مجله دیابت و لیپید ایران. پاییز ۱۳۸۴؛ دوره ۵ (شماره ۱): ۲۳-۱۹

ارتباط اندازه LDL با کنترل گلیسمی در بیماران دیابتی نوع دو

فرانک کازرونی[۱]، ابراهیم جوادی*[۲]

چکیده

مقدمه: خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی در بیماران دیابتی، ۲ تا ٤ برابر افراد غیر مبتلا به دیابت است. مطالعات انجام شده حاکی از آن است که عناصر دیس لیپیدمی، مستقل از یکدیگر دارای اثرات اتروژنیک می‌باشند؛ در شرایطی که به نظر می‌رسد LDL کوچک و چگال اتروژنیک‌ترین جزء این مجموعه باشد.در این تحقیق به منظور بررسی این‌که آیا کنترل گلیسمی (که توسط میزان HbAlc معین می‌شود) می‌تواند دارای اثرات مطلوب بر اندازه LDL باشد، ارتباط بین HbAlc با اندازه LDL در بیماران دیابتی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌ها: در این تحقیق اندازه LDL در ۸۱ نفر بیمار دیابتی در محدوده سنی ۵۰ تا ۷۰ سال به روش پلی اکریل امیدژل الکتروفورز (PAGE) با گرادیانت غلظتی تعیین شد. BMI داوطلبین پس از اندازه‌گیری قد و وزن آنها محاسبه شد. جهت تعیین غلظت تری گلسیرید و HDL-C از کیت‌های آنزیمی استفاده گردید. HbAlc به روش ایمونوتوربیدومتریک تعیین شد.

یافته‌ها: براساس نتایج، اندازه LDL همبستگی معنی‌داری با تری گلیسیرید (P<۰/۰۵، r=-۰/۲۸۱)، جنسیت (P<۰/۰۵، r=۰/۲۷۶)، HbAlc (P<۰/۰۵، r=-۰/۲۳۲) و HDL-C (P<۰/۰۱، r=۰/۲۱۵) نشان داد. به کمک آنالیز رگرسیون خطی نشان داده شد که تری‌گلسیرید (P<۰/۰٥٤، Standardized β=-۰/۱۹۲)، HDL-C (P<۰/۰۵، Standardized β=۰/۲۱۴) و جنس مؤنث (P<۰/۰٥٦، Standardized β=۰/۱۹۶) به عنوان عوامل مستقل در تعیین اندازه LDL نقش دارند. HbAlc با توجه به Colinearity شدید با HDL-C از مدل حذف شد.

نتیجه‌گیری: علی رغم همبستگی معکوس بین اندازه LDL و HbAlc،HbA1c به عنوان عاملی مستقل در تعیین اندازه LDL در بیماران دیابتی نقش ندارد . بنظر می‌رسد کاهش در میزان HDL-C در نتیجه کنترل ضعیف دیابت باعث کاهش اندازه LDL می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، LDL کوچک و چگال، HbAlc

۱- دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی، بخش بیوشیمی

۲- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران

* ***نشانی***: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم؛ تلفن: ۳-۸۸۰۲۶۹۰۲؛ نمابر: ۸۸۰۲۹۳۹۹؛ پست الکترونیک: emrc@sina.tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۴/۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۸۴/۹/۱۳

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-12]

مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی از علل اصلی مرگ و میر در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ هستند. مطالعات انجام شده حاکی از آن است که خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی در این بیماران ۲ تا ٤ برابر افراد غیر مبتلا به دیابت است [۱]. در کنار عوامل خطر شناخته شدهٔ بیماری‌های قلبی عروقی از جمله هیپرکلسترولمی، افزایش فشار خون، کشیدن سیگار و سابقه فامیلی که فقط ۲۰ تا ۲۵٪ افزایش خطر را در این بیماران توجیه می‌کند، دیس لیپیدمی به عبارتی افزایش لیپوپروتئین‌های غنی از تری گلسیرید، کاهش HDL-C و افزایش LDL کوچک و چگال (dense LDL=d-LDL) به عنوان یکی از علل مهم افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی مطرح می باشد [۲]. مطالعات انجام شده حاکی از آن است که عناصر دیس لیپیدمی مستقل از یکدیگر دارای اثرات اتروژنیک می باشند [۳]، در شرایطی که d-LDL از اتروژنیک‌ترین اجزای این مجموعه شناخته شده است [٤]. به ترتیبی که افرادی که فرم غالب LDL آنها از نوع کوچک و چگال (فنوتیپ B) است سه برابر بیشتر از افرادی که فرم غالب LDL آنها از نوع بزرگ (فنوتیپ A) است در معرض بیماری‌های قلبی عروقی هستند [۵، ٦]. در این تحقیق به منظور بررسی این‌که آیا کنترل گلیسمی که توسط میزان HbAlc نشان داده می‌شود می‌تواند دارای اثر مطلوب بر اندازه LDL باشد، ارتباط HbAlc با اندازه LDL در بیماران دیابتی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌ها

