بیماران دیابتی نوع دو با افراد سالم

میترا نیافر^۱، فاطمه اصفهانیان^۱، علیرضا استقامتی^۱، رامین حشمت^۲، مهدی هدایتی^۳، معصومه کرمی^۴، مهرشاد عباسی^۱،
منوچهر نخجوانی^{۱*}

چکیده

مقدمه: سطح استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی بالا است و اکسیداسیون LDL-C ورود و تجمع آن در ماکروفازها را تسهیل می نماید که شاید از علل افزایش آترواسکلروز و بیماری های قلبی عروقی در این بیماران باشد. از طرف دیگر ترکیبات اکسید شده LDL-C خاصیت ایمنونژنیک داشته و باعث تولید آنتی بادی می شوند. البته اثر این آنتی بادی ها در مهار یا تحریک روند آترواسکلروز به خوبی معلوم نیست. مطالعه حاضر سطح LDL-C اکسید شده و آنتی بادی ضد آن را در بیماران دیابتی و افراد سالم مقایسه می نماید.

روش ها: جمعیت مورد مطالعه ۸۱ بیمار دیابتی نوع دو ۴۰ تا ۶۵ ساله غیر سیگاری بودند که تحت درمان با داروهای پایین آورنده چربی خون و فشار خون نبوده و سابقه بیماری قلبی - عروقی و کلیوی نداشتند. به عنوان گروه شاهد ۶۹ فرد سالم انتخاب شده و از نظر جنس و نمایه توده بدن با گروه مورد هماهنگ شدند. پس از اخذ رضایت برای ورود به مطالعه، اطلاعات دموگرافیک و آنتروپومتریک افراد مورد مطالعه ثبت گردید. در نمونه خون ناشتا قند، کلسترول تام، HDL، تری گلیسرید، نیتروژن اوره، اسید اوریک، الکترولیت ها، هموگلوبین گلیکوزیله (HbA_{1c})، LDL اکسید شده و آنتی بادی ضد آن اندازه گیری شده و میزان LDL، نسبت LDL اکسید شده به خود LDL و نمایه توده بدن محاسبه گردید.

یافته ها: در دو گروه شاهد و بیمار، میزان LDL اکسید شده با LDL-C و کلسترول تام متناسب بود. سطح LDL اکسید شده و نسبت LDL اکسید شده به LDL در گروه شاهد بیش از بیماران دیابتی بود. در بیماران دیابتی آنتی بادی ضد LDL اکسید شده با آن ارتباط معنی دار داشت. سطح LDL اکسید شده با سن و میزان کنترل قند خون ارتباط نداشت.

نتیجه گیری: سطح LDL اکسید شده در بیماران دیابتی کمتر از افراد سالم و متناسب با آنتی بادی ضد آن است. طبق مطالعات موجود به نظر می آید نوع و شدت اکسیداسیون در بیماران دیابتی به گونه ای است که برداشت آن توسط ماکروفاز و سایر سلول ها را تسهیل و در نتیجه سطح خونی آن را کاهش می دهد.

واژگان کلیدی: LDL اکسید شده، دیابت، آترواسکلروز، آنتی بادی ضد LDL اکسید شده

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، بیمارستان ولی عصر، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش

مقدمه

خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی در بیماران دیابتی بیش از افراد سالم است [۲،۱]. این افزایش خطر فقط با همراهی دیابت با دیگر عوامل خطر بیماری‌های عروقی مانند افزایش فشار خون شریانی و دیس لیپیدی توجیه نمی‌شود [۴،۳]. در دیابت کاهش انرژی درون سلولی و افزایش گلیکوزیله شدن غیر عادی پروتئین و آنزیمها باعث کاهش توان آنتی اکسیدان سلولها و در نتیجه افزایش تخریب اکسیداتیو می‌شود [۵-۷]. یکی از سازوکارهای پیشنهادی برای افزایش میزان آترواسکلروز و بیماری‌های عروقی در دیابت، افزایش اکسیداسیون و تغییر ساختار مولکولی LDL-C به گونه ای است که ملکول آن توانایی اتصال به گیرنده استیل LDL-C ماکروفاژها را پیدا می‌کند. این اتصال باعث تسهیل ورود LDL-C به ماکروفاژها و تشکیل تجمععات چربی و سلول‌های کف آلود^۱ می‌گردد [۹،۸]. به علاوه LDL-C اکسید شده و تغییر یافته، به شدت خاصیت ایمونوژنیک داشته و باعث تولید آنتی بادی بر ضد LDL-C اکسید شده می‌شود. البته هنوز نقش محافظتی یا آسیب زایی این آنتی بادی در آترواسکلروز به خوبی مشخص نشده است [۱۰-۱۲]. مطالعات مختلف، نتایج متناقضی درباره سطح خونی LDL-C اکسید شده و آنتی بادی ضد آن در بیماران دیابتی گزارش نموده اند. در این مطالعه سطح خونی LDL-C اکسید شده و آنتی بادی آن در بیماران دیابتی را با افراد سالم مقایسه شد.

