

## بررسی مسیرهای جذب و سنتز کلسترول در بیماران قلبی - عروقی

فهیمة امیرخانی<sup>۱</sup>، غلامرضا نمازی<sup>۲</sup>، بنت‌الهدی حیات مقدم<sup>۱</sup>، مرتضی پورفرزام<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

#### چکیده

**مقدمه:** بیماری‌های عروق کرونر، از جمله شایع‌ترین بیماری‌های غیر واگیر در جوامع کنونی به شمار می‌روند. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی ارتباط بین مسیرهای سنتز و جذب کلسترول از طریق بررسی سطح نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول در بیماران قلبی - عروقی بود که تاکنون در ایران انجام نشده است.

**روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۱۳۰ بیمار قلبی - عروقی که تحت آنژیوگرافی قرار گرفته بودند، انجام گردید. بر اساس نتایج به دست آمده از آنژیوگرافی، بیماران به دو گروه شامل ۷۵ بیمار دارای انسداد عروق کرونر و ۵۵ بیمار بدون انسداد عروق کرونر تقسیم شدند. نمونه‌ی خون ناشتا از بیماران جمع‌آوری شد و پلاسمای حاصل جهت اندازه‌گیری نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول به روش گاز کروماتوگرافی - طیف‌سنجی جرمی (GC-MS یا Gas chromatography-mass spectrometry) مورد استفاده قرار گرفت.

**یافته‌ها:** سطح نشانگرهای جذب کلسترول در بیماران دارای انسداد عروق کرونر نسبت به بیماران بدون انسداد عروق کرونر اندکی افزایش را نشان داد که این افزایش تنها در مورد کلسترانول معنی‌دار بود ( $P < 0/050$ ). تغییر معنی‌داری در سطح نشانگرهای سنتز کلسترول بین دو گروه مشاهده نشد ( $P > 0/050$ ).

**نتیجه‌گیری:** تاکنون ارتباط بین مسیرهای سنتز و جذب کلسترول در بیماران قلبی - عروقی در ایران انجام نشده است و تحقیق حاضر برای اولین بار این نتایج را گزارش نمود. با توجه به شیوع به نسبت بالای بیماری‌های قلبی - عروقی (CVD یا Cardiovascular diseases) و اهمیت متابولیسم کلسترول در پاتولوژی این بیماری‌ها، درک ارتباط بین مسیرهای سنتز و جذب کلسترول می‌تواند در درک بهتر برخی از مکانیسم‌های پاتوژنز این بیماری‌ها به منظور کمک به پیشگیری و درمان مؤثرتر عوارض بیماری در آینده مورد استفاده قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** انسداد عروق کرونر، کلسترول، گاز کروماتوگرافی - طیف‌سنجی جرمی

**ارجاع:** امیرخانی فهیمة، نمازی غلامرضا، حیات مقدم بنت‌الهدی، پورفرزام مرتضی. بررسی مسیرهای جذب و سنتز کلسترول در بیماران قلبی - عروقی.

مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۲۳): ۳۸۵-۳۹۱

#### مقدمه

بیماری‌های عروق کرونر، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عصر حاضر به شمار می‌رود. عوامل مختلفی بر روی عملکرد طبیعی شریان‌های کرونری که وظیفه‌ی خون‌رسانی به عضله‌ی قلب را بر عهده دارند، تأثیر می‌گذارد که از جمله مهم‌ترین عوامل خطر شناخته شده می‌توان به مواردی همچون کلسترول بالا، چربی خون بالا، مصرف سیگار، پرفشاری خون، دیابت شیرین، چاقی و بی‌حرکی اشاره نمود که با گذشت زمان، باعث ایجاد انسداد در شریان‌ها می‌شوند و خون‌رسانی به عضله‌ی قلب را مختل می‌کنند (۱).

مقادیر بالای کلسترول، لیپوپروتئین کم‌چگالی

(Low-density lipoprotein cholesterol یا LDL-C) و سایر

لیپوپروتئین‌های آتروژنیک، به عنوان عوامل خطر اصلی بیماری‌های قلبی - عروقی (CVD یا Cardiovascular diseases) در نظر گرفته می‌شوند. سطح کلسترول تام (Total cholesterol یا TC) پلازما به طور بالقوه با بیماری‌های قلبی ایسکمیک ارتباط دارد و از این‌رو، کاهش کلسترول خون برای کاهش خطر ابتلا به CVD ضروری است. علاوه بر داروهای کاهنده‌ی کلسترول که به طور عمده یا با مهار مسیر سنتز کلسترول (مانند استاتین‌ها) و یا با کاهش جذب کلسترول‌های غذایی (مانند رزین‌های جاذب کلسترول و داروی ازتیمایب) عمل می‌کنند، استفاده از استروئول‌های گیاهی غذایی

۱- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی و مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: pourfarzam@pharm.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: مرتضی پورفرزام

مبتلا به بیماری‌های میکروسکوپی مانند گلبول قرمز داسی شکل، بیماری‌های هماتولوژیک مربوط به گلبول‌های قرمز (هموگلوبینوپاتی‌ها) و افرادی که طی چهار ماه قبل از نمونه‌گیری خون دریافت کرده و یا به فرد دیگری خون داده بودند، از پژوهش خارج شدند.

پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتا بودن، از هر نمونه ۱۵ میلی‌لیتر خون سیاهرگی گرفته شد و در لوله‌های هپارینه جمع‌آوری گردید. سپس پلاسماي خون‌ها بلافاصله پس از سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه از سلول‌ها جدا و تا موقع آنالیز در لوله‌های اپندورف با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. شاخص‌های بیوشیمی با استفاده از کیت‌های روتین آزمایشگاهی و دستگاه Hitachi 912 (شرکت Hitachi، ژاپن) و آنالیز استرول‌ها نیز با استفاده از روش GC-MS (۱۰) انجام شد.

ابتدا ۵۰ میکرولیتر از پلاسماي هر بیمار در لوله‌ی شیشه‌ای درپوش دار حاوی ۵۰ میکرولیتر استاندارد داخلی (۵-آلفا کلستان با غلظت ۱ میلی‌مولار) ریخته شد. ۱ میلی‌لیتر آب مقطر با خلوص کروماتوگرافی به آن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. در مرحله‌ی بعد، ۳/۵ میلی‌لیتر هگزان به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۲ دقیقه ورتکس گردید و پس از قرار دادن لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط، فاز رویی با استفاده از پیت پاستور به لوله‌ی تمیز دیگری منتقل گردید. استخراج با هگزان تکرار و فازهای هگزان مخلوط شد. سپس حلال با استفاده از گاز نیتروژن تبخیر و نمونه‌ها خشک گردید. برای مشتق‌سازی، ۳۰ میکرولیتر پیریدین و ۷۰ میکرولیتر

*N,O-bis-trimethylsilyl-trifluoroacetamide-trimethylchlorosilane* (BSTFA-TMCS) اضافه، درب لوله‌ها محکم بسته و سپس ورتکس شد. در نهایت، تمام لوله‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در آن با دمای ۶۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا مشتق‌سازی کامل گردد. سپس لوله‌ها از آن خارج و مدتی جهت سرد شدن در دمای اتاق گذاشته شد. در مرحله‌ی آخر، ۱ میکرولیتر از هر نمونه با استفاده از دستگاه GC-MS (مدل ۶۸۹۰ Hewlett-Packard، آمریکا) مجهز به دکتور MSD 5793 با استفاده از ستون DB5 (با ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر × ۰/۲۵ میلی‌متر × ۲۵ میلی‌متر) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

شرایط دستگاه GC به این ترتیب بود که تزریق در حالت Split و دمای ۲۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از گاز حامل هلیوم و سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه با دمای آغازین ۱۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه، سپس دما با گرادیان حرارتی ۱۵ درجه در دقیقه به دمای ۲۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد رسید و بعد از آن با گرادیان حرارتی ۸ درجه در دقیقه به دمای ۲۹۰ درجه‌ی سانتی‌گراد افزایش یافت و ۱۵ دقیقه در این درجه‌ی حرارت نگهداشته شد. این

(فیتوسترول‌ها) می‌تواند خطر ابتلا به CVD را کاهش دهد (۳-۲). مکانیسم عمل فیتوسترول‌ها به این صورت است که اتصال کلسترول به میسل‌ها در دستگاه گوارش را مهار می‌کند و میزان کل کلسترول جذب شده را کاهش می‌دهد (۴).