در این مطالعه ۸۱ بیمار دیابتی نوع ۲ (٤٦ زن و ۳۵ مرد) که با توجه به ضوابط WHO قند خون آنها در حالت ناشتا و پس از ۱، ۲ و یا ۳ بار اندازه‌گیری بیش از ۱۲٦mg/dl بود و توسط پزشک بیمار دیابتی نوع ۲ تشخیص داده شده و تحت درمان با انسولین یا داروهای هیپوگلیسمیک بودند؛ مورد بررسی قرار گرفتند. داوطلبین در صورت داشتن معیارهای مورد نظر از جمله عدم وجود سابقه بیماری‌های کلیوی، تیروییدی و کبدی و عدم مصرف سیگار در این تحقیق انتخاب شدند. افراد انتخاب شده نمی بایست تحت درمان با داروهای کاهنده لیپیدی باشند یا حداقل می‌بایست یک ماه قبل از انجام آزمایش مصرف این داروها را قطع کرده باشند [۷].

نمونه خون ۸ صبح پس از ۱۲ تا ١٤ ساعت ناشتا بودن از داوطلبین اخذ شد و به لوله‌های حاوی (۱mg/dl) EDTA و بوتیل هیدروکسی تولوئن (۴/۶μg/ml) به ترتیب به عنوان ضد انعقاد و آنتی اکسیدان منتقل گردید. نمونه پلاسما پس از سانتریفوژ در دور ۲۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه، جدا شده و تا زمان آزمایش در فریزر ۷۰- درجه نگهداری گردید.

جهت تعیین اندازه LDL از روش PAGE با شیب غلظتی ١٦-۲٪ استفاده شده [۸]. پس از تهیه گرادیانت غلظتی به دنبال پلیمریزاسیون ژل و قبل از نمونه‌گذاری، ژل در بافر الکتروفورز به مدت ۲۰ دقیقه تحت جریان ۱۲۵ ولت و دمای ۱۰ درجه قرار گرفت. سپس ٤ میکرولیتر نمونه پلاسمای داوطلب با محلول سوکروز ۵۰٪ و برموفنل ۰/۰۱٪ به نسبت ٤: ۱ مخلوط شده به کمک سرنگ هامیلتون به چاهک‌ها اضافه شد. در هر نوبت همراه با نمونه داوطلبین د ردو چاهک مختلف دو نوع استاندارد متفاوت اضافه شد و در شرایط یکسان همراه با نمونه‌ها الکتروفورز صورت گرفت. یکی از دو نوع استاندارد را مخلوط استاندارد پروتئینی با قطر معین (شامل تیروگلوبولین با قطر ۱۷ نانومتر، فریتین با قطر ۱۲/۲ نانومتر، کاتالاز با قطر ۱۰/٤ نانومتر، لاکتات دهیدروژناز با قطر ۸/۱ نانومتر و آلبومین با قطر ۷ نانومتر کیت، Biotech, Pharmacia) و استاندار دوم را ذرات لاتکس با قطر ۵۰ نانومتر تشکیل می داد (Alfa Aesar). ذرات لاتکس قبل از نمونه گذاری می بایست به نسبت ۱:۱ با آب مقطر رقیق می شد. پس از نمونه‌گذاری در آغاز کاربه ترتیب جریان ۱۵ ولت به مدت ۱۵ دقیقه و جریان ۷۰ ولت به مدت ۲۰ دقیقه برقرار شد و سپس الکتروفورز تحت جریان با ولتاژ ثابت ۱۲۵ ولت به مدت ۲٤ ساعت و در دمای ۱۰ درجه ادامه یافت. در پایان قطعه ای از ژل که حاوی مخلوط استاندارد پروتئینی بود از بقیه ژل جدا شده بطور جداگانه توسط رنگ کوماسی R-250 رنگ‌آمیزی گردید. جهت