روش‌ها

مطالعه بر روی ۸۱ بیمار دیابتی نوع دو و ۶۹ نفر شاهد سالم ۴۰ تا ۶۵ ساله انجام شد. بیماران دیابتی از مراجعین درمانگاه دیابت بیمارستان امام خمینی در طول سال ۸۳ به شرط عدم ابتلا به بیماری قلبی، کلیوی، عدم مصرف سیگار، داروهای آنتی اکسیدان و پایین آورنده چربی و فشار خون انتخاب شدند. بیماران دارای تری گلیسرید بالاتر از ۵۰۰ mg/dl و فشار خون بالاتر از ۱۴۰/۹۰ mmHg از مطالعه خارج شدند. گروه شاهد از افراد غیر دیابتی

بدون بیماری شناخته شده با جور کردن جنس و نمایه توده بدن با بیماران دیابتی انتخاب شدند. پس از اخذ رضایت، اطلاعات دموگرافیک شامل سن، جنس، مدت ابتلا به دیابت، سابقه بیماری‌های همراه و سابقه دارویی جمع آوری شد. فشار خون، قد و وزن بیماران و افراد سالم نیز ثبت گردید. سپس در نمونه خون پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، مقادیر قند، HbA_{1c} (به روش HPLC)، سدیم، پتاسیم، کراتینین، نیتروژن اوره، اسید اوریک، کلسترول تام، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C اکسید شده به روش ELIZA (شرکت Mercodia کشور سوئد بر اساس دو آنتی بادی مونوکلونال) و آنتی بادی ضد LDL-C اکسید شده، تعیین گردید. نمایه توده بدن، LDL-C و نسبت LDL-C اکسید شده به LDL-C کلسترول غیر HDL-C و نسبت LDL-C به HDL-C محاسبه شد. برای محاسبه LDL-C از فرمول فریدوالد استفاده شد.

میزان لیپیدهای خون و LDL-C اکسید شده و آنتی بادی آن در دو گروه باهم مقایسه شد و ارتباط سطح LDL-C اکسید شده و آنتی بادی آن با سن، مدت ابتلا به دیابت، نمایه توده بدن و میزان کنترل قند بررسی گردید. مقادیر به دست آمده بر حسب Mean±SD ارائه شد. برای بیان وابستگی از ضریب پیرسون (r) و در مواردی که توزیع داده ها طبیعی نبود از ضریب اسپیرمن (rs) و تغییر داده ها با لگاریتم در مبنای نپر استفاده شد. P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطح LDL-C اکسید شده در بیماران دیابتی کمتر از گروه شاهد بود (۱۱/۸±۵/۶ mU/l در مقابل ۱۵/۷±۶/۹، ۰/۰۰۵ < P). مقایسه اطلاعات دموگرافیک دو گروه در جدول ۱ و مقادیر چربی های خون و آنتی بادی ضد LDL-C اکسید شده آنها در در جدول ۲ آورده شده است. در بیماران دیابتی سطح LDL-C اکسید شده با تیتراژ آنتی بادی ضد آن رابطه خطی ضعیف اما معنی داری داشت (rs= ۰/۲۶، P<۰/۰۰۵) اما در افراد سالم چنین ارتباطی وجود نداشت. میزان LDL-C اکسید شده با LDL-C (rs=۰/۳۴، P<۰/۰۰۵) در هر دو گروه و کلسترول تام (rs=۰/۳۳، P<۰/۰۰۵) در