نتایج مطالعات متعدد نشان داده است که اندازه‌گیری استرول‌های پیش‌ساز کلسترول (استرول‌های کلسترولی) و استرول‌های غیر کلسترولی (استرول‌های گیاهی)، روش مناسبی برای تمایز افرادی که دارای جذب بالا هستند از افرادی که دارای سنتز بالا هستند، می‌باشد (۵). تأثیر خوردن کلسترول غذایی بر سلامت انسان‌ها می‌تواند بسیار متفاوت از اثرات افزایش کلسترول خون باشد (۶). امروزه اندازه‌گیری نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول در پژوهش‌های بالینی لیبیدها مورد توجه قرار گرفته است. در بررسی‌های انجام شده توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلف در طی چندین سال بر روی جمعیت متنوعی از مردان و زنان با انواع مختلفی از اختلالات لیپیدی، دیابت و چاقی، کاربرد اندازه‌گیری سرمی نشانگرهای مذکور در روند بیماری‌ها مورد تأیید قرار گرفت (۷-۸). از آنجایی که ممکن است غلظت هر یک از متغیرها تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد، لازم است نشانگرهای جذب و سنتز هر کدام به صورت جداگانه بر اساس میزان کلسترول نرمال‌سازی شود. امروزه روش‌های استاندارد از جمله گاز کروماتوگرافی - طیف‌سنجی جرمی (Gas chromatography-mass spectrometry یا GC-MS) برای اندازه‌گیری نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول توسعه یافته است و در سطح وسیعی استفاده می‌شود (۹). هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی ارتباط بین مسیرهای سنتز و جذب کلسترول از طریق اندازه‌گیری نشانگرهای سنتز شامل دسموسترول، لاتوسترول و ۷-دی‌هیدروکلسترول و نشانگرهای جذب شامل سیتوسترول، کلستانول و کمپسترول در بیماران قلبی - عروقی با و بدون انسداد عروق کرونر و مقایسه‌ی این دو گروه با یکدیگر بود.

### روش‌ها

جمعیت مورد نظر از بین بیماران مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات قلب و عروق صدیقه‌ی طاهره (س) اصفهان انتخاب شدند. گروه شاهد شامل ۵۵ بیمار بود که تحت آنژیوگرافی قرار گرفته بودند و شواهدی دال بر انسداد عروق کرونر در آن‌ها مشاهده نشد (Non-stenosis) و گروه بیمار متشکل از ۷۵ بیمار آنژیوگرافی شده و مبتلا به انسداد عروق کرونر (Stenosis) بودند. نمونه‌های دو گروه به تعداد مساوی از هر دو جنس انتخاب و از لحاظ سنی نیز همسان‌سازی شدند. معیارهای خروج از تحقیق شامل بیماران مبتلا به بیماری‌های کبدی، کلیوی دیالیزی و افراد مبتلا به دیابت تحت درمان با انسولین بود. از طرف دیگر، افراد

برنامه ۲۸/۰۸ دقیقه به طول انجامید. پس از آنالیز تمام نمونه‌ها، متغیرهای دسموسترول، لاتوسترول و ۷-دی‌هیدروکلسترول به عنوان نشانگرهای سنتز و متغیرهای سیتوسترول، کلستانول و کمپسترول نیز به عنوان نشانگرهای جذب کلسترول، به همراه کلسترول تعیین مقدار شدند. زمان بازداری استرول‌های مورد نظر در مقایسه با مخلوط استاندارد استرول شناسایی و مساحت سطح زیر منحنی هر پیک با کمک نرم‌افزار Hewlett Packard Chemstation محاسبه گردید. جهت اندازه‌گیری غلظت هر استرول، مساحت سطح زیر منحنی پیک مربوط به آن برای هر نمونه تعیین شد و پس از تقسیم بر مساحت پیک استاندارد داخلی، با استفاده از منحنی استاندارد برای هر استاندارد استرول به دست آمد (۱۱-۱۲).

متغیرهای کمی اندازه‌گیری شده به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش گردید. بررسی نرمال بودن متغیرهای کمی با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov صورت گرفت و متغیرهایی که توزیع نرمال نداشتند، با استفاده از تبدیلات مناسب نرمال شدند. جهت مقایسه‌ی متغیرهای با توزیع نرمال و غیر نرمال در دو گروه به ترتیب از آزمون‌های Independent t و Mann-Whitney U استفاده گردید. همبستگی بین متغیرهای مورد نظر از طریق تحلیل همبستگی Pearson بررسی شد. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی

### یافته‌ها

بر اساس یافته‌های به دست آمده، اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و شاهد از نظر شاخص‌های سن، جنسیت، گلوکز ناشتای پلاسما (Fasting plasma glucose یا FBG)، شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI)، نسبت دور کمر به دور باسن (Waist-to-hip ratio یا WHR)، فشار خون، فشار خون سیستولیک (Systolic blood pressure یا SBP)، فشار خون دیاستولیک (Diastolic blood pressure یا DBP)، تری‌گلیسرید (Triglycerides یا TGs) و لیپوپروتئین با چگالی بالا (High-density lipoprotein cholesterol یا HDL-C) وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). سطح سرمی TC و LDL-C در بیماران دارای انسداد عروق کرونر در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود و شاید به این دلیل است که تعداد بیشتری از بیماران دارای انسداد عروق کرونر از استاتین‌ها استفاده می‌کنند و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه شاهد و بیمار مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱).

