پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۶، صفحات ۲۸۵ تا ۲۸۷

گزارش کوتاه
(Brief Report)

مقایسه روش مستقیم با روش رسوبی در سنجش کلسترول HDL-C

دکترمهدی هدایتی، مریم‌السادات دانشپور، ایرج عظیم‌زاده، سارا ایزدی‌اربابی *

* مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: *اندازه‌گیری HDL-C در بررسی بیماریهای قلبی عروقی اهمیت دارد. روش رسوبی، روش رایج اندازه گیری HDL-C در کشورمان محسوب می‌گردد. روش مستقیم اندازه‌گیری HDL-C گسترش زیادی پیدا کرده است. هدف از این مطالعه، مقایسه نتایج حاصل از دو روش به منظور جایگزینی آنها بود.*

روش بررسی: *تعداد ۲۱۲ نفر (۹۸ مذکر، ۱۱۴ مونث) با میانگین سنی ۲۰ ± ۳۹ سال جهت این بررسی انتخاب شدند. میزان HDL-C افراد مذکور همزمان با دو روش رسوبی و مستقیم اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها: *میانگین HDL-C در روشهای رسوبی و مستقیم به ترتیب ۴۳/۵±۱۰/۲mg/dl و ۴۵/۲±۱۰/۹ بود. نتایج روش مستقیم ۳/۹٪ بالاتر از روش رسوبی بود (P=۰/۰۰۰). همبستگی خوبی میان نتایج دو روش مشاهده شد (r=۰/۹۴۳). درصد ضریب تغییرات درون آزمونی روشهای رسوبی و مستقیم به ترتیب کمتر از ۵/۶ و ۳/۲ بود. روش مستقیم زمان آزمایش را به نصف کاهش و هزینه را تا ۳ برابر افزایش داد.*

نتیجه‌گیری: *طبق این بررسی سنجش HDL-C به‌روش مستقیم دقت و سرعت بیشتری داشته و همبستگی خوبی با روش رسوبی دارد و چنانچه قیمت روش مستقیم تعدیل گردد جایگزین مناسبی برای روش رسوبی خواهد بود.*

واژگان کلیدی: *HDL-C، روش رسوبی، روش مستقیم.*

مقدمه

بیماریهای قلبی عروقی بزرگترین علت مرگ و میر در جوامع بشری محسوب می‌شوند (۱). تقریبا به ازای کاهش هر ۱mg/dl در سطح سرمی HDL-C، خطر ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی ۲ تا ۳ درصد افزایش می‌یابد (۳،۲). دارا بودن آپوپروتئین‌های A و فقدان آپوپروتئین B مهمترین وجه تمایز و اساس تمام روشهای جداسازی و اندازه‌گیری HDL-C است (۴). مبنای اندازه‌گیری در روش رسوبی، رسوب دادن کلسترول غیر HDL-C و اندازه‌گیری HDL-C در محلول فوقانی است. در روشهای مستقیم به منظور جلوگیری از واکنش کلسترول غیر HDL-C عمدتا از Ab ضدآپو B، پلی‌اتیلن گلیکول و یا دکستران استفاده می‌شود (۵،۶). هدف از این تحقیق، بررسی مقایسه نتایج دو روش رسوبی و مستقیم می‌باشد.

مواد و روشها

در مرداد سال ۱۳۸۵، تعداد ۲۱۲ نفر با میانگین سنی ۲۰±۳۹ سال (۹۸ مذکر، ۱۱۴ مونث) جهت بررسی میزان قند و چربی خونشان به واحد بررسی قند و چربی مطالعه آینده‌نگر قند و چربی (۷) در مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم‌پزشکی شهیدبهشتی مراجعه کردند. از مراجعه‌کنندگان ۵ میلی‌لیتر خون اخذ شد و بعد از جداسازی سرم (۱۰ دقیقه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه) میزان HDL-C نمونه‌ها با هر دو روش رسوبی و مستقیم اندازه‌گیری شد. کیت‌های هر دو روش از شرکت پارس آزمون (تهران،

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات چاقی، دکتر مهدی هدایتی **(email:** Hedayati@erc.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۷/۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۵/۲۳

ایران) خریداری شد. از دستگاه اتوآنالایزر سلکترای ۲ ساخت آلمان استفاده شد. جهت بررسی دقت از تکرار ده باره سه نمونه با غلظتهای مختلف بهره گرفته شد. هزینه خرید کیتها، مواد مصرفی، دستمزد و طول زمان انجام آزمایش، برای بررسی هزینه تمام شده استفاده شد.