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-12]

رنگ‌آمیزی نمونه‌ها و استاندارد لاتکس از رنگ Oil Red O استفاده شد. سپس به ازای هر ژل براساس لگاریتم قطر هر یک از استانداردها و Rf مربوط به هر یک منحنی استانداردی رسم شد. از این منحنی به منظور تعیین فنوتیپ داوطلبین از لحاظ LDL استفاده شد. جهت تعیین غلظت تری‌گلسیرید و گلوکز خون از روش‌های آنزیمی استفاده شد (کیت زیست شیمی). در اندازه گیری HDL-C به روش رسوبی ابتدا با استفاده از پلی آنیون‌ها و در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی لیپوپروتیین‌ها حاوی apoB-100 رسوب داده شدند و پس از رسوب این لیپوپروتیین‌ها HDL-C در محلول رویی به روش آنزیمی اندازه‌گیری شد (کیت زیست شیمی). HbAlc به روش ایمونوتوربیدومتریک اندازه گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. آزمون‌های مورد استفاده شامل Independent t-tet، ضریب همبستگی پیرسون و آزمون رگرسیون بود. P-value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار محسوب شد.

یافته‌ها

در جدول ۱ فراوانی فنوتیپ A و B در بیماران دیابتی آورده شده است. براساس نتایج حاصل فراوانی فنوتیپ B در بیماران دیابتی ۵۹ درصد و فراوانی فنوتیپ A در این بیماران ٤١ درصد بود. به علاوه چنانچه در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود فراوانی این دو فنوتیپ به تفکیک جنسیت نیز در این بیماران بررسی شد. نتایج حاصل حاکی از آن است که فراوانی فنوتیپ B در مردان دیابتی ۷٤/۳ درصد و فراوانی این فنوتیپ در زنان دیابتی ٤۷/۸ درصد بود.

در جدول ۲ میانگین متغیرهای سن، BMI، تری‌گلیسرید، HDL-C و HbAlc در بیماران دیابتی با فنوتیپ‌های A و B مقایسه شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که میانگین سن در این دو گروه تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهد. غلظت تری‌گلیسرید در دیابتی‌ها با فنوتیپ B به‌طور معنی‌داری بیشتر از بیماران با فنوتیپ A بود (۲۱۰/۳±۱۰۳/۲mg/dl در مقابل ۱۵۵/۱±۵۵/۸mg/dl و P<۰/۰۵) میزان HDL-C در بیماران دیابتی با فنوتیپ A بیشتر از بیماران با فنوتیپ B بود (٤۳/۳±۷/۳mg/dl در مقابل ۵۳/۵±۱۶/۵mg/dl و P<۰/۰۵). BMI در دیابتی‌ها با فنوتیپ B بطور معنی‌داری بیشتر از BMI بیماران دیابتی با فنوتیپ A بود (۲۷/۷±۱/۴kg/m2 در مقابل ۲٦/۵±۱/۴kg/m2 و P<۰/۰۱) به علاوه همان‌گونه که در جدول ۲ آورده شده است HbAlc بیماران دیابتی با فنوتیپ B بطور معنی‌داری بیشتر از بیماران دارای فنوتیپ A بود (۹/۱±٪۲ در مقابل ۷/۶±٪۱/۸ و P<۰/۰۱).

به منظور بررسی همبستگی بین اندازه LDL و متغیرهای فوق از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. همانگونه که در جدول ۳ آورده شده است بین اندازه LDL با تری گلسیرید (P<۰/۰۵، r=-۰/۲۸۱)، جنسیت (P<۰/۰۵، r=-۰/۲۷۶ و HbAlc (P<۰/۰۵، r=-۰/۲۳۲) همبستگی معکوس و با HDL-C (P<۰/۰۱، r=۰/۲۱۵) همبستگی مستقیم دیده شد.