جدول ۱. مقایسه‌ی شاخص‌های آنتروپومتریک و تست‌های بیوشیمیایی در دو گروه بیماران با و بدون انسداد عروق کرونر

| متغیر                               | گروه | شاهد (۵۵ نفر)          | بیمار (۷۵ نفر)         | مقدار *P   |
|-------------------------------------|------|------------------------|------------------------|------------|
| خصوصیات دموگرافیک<br>جنسیت (مرد/زن) |      | ۴۱/۱۴                  | ۶۲/۱۳                  | ۰/۳۷۵      |
|                                     |      | میانگین ± انحراف معیار | میانگین ± انحراف معیار |            |
| سن (سال)                            |      | ۵۴/۷۵ ± ۶/۵۷           | ۵۵/۸۸ ± ۶/۸۴           | ۰/۳۴۶      |
| BMI (کیلوگرم بر مترمربع)            |      | ۲۷/۹۶ ± ۳/۹۷           | ۲۷/۷۰ ± ۴/۵۶           | ۰/۷۳۵      |
| WHR                                 |      | ۰/۹۱ ± ۰/۰۵            | ۰/۹۱ ± ۰/۰۶            | ۰/۷۷۴      |
| SBP (میلی‌متر جیوه)                 |      | ۱۲۷/۵۱ ± ۱۸/۲۶         | ۱۳۱/۴۹ ± ۲۱/۹۶         | ۰/۲۷۹      |
| DBP (میلی‌متر جیوه)                 |      | ۸۷/۲۲ ± ۱۱/۸۱          | ۸۶/۴۲ ± ۱۵/۲۱          | ۰/۷۴۷      |
| TGs (میلی‌مول بر لیتر)              |      | ۱/۵۷ ± ۰/۵۶            | ۱/۵۷ ± ۰/۵۲            | ۰/۹۹۸      |
| TC (میلی‌مول بر لیتر)               |      | ۴/۹۷ ± ۰/۹۵            | ۴/۴۶ ± ۰/۹۹            | ۰/۰۰۶      |
| HDL-C (میلی‌مول بر لیتر)            |      | ۱/۲۶ ± ۰/۲۳            | ۱/۱۸ ± ۰/۲۶            | ۰/۰۶۷      |
| LDL-C (میلی‌مول بر لیتر)            |      | ۲/۷۱ ± ۰/۶۷            | ۲/۳۹ ± ۰/۶۹            | ۰/۰۱۵      |
| FBG (میلی‌مول بر لیتر)              |      | ۵/۰۵ ± ۰/۷۲            | ۵/۰۰ ± ۰/۷۲            | ۰/۶۸۱      |
|                                     |      | تعداد (درصد)           | تعداد (درصد)           |            |
| عوامل خطر                           |      |                        |                        |            |
| پرفشاری خون                         |      | ۲۲ (۴۰)                | ۳۰ (۴۰)                | ۰/۷۸۹      |
| داروها                              |      |                        |                        |            |
| استاتین‌ها                          |      | ۲۲ (۳۹)                | ۵۹ (۷۹)                | ** < ۰/۰۰۱ |

\* سطح معنی‌داری حاصل مقایسه‌ی گروه‌های بیمار و شاهد؛ \*\* آزمون  $\chi^2$

برای متغیرهای پیوسته و طبیعی از آزمون Independent t و برای متغیرهای ناپارامتریک از آزمون Mann-Whitney U استفاده گردید.

BMI: Body mass index; WHR: Waist-to-hip ratio; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure; TGs: Triglycerides; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; TC: Total cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol; FBG: Fasting blood glucose

جدول ۲. مقایسه‌ی نسبت غلظت‌های نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول نسبت به کلسترول در دو گروه بیماران با و بدون انسداد عروق کرونر

| مقدار P* | گروه           |               | متغیرها                           |             |
|----------|----------------|---------------|-----------------------------------|-------------|
|          | بیمار (۷۵ نفر) | شاهد (۵۵ نفر) |                                   |             |
| ۰/۰۶۷    | ۱۰/۶۰ ± ۵/۵۹   | ۹/۳۶ ± ۶/۵۳** | نسبت سیتوسترول به کلسترول         | جذب نشانگر  |
| ۰/۰۰۶    | ۷/۲۰ ± ۶/۰۸    | ۵/۳۲ ± ۳/۵۵   | نسبت کلستانول به کلسترول          |             |
| ۰/۱۱۸    | ۴/۲۱ ± ۴/۱۴    | ۳/۶۱ ± ۳/۰۴   | نسبت کمپسترول به کلسترول          |             |
| ۰/۸۳۸    | ۴/۴۲ ± ۳/۱۶    | ۴/۳۶ ± ۲/۴۱   | نسبت لاتوسترول به کلسترول         | سنتز نشانگر |
| ۰/۰۸۰    | ۲/۵۷ ± ۱/۸۵    | ۲/۲۴ ± ۱/۸۵   | نسبت دسموسترول به کلسترول         |             |
| ۰/۴۴۷    | ۳/۰۳ ± ۱/۷۲    | ۲/۸۰ ± ۱/۶۸   | نسبت ۷-دی‌هیدروکلسترول به کلسترول |             |

