DOI: 10.22122/jims.v37i519.10998 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۱۹/هفته‌ی سوم اردیبهشت ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۲/۱۵

بررسی نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول در بیماری دیابت نوع ۲

بنت‌الهدی حیات‌مقدم[۱]، فوزیه زادهوش[۲]، فهیمه امیرخانی[۱]، مرتضی پورفرزام[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: دیابت ملیتوس نوع ۲، شایع‌ترین شکل دیابت ناشی از اختلال در ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و یا هر دو عامل می‌باشد. با توجه به شیوع بالای این بیماری و نقش مؤلفه‌های مختلف در پیشرفت آن و به منظور درک بهتر برخی از مکانیسم‌های پاتوژنز مسؤول پیشرفت دیابت نوع ۲، هدف از انجام این پژوهش ارزیابی احتمال تفاوت میزان نشانگر سنتز و جذب کلسترول در بیماری دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی، ۱۵۰ مرد ۶۰-۴۰ ساله از بین افراد مراجعه‌کننده به مراکز درمانی و مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتخاب شدند. افراد به گروه شاهد شامل ۵۰ مرد سالم با قند خون ناشتای طبیعی و بدون سابقه‌ی دیابت نوع ۲ و ۱۰۰ بیمار با قند خون ناشتای بیشتر و مساوی ۱۲۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر و با سابقه‌ی دیابت نوع ۲ تقسیم شدند. نمونه‌های سرم و پلاسمای ناشتا با روش‌های معمول آزمایشگاهی و نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول به روش گاز کروماتوگرافی- طیف‌سنجی جرمی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. واکاوی آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov، Independent t و Mann-Whitney در سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ انجام شد.

یافته‌ها: تفاوت‌های معنی‌داری در بیشتر پارامترهای بیوشیمیایی و عوامل تن‌سنجی بین گروه‌های مورد مطالعه وجود داشت. بررسی نسبت غلظت نشانگرهای جذب (بتا سیتوسترول و کمپسترول) و سنتز (لاتوسترول و دسموسترول) به غلظت کلسترول، نشان دهنده‌ی افزایش معنی‌دار غلظت نشانگرهای سنتز و کاهش معنی‌دار غلظت نشانگرهای جذب در گروه مورد نسبت به گروه شاهد بود ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: در جمعیت ایرانی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، سنتز کلسترول افزایش و جذب آن کاهش می‌یابد که این یافته‌ها مطابق با داده‌های دیگر جمعیت‌ها می‌باشد و ممکن است بیانگر این موضوع باشد که نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول، می‌توانند به عنوان نشانگرهای جانشین به منظور درک بهتر برخی از مکانیسم‌های پاتوژنز مسؤول پیشرفت دیابت نوع ۲ و عوارض مربوط به آن و نیز کمک به پیش‌گیری و درمان مؤثرتر عوارض آن در آینده مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: دیابت ملیتوس نوع ۲، کلسترول، بتا سیتوسترول، کمپسترول، لاتوسترول، دسموسترول، گاز کروماتوگرافی- طیف‌سنج جرمی، استرول

ارجاع: حیات‌مقدم بنت‌الهدی، زادهوش فوزیه، امیرخانی فهیمه، پورفرزام مرتضی. **بررسی نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول در بیماری دیابت نوع ۲.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۱۹): ۲۲۱-۲۱۴

مقدمه

دیابت نوع ۲، شایع‌ترین شکل دیابت ناشی از اختلال در ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و یا هر دو عامل می‌باشد (۱). عوارض دیابتی ایجاد شده در عروق کوچک و بزرگ نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، انفارکتوس میوکارد و سکته، باعث کاهش کیفیت زندگی می‌گردد. بنابراین، شناسایی بیماران مبتلا به دیابت با عوامل خطر بالا، جهت جلوگیری از پیشرفت بیماری ضرورت دارد.

بیماری دیابت نوع ۲، موجب افزایش خطر مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی- عروقی می‌شود؛ در واقع، بیماری کرونر قلب (Coronary heart disease) علت عمده‌ی مرگ و میر در دیابت نوع ۲ در نظرگرفته می‌شود (۳-۲).

عوامل متعددی در ایجاد این فرایند دخیل هستند که از جمله ی این عوامل، می‌توان تغییرات پاتولوژیک در متابولیسم کلسترول در بدن را نام برد. متابولیسم کلسترول در بدن انسان، فرایند پیچیده‌ای

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

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

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

نویسنده‌ی مسؤول: مرتضی پورفرزام

Email: pourfarzam@pharm.mui.ac.ir

است که به دقت از طریق تنظیم سنتز و جذب کلسترول برای حفظ محتوای ثابت و بهینه‌ی کلسترول مورد نیاز بدن تنظیم شده است. مطالعه‌ی متابولیسم کلسترول برای سالیان متمادی مورد توجه ویژه‌ی پژوهشگران بوده است. علاوه بر کلسترول، سرم حاوی مقادیر کمی استرول‌های غیر کلسترولی می‌باشد (۴).