جدول ۱- فراوانی افراد با فنوتیپ A و B در بیماران دیابتی

	فنوتیپ		تعداد کل
	A	B	
زن	٢٤ (٪۵۲/۲)	۲۲(٪٤۷/۸)	٤٦
مرد	۹(٪۲۵/۷)	۲٦(٪۷٤/۳)	۳۵
تعداد کل	۳۳(٪٤۱)	٤۸(٪۵۹)	۸۱

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-12]

جدول ۲- مقایسه میانگین متغیرهای پیوسته در بیماران دیابتی با فنوتیپ A و B

	فنوتیپ A	فنوتیپ B	P Value
	n = ۳۳	n = ٤٨	
سن (سال)	٥٧/٢ ± ٦	٥٦/٧ ± ٦/٧	NS
kg/m2 BMI	٢٦/٥ ± ١/٤	٢٧/٧ ± ١/٤	P<٠/٠١
تری گلسیریدmg/dl	١٥٥/١ ± ٥٥/٨	٢١٠/٣ ± ١٠٣/٢	P<٠/٠٥
(mg/dl) HDL-C	٥٣/٥ ± ١٦/٥	٤٣/٣ ± ٧/٣	P<٠/٠٥
(%) HbAlc	٧/٦ ± ١/٨	٩/١ ± ٢	P<٠/٠١

جدول ۳- ضریب همبستگی (r) بین اندازه LDL و متغیرهای پیوسته در بیماران دیابتی

	اندازه LDL	
	r	P value
سن (سال)	-٠/٠٤٠	NS
جنسیت (زن / مرد)	-٠/٢٧٦	P<٠/٠٥
تری گلسیرید (mg/dl)	-٠/٢٨١	P<٠/٠٥
(kg/m2) BMI	-٠/٠٩٢	NS
(mg/dl) HDL-C	٠/٢١٥	P<٠/٠١
(٪) HbAlc	-٠/٢٣٢	P<٠/٠٥

در مدل رگرسیون خطی اثر متغیرهای تری گلیسرید، HDL-C، جنسیت و HbAlc به عنوان عوامل مستقل تعیین کننده اندازه LDL بررسی شد در مدل چند متغیره HbAlc بدلیل وجود Colinearity با HDL-C از مدل خارج گردید. در نهایت TG رابطه معکوس (β=٠/١٩٢ Standardized) و HDLC (Standardized β=٠/٢١٤) و جنس مونث (Standardized β=٠/١٩٦) رابطه مستقیمی با سایز LDL در سطح معنی داری P<٠/٠٥ نشان دادند.

بحث

در این تحقیق فراوانی فنوتیپ B در بیماران دیابتی بیشتر از فنوتیپ A بود. اگر چه عوامل مؤثر در افزایش فراوانی d-LDL در بیماران دیابتی به خوبی شناخته نشده است؛ به‌نظر می‌رسد هیپرتری‌گلیسریدمی که معمولاً در این‌دسته بیماران مشاهده می شود باعث افزایش غلظت VLDL-TG می گردد. در این شرایط روند انتقال کلسترول و تری‌گلیسرید بین VLDL-TG و LDL درحضور کلسترول استر ترانسفر پروتئین تسریع می‌شود و بدین ترتیب LDL غنی از تری‌گلیسرید حاصل می‌گردد. LDL غنی از تری‌گلیسرید سوبسترای مناسبی برای لیپاز کبدی محسوب می‌شود و تحت تأثیر این آنزیم به d-LDL تبدیل می‌شود. نشان داده شده است که در بیماران دیابتی فعالیت لیپوپروتیین لیپاز معمولاً کاهش یافته در شرایطی که فعالیت لیپاز کبدی افزایش می‌یابد تغییر در فعالیت این دو آنزیم نیز تشکیل d-LDL را تسهیل می دهد [۹]. براساس نتایج مطالعه حاضرو منطبق با نتایج مطالعات دیگر فنوتیپ B با

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-12]