\* سطح معنی‌داری حاصل مقایسه‌ی گروه‌های بیمار و شاهد؛ \*\* نسبت استرول (میکرومول بر لیتر) / کلسترول (میکرومول بر لیتر) × ۱۰۰۰ داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

سندرم متابولیک مشاهده می‌شود. بنابراین، با افزایش خطر CVD در ارتباط است (۱۴-۱۵). همچنین، به نظر می‌رسد که ارتباط خطی بین افزایش فشار خون و افزایش بروز بیماری‌های آترواسکلروز عروقی وجود دارد. علت این ارتباط در مطالعات متعدد نشان داده است که بروز حمله‌ی قلبی و سکته‌ی مغزی در بیماران مبتلا به پرفشاری خون، به طور معنی‌داری با درمان‌های کاهش فشار خون کمتر خواهد شد (۱۶). امروزه اندازه‌گیری استرول‌های کلسترولی و غیر کلسترولی سرم در پژوهش‌های بالینی لیپیدها به عنوان نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تحقیقات اخیر به این نتیجه دست یافته‌اند که افراد دارای کلسترول بالا را می‌توان به دو گروه افراد دارای جذب بالا و یا افراد دارای سنتز بالا دسته‌بندی کرد تا هر دو گروه روش درمان متفاوتی داشته باشند (۵).

بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، سطح نشانگرهای جذب در بیماران دارای انسداد عروق کرونر نسبت به بیماران فاقد انسداد عروق کرونر افزایش یافت که این افزایش از لحاظ آماری تنها برای کلستانول معنی‌دار بود. همچنین، نتایج نشانگرهای سنتز کلسترول در پژوهش حاضر نشان داد که سطح این نشانگرها بین دو گروه تغییر معنی‌داری نداشت. بنابراین، به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که جذب کلسترول در بیماران دارای انسداد عروق کرونر نسبت به بیماران فاقد انسداد عروق کرونر اندکی افزایش یافته است؛ در حالی که از لحاظ سنتز داخلی آن، تفاوتی بین دو گروه مشاهده نمی‌شود. تحقیق Mietinen و همکاران با اندازه‌گیری غلظت کلستانول سرم در یک زیرگروه از بیماران مبتلا به CVD نتیجه‌گیری کرد، بیمارانی که در آن‌ها رویدادهای کرونری به درمان با سیمواستاتین پاسخ ندادند، دارای سنتز پایه‌ی کلسترول پایین‌تر و بیماران پاسخ دهنده به سیمواستاتین دارای سنتز پایه‌ی کلسترول بالاتر بودند. در نتیجه، به نظر می‌رسد که بیماری‌های عروق کرونر در این بیماران به علت افزایش جذب کلسترول باشد (۱۷). نتایج مطالعه‌ی Ishibashi و

یافته‌های حاصل از سنجش غلظت نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول نسبت به کلسترول در هر دو گروه در جدول ۲ ارائه شده است. در مقایسه بین گروه بیماران دارای انسداد عروق کرونر و بدون انسداد عروق کرونر، نسبت میانگین غلظت نشانگرهای جذب کلسترول به کلسترول شامل سیتوسترول به کلسترول (P = ۰/۰۶۷)، کمپسترول به کلسترول (P = ۰/۱۱۸) و کلستانول به کلسترول (P = ۰/۰۰۶)، بیان‌کننده‌ی افزایش معنی‌داری در میزان نشانگرهای جذب در گروه بیمار در مقایسه با گروه شاهد بود. از طرف دیگر، نسبت میانگین غلظت نشانگرهای سنتز کلسترول به کلسترول شامل لاتوسترول به کلسترول (P = ۰/۸۳۸)، دسموسترول به کلسترول (P = ۰/۰۸۰) و ۷-دی‌هیدروکلسترول به کلسترول (P = ۰/۴۴۷) تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد.

## بحث

در مطالعه‌ی حاضر، ارتباط بین مسیرهای سنتز و جذب کلسترول از طریق اندازه‌گیری نشانگرهای سنتز و جذب در دو دسته از بیماران مبتلا به CVD (گروهی که انسداد عروق کرونر در آن‌ها با استفاده از آنژیوگرافی تأیید شده بود و گروهی که فاقد انسداد عروق کرونر بودند) مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های مورد نظر در پژوهش حاضر، شاخص‌های مهمی بودند که احتمال بیشتری در بروز و پیشرفت CVD و عوارض ناشی از آن داشتند. بر اساس جدول ۱، از نظر سنی اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیماران دارای انسداد عروق کرونر با بیماران فاقد انسداد عروق کرونر مشاهده نشد. این شاخص می‌تواند بسیار مهم باشد؛ چرا که سن خود یک عامل تغییر دهنده‌ی سطح نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول و از اصلی‌ترین عوامل خطر پیش‌بینی CVD به شمار می‌رود (۱۳).