یافته‌ها

مشخصات شرکت‌کنندگان و میزان HDL-C اندازه‌گیری شده به دو روش در جدول ۱ نشان داده شده است. میانگین HDL-C در روشهای رسوبی و مستقیم به ترتیب ۴۳/۵±۱۰/۲mg/dl و ۴۵/۲±۱۰/۹mg/dl بود. در آزمون t، نتایج روش مستقیم ۴٪ افزایش معنی‌دار نسبت به روش رسوبی داشت (P=۰/۰۰۰). ضریب تغییرات درون‌آزمونی روشهای رسوبی و مستقیم به ترتیب کمتر از ۵/۶٪ و ۳/۲٪ به‌دست آمد. دو روش رسوبی و مستقیم در سنجش HDL-C همبستگی خوبی با ضریب هبستگی۰/۹۴۳ داشتند. مقایسه زمان انجام آزمایش و هزینه به ازای هر ۴۰ تست در دو روش حاکی از تقلیل ۵۰ درصدی زمان پاسخ‌دهی و افزایش ۳ برابری قیمت تمام شده در روش مستقیم می‌باشد.

جدول ۱- مشخصات سنی و جنسی و میزان HDL-C شرکت‌کنندگان در طرح سنجش مقایسه‌ایی HDL-C

	مونث	مذکر	کل
تعداد	۱۱۴	۹۸	۲۱۲
سن	۳۷±۱۹	۴۲±۲۲	۳۹±۲۰
سطح سرمی HDL-C (mg/dl)			
رسوبی	۴۵/۹±۹/۴	۳۹/۷±۱۰/۰	۴۳/۵±۱۰/۲
مستقیم	۴۹/۴±۱۰/۳	۴۲/۱±۱۰/۹	۴۵/۲±۱۰/۹

بحث

بدلیل نقش لیپوپروتئین‌ها در بیماریهای قلبی عروقی، سنجش HDL-C اهمیت روزافزونی پیدا کرده است. با پیشرفت روشهای بیولوژی مولکولی و نقش ژنها، هنوز اهمیت ژنها و تاثیر آنها در بیماریهای قلبی عروقی در کنار سنجش HDL-C تفسیر می‌شوند (۱۰-۷). روشهای اندازه‌گیریHDL-C به دو گروه اساسی تقسیم می‌شوند. گروه اول روشهای دستگاهی مانند انواع اولتراسانتریفیوژ (۱۱)، الکتروفورزهای کمی (۱۲)، روشهای کروماتوگرافی (۱۳) و طیف‌سنجی مغناطیس هسته (۱۴) می‌باشند. هزینه بالای خرید دستگاهها، مواد مصرفی و پرسنل مجرب، زمان بر بودن و پیچیدگی آن سبب شده است که در آزمایشگاههای بالینی جایگاه خاصی نداشته باشند. گروه دوم شامل انواع روشهای رسوبی (۱۵) و روشهای مستقیم است (۱۶). این روشها هزینه پرسنلی کمتر و سرعت پاسخ‌دهی بالاتر داشته و اجرای آنها توسط پرسنل رایج آزمایشگاههای بالینی امکان‌پذیر است. از آنجایی‌که محصولات مختلف در کشورهای متفاوت در دسترس است، گزارشات از کشورهای متعددی ارائه شده است که سازگاری و امکان جایگزینی دو روش را مطرح نموده‌اند (۱۸،۱۷). نتیجه این تحقیق نیز حاکی از همبستگی قابل قبول دو روش مورد بررسی با ضریب هبستگی ۰/۹۴۳ بود. آزمون آماری t افزایش کمتر از ۴٪ نتایج روش مستقیم نسبت به روش رسوبی را نشان داد که از لحاظ روش‌شناسی و تشخیص بالینی اهمیت چندانی ندارد.

از لحاظ بالینی کاهش هر ۱۰mg/dl مبنای قضاوت در خصوص افزایش خطر ۲ تا ۳ درصدی ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر افزایش ۴٪ معادل افزایش ۳mg/dl-۲ در سطح سرمی HDL-C می‌باشد. از طرف دیگر دقت روشهای مستقیم دو برابر روشهای رسوبی است (۱۹). در این تحقیق نیز درصد ضریب تغییرات درون آزمونی روشهای رسوبی و مستقیم (در کلیه غلظتها) به‌ترتیب کمتر از ۵/۶ و ۳/۲ درصد بدست آمد. از آنجایی‌که در روش مستقیم مرحله رسوب‌دهی دستی و خطاهای عدم دقت آن حذف می‌شود، کاهش درصد ضریب تغییرات این روش توجیه‌پذیر است. طبق گزارش انجمن پاتولوژیست‌های آمریکا در سال ۱۹۹۷ تعداد ۵۵۰ آزمایشگاه در سطح آمریکا از روشهای مستقیم استفاده کردند و آمار سال ۲۰۰۰ حاکی از استفاده ۲۵۷۸ آزمایشگاه از این روشها بوده است (۲۰). بررسی هزینه مواد مصرفی و پرسنلی در این تحقیق، حاکی از افزایش حدودا ۳ برابری قیمت تمام شده در روش مستقیم نسبت به روش رسوبی می‌باشد اما زمان کل اجرای آزمایش به نصف تقلیل می‌یابد. در نهایت چنانچه هزینه خرید کیتهای مربوط به روشهای مستقیم کاهش یابد، این روش جایگزین بسیار مناسبی برای روشهای رسوبی غیرمستقیم در کشورمان خواهد بود.