¹ Foam cells

کاهش میابد[۱۵، ۱۶]. این کاهش سطح انرژی سلولی به طور مستقیم یا به واسطه میانجی های درون و بین سلولی چون CPK، آدنوزین مونوفسفات و عوامل رشد، توان سلول در مقابله با استرس اکسیداتیو را کم می کند. از طرف دیگر باید پذیرفت که اکسید شدن و تغییر ملکول LDL-C یک مرحله اساسی تجمع چربی در داخل ماکروفاژها و آترواسکلروز است [۱۹-۱۷]. اما بیشتر این اکسیداسیون در بافت بینابینی، جدار رگ و داخل سلول های اندوتلیال اتفاق می افتد و نه در داخل پلاسما [۲۰]. بنابراین میزان پلاسمایی LDL-C اکسید شده در حله اول گویای میزان تجمع و آسیب نسبی آن نمی باشد. عدم ارتباط سطح LDL-C اکسید شده با میزان کنترل قند خون نشان دهنده آن است که سطح LDL-C اکسید شده پلاسما نمایش دهنده وضعیت متابولیسم بدن نمی باشد.

هر دو گروه بستگی داشت، اما با سن، مدت ابتلا به دیابت، میزان کنترل قند خون (بر حسب HbA_{1c})، HDL-C و تری گلیسرید مربوط نبود. میزان آنتی بادی ضد LDL-C اکسید شده در بیماران دیابتی با ابتلای کمتر از ۵ سال به دیابت کاهش یافته بود. LDL اکسید شده در بیماران دیابتی با نمایه توده بدن بیش از ۳۰ به طور معنی داری بیش از بیماران با نمایه توده بدن کمتر از ۳۰ بود.

بحث

سطح LDL-C اکسید شده در بیماران دیابتی در این مطالعه از افراد سالم پایین تر بود. این یافته موافق بعضی مطالعات [۱۳، ۱۴] قبلی است. نتایج مطالعات قبلی در جدول ۳ خلاصه شده است. در دیابت، سطح انرژی به علت عدم متابولیسم عادی گلوکز و گلیکوزیله شدن نامناسب آنزیمها در مسیرهای آزاد سازی، انرژی سلولی

جدول ۱- اطلاعات شخصی و فشار خون بیماران دو گروه

اطلاعات دموگرافیک	بیماران دیابتی نوع ۲	شاهدان سالم
توزیع جنس	۳۰مرد/۵۱زن	۲۶مرد/۴۳زن
نمایه توده بدن	۲۷/۳±۴/۲	۲۶/۱±۳/۵
سن	*۵۳/۵±۷	۵۰/۵±۶/۵
مدت دیابت	۷/۸±۶/۵	---
فشار خون سیستولی (mm/Hg)	*۱۲۴±۱۱	۱۱۵±۱۰
فشارخون دیاستولی (mm/Hg)	*۸۰±۷	۷۵±۷

* نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت از نظر آماری است (P<۰/۰۱)

جدول ۲- مقایسه داده های لیپیدهای خون بیماران دیابتی و شاهدان سالم

اطلاعات لیپیدهای خون	بیماران دیابتی نوع ۲	شاهدان سالم
LDL-C اکسید شده (mU/l)	*۱۱/۸±۵/۶	۱۵/۷±۶/۹
آنتی بادی LDL-C اکسید شده	۳۸۳/۲±۳۵۷	۴۸۲/۲±۴۴۶
کلسترول تام (mg/dl)	۲۰۶±۴۶	۲۱۰±۳۷
LDL-C (mg/dl)	۱۱۴±۳۹	۱۲۶±۳۲
HDL-C (mg/dl)	۵۴±۱۶	۵۶±۱۱
تری گلیسرید (mg/dl)	*۱۸۲±۸۹	۱۳۷±۶۴

* نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت مشاهده شده است (P<۰/۰۰۱)