غلظت‌های بالاتر تری‌گلیسرید و غلظت‌های پایین‌تر-HDL C در مقایسه با فنوتیپ A همراه می باشد این پروفایل لیپیدی تحت عنوان فنوتیپ لیپوپروتیین اتروژن نامیده می‌شود [۱۰]. در این تحقیق همبستگی معکوس بین اندازه LDL با تری گلیسرید، جنسیت و HbAlc و همبستگی مستقیم با HDL-C مشاهده شد. Erbey و Jenkins در مطالعات مجزا همبستگی معکوس بین اندازه LDL با HbAlc را گزارش کردند [۱۱، ۱۲] در گزارش Pruhell و همکارانش نیز عنوان شد که در بیماران دیابتی تحت درمان، کاهش HbAlc با افزایش اندازه LDL همراه است [۱۳]. در این تحقیق به کمک مدل رگرسیون خطی نشان داده شد که از بین متغیرهای مورد مطالعه TG، HDL-C و جنسیت به عنوان عوامل مستقل در تعیین اندازه LDL نقش دارند (البته با توجه به نتایج انالیزاماری این پارامترها در مرز معنی‌داری قرار داشتند). مطالعات مختلفی حاکی از آن است که تری‌گلسیرید و HDL-C مستقل از دیگر پارامترها همبستگی معنی‌داری با اندازه LDL-C نشان داده و از شاخص‌های مهم تعیین کننده‌اندازه LDL هستند [۱٤]. در این تحقیق دیده شد که علی رغم همبستگی معکوس موجود بین HbAlc و اندازه LDL، HbAlc به عنوان یک عامل مستقل در تعیین اندازه LDL نقش ندارد. با توجه به این‌که در مدل رگرسیون Colinearity شدیدی بین HbAlc و HDL-C دیده شد بنظر می‌رسد کنترل ضعیف دیابت از طریق کاهش در سطح HDL-C [۱۳] باعث کاهش اندازه LDL می‌شود.

نتیجه‌گیری نهایی این‌که بنظر می‌رسد گرچه HbAlc به عنوان عامل مستقل در تعیین اندازه LDL نقش ندارد از طریق کاهش در میزان HDL-C تأثیر خود را بر اندازه LDL می‌گذارد.

مآخذ

1. Pyorala K, Laakso M, Uusitupa M. Diabetes and atherosclerosis: and epidemiologic view. *Diabetes Metab Rev* 1987; 3: 463-524.
2. Kreisberg RA. Diabetic dyslipidemia. The American Journal of Cardiology 1988; 82(12A): 67U-73U.
3. Spanheimer RG. Reducing cardiovascular risk in diabetes. *Postgraduate Medicine* 2001; 109: 26-36.
4. Taskinen MR.Diabetic dyslipidemia from basic research to clinical practice. *Diabetologia* 2003; 46: 733-749.
5. Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfraction: relative contribution of small dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis* 1994; 106: 241-253.
6. Packard C, Caslake M, Seperd J. The role of small dense low-density lipoprotein (LDL): a new look. *Int J Cardiology* 2000; 74: 17-22.
7. Prescott J, Owens D, Collins P. The fatty acid distribution in low density lipoprotein in diabetes. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1439: 110-116.
8. Nichols AV, Krauss RM, Musliner TA. Nondenaturing polyacrylamide gradient gel electrophoresis. Methods Enzymol 1986; 18: 417-431.
9. Taskinen MR. Insulin resistance & lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1996; 6: 153-160.
10. Austin MA, King MC, Vranizan Km, et al. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990; 82: 495-506.
11. Erbey JR, Robbins D, Forrest K, et al. Low density lipoprotein particle size & coronary artery disease in child hood-onset type 1 diabetes population. *Metabolism* 1999; 48: 531-534.
12. Jenkins AJ, Lyons TJ, Zheng D, et al. Serum lipoproteins in the diabetes control & complication trial. *Diabetes Care* 2003; 26: 810-818.
13. Purnell JQ, Marcovina SM, Hoaknson JE, et al. Levels of lipoprotein (a), apolipoprotein B & lipoprotein cholesterol distribution in IDDM: Results from follow up in the DCCT. *Diabetes* 1995; 44: 1218-1226.
14. Mykkanen L, Haffner SM, Rainwater DL. Relationship of LDL size to insulin sensitivity in normoglycemic men. *Arterioscler Throm Vascl Biol*. 1997; 17: 1447-1453.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-12]