REFERENCES

1. Skinner ER. High-density lipoprotein subclasses. Curr Opin Lipidol 1994;5:241-47.

2. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. Circulation 1989;79:8-15.

۳. هدایتی م، دانشپور مس. ارزیابی روشهای سنجش کلسترول در لیپوپروتئینهای با دانسیته بالا (HDL-C). مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، ۱۳۸۴؛ دوره هفتم، شماره ۴، صفحات ۳۶۵ تا ۳۷۳.

4. Gibson JC, Rubinstein A, Brown WB. Precipitation of apo E-containing lipoproteins by precipitation reagents for apolipoprotein B. Clin Chem 1984;30:1784-88.

5. Reed RG. In search of the ideal measure of high-density lipoprotein. Clin Chem 1997:43:1809-10.

6. Nauck M, Marz W, Haas B, Wieland H. Homogeneous assay for direct determination of high-density lipoprotein cholesterol evaluated. Clin Chem 1996;42:424-29.

۷. دانشپور مس، هدایتی م، عزیزی ف. بررسی ارتباط فعالیت CETP با فراوانی پلی‌مرفیسم Taq I, -629A/C در ژن CETP و میزان HDL-C. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، ۱۳۸۴؛ دوره هفتم، ضمیمه شماره ۴، صفحات ۳۸۷ تا۳۹۱.

۸. دانشپور مس، هدایتی م، عزیزی ف. ارتباط پلی‌مورفیسم ژنC-514T در ژن LIPC، با میزان کم HDL-C در جمعیت تهران. مجله پزشکی کوثر، ۱۳۸۴؛ دوره ۱۰، شماره ۲، صفحات ۱۳۵ تا ۱۴۲.

۹. دانشپور مس، هدایتی م، عزیزی ف. ارتباط فراوانی پلی‌مورفیسم A/C۶۲۹- و TaqI در ژن CETP، با میزان HDL-C در تهران. مجله پژوهش در پزشکی، ۱۳۸۴؛ سال ۲۹، شماره ۱، صفحات ۱۳ تا ۱۷.

10. Daneshpour M, Hedayati M, Azizi F. Hepatic lipase C-514T polymorphism and its association with high-density lipoprotein cholesterol level in Tehran. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2006;13(1):101-3.

11. Fuchart JC, Bard JM. Lipoprotein particle measurement: an alternative approach to classification of lipid disorders. Curr Opin Lipidol 1991;2:362-66.

12. Contois J, Gillmor R, Moore R, Contois L, Macer J, Wu A. Quantitative determination of cholesterol in lipoprotein fractions by electrophoresis. Clin Chim Acta 1999;282:1-14.

13. Usui S, Nakamura M, Jitsukata K, Nara M, Hosaki S, Okazaki M. Assessment of between-instrument variations in a HPLC method for serum lipoproteins and its traceability to reference methods for total cholesterol and HDL-C. Clin Chem 2000;46:63-72.

14. Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, editors. Handbook of lipoprotein testing. AACC Press, Washington, 2000;p:609-23.

15. Warnick G, Benderson J, Albers JJ. Dextran sulfate-Mg2+ precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. Clin Chem 1982;28:1379-88.

16. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, et al. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated α-cyclodextrin. Clin Chem 1995;41:717-23.

17. Hoang MP, Hirany SV, Parupia J, Devaraj S, Jialal I. Comparison of two homogeneous high-density lipoprotein cholesterol assays. Arch Pathol Lab Med 1998;122:1005-9.

18. Lin M, Hoke C, Ettinger B. Evaluation of homogeneous high-density lipoprotein cholesterol assay on a BM/Hitachi 747-200 analyzer. Clin Chem 1998;44:1050-52.

19. Nauck M, März W, Wieland H. New immunoseparation-based homogeneous assay for HDL-Cl compared with three homogeneous and two heterogeneous methods for HDL-C. Clin Chem 1998;44:1443-51.

20. Warnick G.R, Nark M and Rifai N. Evaluation of methods for measurement of HDL-C: From Ultracentrifugation to homogenoius assay. Clin Chem 2001;42:1579-96.