جدول ۳- مقایسه خلاصه نتایج مطالعات قبلی

نام مطالعه	سال تحقیق	تعداد گروه دیابتی	تعداد گروه شاهد	نتیجه
Oranje	۱۹۹۸	۲۳	۱۳	اکسیداسیون چربی در دیابتی‌ها بیشتر نبود.
Minorva	۲۰۰۰	۲۰	۳۴	آنتی‌بادی بر علیه LDL اکسید شده در دیابتی‌ها و افراد سالم یکسان بود.
Hsu	۲۰۰۲	۲۳	۲۵	آنتی‌بادی بر علیه LDL اکسید شده در دیابتی‌های بدون عوارض قلبی عروقی با افراد سالم یکسان بود.
Shewenke	۲۰۰۳	۵۳	۱۰۵	میزان اکسید شدن LDL بیماران دیابتی در آزمایشگاه کمتر بود.
Sheffer	۲۰۰۳	۵۸	۵۸	بین سطح LDL اکسید شده در پلاسما و میزان حساسیت LDL به اکسید شدن در محیط آزمایشگاه رابطه‌ای وجود نداشت [۲۷].
Brizzi	۲۰۰۴	۲۴	۴۱	سطح LDL اکسید شده در بیماران دیابتی کمتر از افراد سالم بود.
Malickova	۲۰۰۴	۲۰	۴۰	آنتی‌بادی ضد LDL اکسید شده در افراد سالم از دیابتی‌ها بیشتر بود.
MacDonald	۲۰۰۴	۱۲	۱۲	LDL اکسید شده در دیابتی و غیر دیابتی‌ها تفاوت نداشت [۲۸].
Piarulli	۲۰۰۵	۶۰	۵۶	آنتی‌بادی ضد LDL اکسید شده در دیابتی‌ها بیشتر بود.

آورنده قند خون بوده اند و این درمان‌ها می‌توانند در بیماران دیابتی متابولیسم چربی را تغییر دهد [۲۳، ۲۴]. ارتباط سطح LDL-C اکسید شده و آنتی‌بادی‌ها در بیماران دیابتی نشان دهنده آن است که LDL-C اکسید شده برای دستگاه ایمنی تحریک کننده است و هرچه میزان آن در بیماران دیابتی بیشتر بود، میزان آنتی‌بادی‌ها نیز افزایش یافته است. عملکرد این آنتی‌بادی مشخص نیست. احتمال دارد در ترکیب کمپلکس ایمنی با LDL-C اکسید شده اثر آسیب‌زایی بر جدار عروق داشته باشد و یا بر عکس نقش محافظتی در برابر ورود LDL اکسید شده به سلول‌ها ایفا نماید [۲۵، ۲۶].

می‌توان بالا بودن سطح LDL-C اکسید شده در بیماران دارای عوارض قلبی عروقی را به پاره شدن آتروم‌ها و آزاد شدن چربی زیر غشای پایه رگ‌ها نسبت داد [۲۱]. از طرف دیگر افزایش سطح اکسیداسیون و هیپرگلیسمی باعث القای گیرنده‌های LDL-C اکسید شده در جدار سلول‌های ماکروفاژ و کوپفر کبد می‌شود [۲۲]. با این استدلال انتظار داریم که در دیابت میزان برداشت محیطی LDL-C اکسید شده زیاد شود و شاید به همین علت سطح آن در بیماران دیابتی کاهش یافته است. البته باید این نکته را در نظر داشت که بیماران دیابتی تحت درمان با داروهای پایین