نتایج بیشتر تحقیقات کلینیکی نشان داده است که افزایش TGs خون به طور عمده در افراد مبتلا به چاقی شکمی، دیابت نوع دو و

علت ایجاد اثرات آتروژنیک ناشی از افزایش جذب روده‌ای کلسترول در بیماران قلبی مشاهده گردید. نتایج مطالعه‌ی حاضر نقش مهم غلظت پلاسمایی نشانگرهای جذب و سنتز مسیر کلسترول را در بروز CAD به خوبی مشخص می‌کند. این نتایج می‌تواند به منظور درمان بهتر بیماران در آینده مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به شیوع به نسبت بالای CAD، اندازه‌گیری پروفایل استرولی پلازما شاید بتواند به عنوان یک تست تشخیصی، افراد با خطر گرفتگی عروق کرونری را شناسایی کند و در پیشگیری، تشخیص و یا تعیین پروتکل درمانی و کنترل یا مدیریت بیماری مؤثر واقع شود (۲۱، ۱۹). با تغییر در میزان نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول بیماران قلبی - عروقی صرف نظر از پروفایل لیپیدی افراد، ممکن است بتوان از درمان‌های متفاوت‌تری با داروهای مهارکننده‌ی سنتز کلسترول مانند استاتین‌ها بهره‌مند شد و با مشخص شدن افزایش یا کاهش میزان نشانگرهای سنتز و جذب در افراد مبتلا به CAD، می‌توان درمان را هدفمندتر کرد (۲۶). همچنین، این نتایج ممکن است به درک بهتر برخی از مکانیسم‌های پاتوژنز CAD کمک نماید.

پژوهش حاضر به بررسی مسیرهای سنتز و جذب کلسترول از طریق اندازه‌گیری سطح پلاسمایی نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول و مقایسه‌ی آن‌ها در دو گروه بیماران دارای انسداد عروق کرونری نسبت به بیماران بدون انسداد عروق کرونری در جمعیت ایران پرداخت. به نظر می‌رسد که جذب کلسترول در بیماران دارای انسداد عروق کرونری نسبت به بیماران بدون انسداد عروق کرونری افزایش داشته باشد؛ در صورتی که میزان سنتز کلسترول در دو گروه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. با مشخص شدن اختلالاتی که در میزان جذب و یا سنتز داخل سلولی کلسترول بیماران وجود دارد، نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر می‌تواند جهت ارزیابی استراتژی‌های مؤثرتر دارو درمانی و جلوگیری از پیشرفت بیماری‌های ناشی از کلسترول بالا به کار رود.

### تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد به شماره‌ی طرح پژوهشی ۳۹۵۶۶۶، مصوب دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله از معاونت پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت تأمین بخشی از هزینه‌های این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. همچنین، از کلیه‌ی شرکت‌کنندگان تحقیق، سرکار خانم دکتر زادهوش به منظور راهنمایی و ارزیابی پیشنهادهای ارزنده و سرکار خانم دکتر حیدری جهت مشاوره‌های مفید آماری سپاسگزاری می‌گردد.

همکاران نشان داد که مهار جذب کلسترول با دارو درمانی، عود بیماری‌های عروقی را در بیماران مبتلا به سندرم حاد کرونری کاهش می‌دهد. آن‌ها دریافتند که کلسترول جذب شده ارتباط نزدیکی با تغییرات مورفولوژیک و کشش عروقی دارد و تعادل بیشتر در جذب با درمان‌های متفاوت، می‌تواند اثرات مطلوبی را بر روی آترواسکلروز در افراد سالم ایجاد کند و این یافته‌ها ممکن است راهنمایی‌های تغذیه‌ای جدیدی را برای افراد سالم ارایه دهد (۱۸).