مآخذ

1. Galcera-Tomas J, Melgarejo-Moreno A, Garcia-Alberola A, et al. Prognostic significance of diabetes in acute myocardial infarction: are the differences linked to female gender? *Int J Cardiol* 1999; 69: 289-298.
2. Burke JP, Williams K, Gaskill SP, Hazuda HP, Haffner SM, Stern MP. Rapid Rise in the Incidence of Type 2 Diabetes From 1987 to 1996. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1450-1456.
3. Nesto R. CHD: a major burden in type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2001; 38 (Suppl 1): S3-S8.
4. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care* 1993; 16: 434-44.
5. Leinonen J, Rantalaiho V, Lehtimäki T, Koivula T, Wirta O, Pasternack A, Alho H. The association between the total antioxidant potential of plasma and the presence of coronary heart disease and renal dysfunction in patients with NIDDM. *Free Radic Res* 1998; 29: 273-81
6. Ceriello A, Piconi L, Quagliari L, Wang Y, Schnabel CA, Ruggles JA, Gloster MA, Maggs DG, Weyer C. Effects of pramlintide on postprandial glucose excursions and measures of oxidative stress in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28: 632-7.
7. Ceylan A, Karasu C, Aktan F, Ozansoy G. Simvastatin treatment restores vasoconstriction and the inhibitory effect of LPC on endothelial relaxation via affecting oxidizing metabolism in diabetic rats. *Diabetes Nutr Metab* 2004; 17: 203-10.
8. Fukuhara-Takaki K, Sakai M, Sakamoto Y, Takeya M, Horiuchi S. Expression of class A scavenger receptor is enhanced by high glucose in vitro and under diabetic conditions in vivo: one mechanism for an increased rate of atherosclerosis in diabetes. *J Biol Chem* 2005; 280: 3355-64.
9. Trevor J Orchard; Gabriel Virella; Kimberly Y-Z Forrest; Rhobert W Evans, Becker D J, Lopes-Virella M F. Antibodies to oxidized LDL predict coronary artery disease in type 1 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 1454-1460.
10. Friedman P, Hörkko S, Steinberg D, Witztum J L, Dennis E A. Correlation of Antiphospholipid Antibody Recognition with the Structure of Synthetic Oxidized Phospholipids. *The J Biol Chem* 2002; 277: 7010-7020.
11. Calverley DC, Varteresian T, Brass E, Tsao-Wei DD, Groshen S, Mack WJ, Buchanan TA, Hodis HN, Schreiber AD. Association between monocyte Fcγ subclass expression and acute coronary syndrome. *Immun Ageing* 2004; 1: 4.
12. Malickova K, Skraha J, Janatkova I, Vankova Z, Fucikova T. [Antibodies against low density oxidized lipoproteins in type 2 diabetics]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2004; 53: 131-5
13. Schewenke D C, Dagostini R B, Goff DC, Karter AJ, Rewres MJ, Wagenknecht LE Differences in LDL Oxidizability by Glycemic Status. *Diabetes Care* 2003; 26: 1449-1455.
14. Oranje WA, Rondas-Colbers GJ, Swennen GN, Wolffenbuttel BH. Lipid peroxidation in type 2 diabetes: relationship with macrovascular disease? *Neth J Med* 1998; 53: 61-8.
15. Basta G, Schmidt AM, De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. *Cardiovasc Res* 2004 1; 63: 582-92.
16. Basta G, Del Turco S, De Caterina R. [Advanced glycation endproducts: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes]. *Recenti Prog Med.* 2004; 95: 67-80.
17. Steinberg D. Low Density Lipoprotein Oxidation and Its Pathobiological Significance. *The J Biol Chem* 1997; 272: 20963-20966.
18. Holvoet P, Collen D. Oxidation of low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 137(Suppl): S33-S38.
19. Virella G, Lopes-Virella M F. Lipoprotein Autoantibodies: Measurement and Significance. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 499-505.
20. Watson DA, Subbanagounder G, Welsbie DS, Faulli KF, Navab M, Jung M E, Fogelman AM, Berliner JA. Structural Identification of a Novel Pro-inflammatory Epoxyisoprostane Phospholipid in Mildly Oxidized Low Density Lipoprotein. *The J Biol Chem* 1999; 274: 24787-24798.
21. Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, Collen D, Muls E, Van de Werf F. Circulating Oxidized LDL Is a Useful Marker for Identifying Patients With Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 844-848.
22. Steinbrecher U P. Oxidation of Human Low Density Lipoprotein Results in Derivatization of Lysine Residues of Apolipoprotein B by Lipid Peroxide Decomposition Products. *The J Biol Chem* 1987; 262: 3603-3608.
23. Wagner A M, Jorba O, Rigla M, Bonet R, de Leiva A, Ordoñ n J, Pe´ rez A. Effect of Improving Glycemic Control on Low-Density Lipoprotein Particle Size in Type 2 Diabetes. *Metabolism* 2003; 52: 1576-1578

24. Heller R F, Descamps O, Hondekijn JC. LDL oxidation: therapeutic perspectives. *Atherosclerosis* 1998; 137(Suppl): S25-S31.
25. Marina a Mironova; Richard L Klein; Gabriel T Virella; Maria F Lopes-Virella. Anti-modified LDL antibodies, LDL-containing immune complexes, and susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 1033-1042.
26. Shoenfeld Y, Wu R, Dearing LD, Matsuura E. Are Anti-Oxidized low-density lipoprotein antibodies pathologic or protective? *Circulation* 2004; 110: 2552-2558.
27. Scheffer PG, Bos G, Volwater HGFM, Dekker JM, Heine RJ, Teerlink T. Associations of LDL size with in vitro oxidizablity and plasma level of in vivo oxidized LDL in type 2 diabetic patients. *Diabetic Medicine* 2003; 20: 563-7.
28. MacDonald-Wicks L, Gibson LZ, Godfrey D-M, Green JM, Horan BP, Monger KL, Wischer RM, Garg ML. Oxidised LDL in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004; 13(Suppl): S65.