نتایج سایر پژوهش‌های انجام شده نیز نشان می‌دهد که در افراد مبتلا به CVD یا تنگی کاروتید، نسبت نشانگرهای جذب کلسترول شامل کلستانول، کمپسترول و سیتوسترول به کلسترول بالاتر می‌باشد؛ در حالی که نسبت نشانگرهای سنتز کلسترول شامل دسموسترول و لاتوسترول به کلسترول کمتر است. بنابراین، جذب بالاتر و سنتز پایین‌تر کلسترول، از جمله عوامل پیش‌بینی‌کننده‌ی مستقل مهمی در شیوع CVD به شمار می‌روند (۱۹-۲۰). در تحقیقات اخیر عنوان شده است که شاید تغییرات زیان‌آوری در ارتباط با هموستاز کلسترول و بروز CAD وجود داشته باشد (۲۱). در حمایت از این فرضیه، به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم‌های ژن The ATP binding cassette G5 (ABCG5) نقش مهمی در جذب کلسترول روده از رژیم غذایی و غلظت پلاسمایی کلسترول دارد. شواهد نشان می‌دهد که جذب بالای کلسترول در روده نیز ممکن است خطر آترواسکلروز کرونری را افزایش دهد (۲۲). بنابراین، برای افراد با افزایش جذب کلسترول به ویژه کسانی که LDL-C و TC آن‌ها با استفاده از داروهای استاتین به محدوده‌ی طبیعی نرسیده است، شاید استفاده از مهارکننده‌های دیگر جذب کلسترول مانند داروی ازیتیمایب، استرول‌های گیاهی و مارگارین‌های استرولی افزودنی به مواد غذایی تأثیرات درمانی بهتری داشته باشد (۲۳). توصیه‌های قطعی برای استفاده از داروهای مهارکننده‌ی جذب کلسترول علاوه بر استاتین‌ها، نیازمند انجام مطالعات پژوهشی بیشتر و آینده‌نگر در جهت بهبود CVD می‌باشد. با این حال، کنترل تعادل متابولیسم کلسترول پایه، خطر وقوع رویدادهای کرونری آینده را نه تنها در افراد تحت درمان با استاتین پیش‌بینی می‌کند، بلکه برای افرادی که داروهای کاهش دهنده‌ی چربی مصرف نمی‌کنند نیز مؤثر خواهد بود (۲۴-۲۵).

در زمینه‌ی بررسی ارتباط مسیرهای سنتز و جذب کلسترول و اندازه‌گیری سطح استرول‌های پلازما تاکنون پژوهشی در ایران منتشر نشده است. یافته‌های به دست آمده در حمایت از تحقیقات قبلی صورت گرفته تأیید می‌کند که افزایش جذب کلسترول با بروز CAD ارتباط دارد و همچنین، ارتباط مثبت استرول‌های گیاهی پلازما به

## References

- Dawber TR, Moore FE, Mann GV. II. Coronary Heart Disease in the Framingham Study. *Int J Epidemiol* 2015; 44(6): 1767-80.
- Silbernagel G, Genser B, Nestel P, Marz W. Plant sterols and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2013; 24(1): 12-7.
- Othman RA, Myrie SB, Jones PJ. Non-cholesterol sterols and cholesterol metabolism in sitosterolemia. *Atherosclerosis* 2013; 231(2): 291-9.
- Phillips KM, Ruggio DM, Bailey JA. Precise quantitative determination of phytosterols, stanols, and cholesterol metabolites in human serum by capillary gas-liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1999; 732(1): 17-29.
- Escuriol V, Cofan M, Moreno-Iribas C, Larranaga N, Martinez C, Navarro C, et al. Phytosterol plasma concentrations and coronary heart disease in the prospective Spanish EPIC cohort. *J Lipid Res* 2010; 51(3): 618-24.
- Grundy SM, Ahrens EH, Davignon J. The interaction of cholesterol absorption and cholesterol synthesis in man. *J Lipid Res* 1969; 10(3): 304-15.
- Hiramitsu S, Ishiguro Y, Matsuyama H, Yamada K, Kato K, Noba M, et al. The effects of ezetimibe on surrogate markers of cholesterol absorption and synthesis in Japanese patients with dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17(1): 106-14.
- Simonen P, Gylling H, Miettinen TA. The validity of serum squalene and non-cholesterol sterols as surrogate markers of cholesterol synthesis and absorption in type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2008; 197(2): 883-8.
- Ahmida HS, Bertucci P, Franzo L, Massoud R, Cortese C, Lala A, et al. Simultaneous determination of plasmatic phytosterols and cholesterol precursors using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with selective ion monitoring (SIM). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 842(1): 43-7.
- Vinaixa M, Schymanski EL, Neumann S, Navarro M, Salek RM, Yanes O. Mass spectral databases for LC/MS- and GC/MS-based metabolomics: State of the field and future prospects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2016; 78: 23-35.
- Halket JM, Waterman D, Przyborowska AM, Patel RK, Fraser PD, Bramley PM. Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS. *J Exp Bot* 2005; 56(410): 219-43.
- Kelley RI. Diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome by gas chromatography/mass spectrometry of 7-dehydrocholesterol in plasma, amniotic fluid and cultured skin fibroblasts. *Clin Chim Acta* 1995; 236(1): 45-58.
- Booth GL, Kapral MK, Fung K, Tu JV. Relation between age and cardiovascular disease in men and women with diabetes compared with non-diabetic people: A population-based retrospective cohort study. *Lancet* 2006; 368(9529): 29-36.
- Wilson PW, Kannel WB, Silbershatz H, D'Agostino RB. Clustering of metabolic factors and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1999; 159(10): 1104-9.
- Bastien M, Poirier P, Lemieux I, Despres JP. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2014; 56(4): 369-81.
- Subramanian S, Chait A. Hypertriglyceridemia secondary to obesity and diabetes. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821(5): 819-25.
- Miettinen TA, Gylling H, Strandberg T, Sarna S. Baseline serum cholestanol as predictor of recurrent coronary events in subgroup of Scandinavian simvastatin survival study. *Finnish 4S Investigators. BMJ* 1998; 316(7138): 1127-30.
- Ishibashi Y, Karino K, Yano S, Kijima T, Takahashi N, Yamagata S, et al. Relationship between cholesterol synthesis/absorption marker and vascular function in healthy subjects. *Vascular Failure* 2018; 2: 20-4.
- Weingartner O, Pinsdorf T, Rogacev KS, Blomer L, Grenner Y, Graber S, et al. The relationships of markers of cholesterol homeostasis with carotid intima-media thickness. *PLoS One* 2010; 5(10): e13467.
- Weber MA, Schiffrin EL, White WB, Mann S, Lindholm LH, Kenerson JG, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2014; 16(1): 14-26.
- Silbernagel G, Fauler G, Renner W, Landl EM, Hoffmann MM, Winkelmann BR, et al. The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *J Lipid Res* 2009; 50(2): 334-41.
- Herron KL, McGrane MM, Waters D, Lofgren IE, Clark RM, Ordovas JM, et al. The ABCG5 polymorphism contributes to individual responses to dietary cholesterol and carotenoids in eggs. *J Nutr* 2006; 136(5): 1161-5.
- Kastelein JFF, Akdim ES, Stroes AH, Zwinderman ML, Bots AF, Stalenhoef FL, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2008; 358: 1431-43.
- Miettinen TA, Strandberg TE, Gylling H. Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients: relation to basal serum cholestanol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(5): 1340-6.
- Matthan NR, Pencina M, LaRocque JM, Jacques PF, D'Agostino RB, Schaefer EJ, et al. Alterations in cholesterol absorption/synthesis markers characterize Framingham offspring study participants with CHD. *J Lipid Res* 2009; 50(9): 1927-35.
- Miettinen TA, Gylling H, Viikari J, Lehtimäki T, Raitakari OT. Synthesis and absorption of cholesterol in Finnish boys by serum non-cholesterol sterols: the cardiovascular risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis* 2008; 200(1): 177-83.



## Evaluation of Cholesterol Synthesis and Absorption Pathways in Patients with Cardiovascular Diseases

Fahimeh Amirkhani<sup>1</sup>, Gholamreza Namazi<sup>2</sup>, Bentolhoda Hayatmoghadam<sup>1</sup>, Morteza Pourfarzam<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Nowadays, coronary artery diseases (CADs) are among the most common diseases in societies. The aim of this study was to study the interplay between cholesterol absorption and synthesis in two groups of Iranian patients with CAD by measuring the markers of cholesterol synthesis and absorption pathways in plasma.

**Methods:** The study population included 128 patients undergoing clinically indicated coronary angiography. Patients were divided into two groups after scoring the severity of their coronary stenosis; the S-stenosis group (patients with CAD, n = 75) had a significant stenosis indicated by coronary angiography, and the second group, N-stenosis (n = 55), had no significant coronary stenosis. Fasting plasma samples were used to measure cholesterol absorption and synthesis markers by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

**Findings:** The level of cholesterol absorption markers in patients with coronary artery stenosis was slightly increased compared to patients without coronary artery stenosis, but this change was statistically significant only for cholestanol ( $P < 0.050$ ). In terms of cholesterol synthesis markers, the results did not show any significant differences between the two groups ( $P > 0.050$  for all).

**Conclusion:** Study of cholesterol synthesis and absorption markers has not been reported in Iranian patients before. This article reports the results of such study for the first time. Considering the high prevalence of CADs and the importance of cholesterol metabolism in pathology of these diseases, the results may be used to understand some underlying mechanisms of development and progression of these diseases, and to manage the patient better.

**Keywords:** Coronary artery stenosis, Cholesterol, Gas chromatography-mass spectrometry

**Citation:** Amirkhani F, Namazi G, Hayatmoghadam B, Pourfarzam M. **Evaluation of Cholesterol Synthesis and Absorption Pathways in Patients with Cardiovascular Diseases.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(523): 385-91.

1- Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

3- Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Morteza Pourfarzam, Email: pourfarzam@pharm.mui.ac.ir