در افراد سالم و همچنین، بیماران دارای هایپرلیپیدمی، نسبت پیش‌سازهای کلسترول مانند Desmosterol و Lathosterol به کلسترول بیانگر سنتز کلسترول و نسبت استرول‌های گیاهی مانند Campesterol و Sitosterol به کلسترول، بیانگر میزان جذب کلسترول می‌باشد. اندازه‌گیری استرول‌های غیر کلسترولی و کلسترولی سرم به عنوان نشانگرهای جانشین برای مطالعه ی متابولیسم کلسترول (بالانس کلسترول) در تحقیقات بالینی لیپیدها به طور وسیع مورد استفاده واقع شده‌اند (۴). مطالعات مختلف پیشنهاد می‌کنند که بالانس سنتز و جذب کلسترول در بیماری دیابت نوع ۲، نسبت به افراد سالم متفاوت است (۵). از این رو، در چند سال اخیر توجه به مطالعه ی هموستاز کلسترول با استفاده از روش‌های استاندارد جهت اندازه‌گیری نشانگرهای سرمی سنتز و جذب کلسترول بیشتر شده است و نتایج مطالعات در جمعیت‌های مختلف، بیانگر این موضوع می‌باشد که عوامل بسیاری نظیر سن، جنس، شاخص توده ی بدنی (Body mass index یا BMI)، رژیم غذایی، وضعیت سلامتی، مصرف دارو و زمینه‌های ژنتیکی در متابولیسم کلسترول دخالت دارند (۶).

در طی چندین سال، بررسی‌های انجام گرفته توسط گروه‌های تحقیقاتی متفاوت بر روی جمعیت متنوعی از مردان و زنان در محدوده ی وسیع سنی، افراد با انواع مختلف دیس‌لیپیدمیا، دیابت نوع ۱ و ۲، چاقی، بیماری کرونر قلب، بیماری قطع ایلئوم (Ileectomy) و سلیاک، اعتبار نشانگرهای سرمی پیش گفته مورد تأیید واقع شده است (۷-۶). این اعتبارسنجی در طول شرایط پایه یا مقطعی و تحت تأثیر مداخلات گوناگون نظیر اصلاح رژیم غذایی، مصرف استرهای گیاهی استانول، درمان با استاتین و بعد از کاهش وزن سنجیده شده است. به منظور به دست آوردن اطلاعات قابل اعتماد در افراد، بر اساس رفتار متابولیسمی بدن به جای این که تنها یک نشانگر جذب و سنتز استفاده شود، چندین نشانگر استفاده می گردد (۸). به طور کلی، نتایج مطالعات انجام شده در سال های اخیر نشان داده‌اند که دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین و چاقی با افزایش سنتز کلسترول و کاهش جذب آن همراه است (۱۰-۹، ۵).

دیابت نوع ۲، به یکی از علل عمده ی بیماری و مرگ زودرس تبدیل شده است که در ۸۰ درصد موارد، علت اصلی مرگ بیماری های قلبی- عروقی بوده است. به دلیل شیوع بالای عوارض حاد و مزمن و میزان بالایی از مرگ و میر، این مشکل پزشکی به یک مشکل مهم اجتماعی و اقتصادی تبدیل شده است. از این رو، مطالعات فزاینده‌ای جهت پیش گیری از دیابت، توجه به پارامترهای کلیدی در گسترش دیابت نوع ۲ به سمت بیماری های قلبی- عروقی شامل مقاومت به انسولین، سندرم متابولیک، دیس لیپیدمیا، تغییرات پاتولوژیک در متابولیسم کلسترول و سایر استرول های غیر کلسترولی را حایز اهمیت دانسته اند. اهمیت این موضوع، از این بابت است که چنانچه بیماران در گروه های افراد با سنتز بالا یا افراد با جذب بالا دسته‌بندی شوند، ممکن است بتوانند مورد درمان و مدیریت هدفمندتری قرار گیرند.

با توجه به شیوع بالا و اهمیت بیماری دیابت نوع ۲، نقش متابولیسم لیپیدها در پاتوژنز بیماری، تأثیر زمینه های ژنتیکی، تغذیه و محیطی در متابولیسم کلسترول و کمبود اطلاعات در این زمینه در جمعیت ایرانی، مطالعه‌ی حاضر به اندازه‌گیری میزان نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و مقایسه‌ی آن‌ها با گروه شاهد در جمعیت ایران پرداخته است. نتایج حاصل از این مطالعه، می‌تواند زمینه‌ساز پژوهش‌های آتی در جهت درک بهتر پاتوژنز بیماری، شناسایی و طبقه‌بندی افراد پرخطر باشد و در ارایه‌ی راهبردهای مناسب درمانی و کاهش عوارض ناشی از پیشرفت بیماری در این افراد، مفید واقع گردد.

روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق، شامل ۱۵۰ مرد با محدوده‌ی سنی ۶۰-۴۰ سال مراجعه کننده به مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و سایر مراکز درمانی وابسته به این دانشگاه بود. معیارهای ورود برای گروه مورد شامل ابتلا به دیابت نوع ۲ (قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی ۱۲۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و سابقه‌ی دیابت نوع ۲ به مدت حداقل یک سال بود. معیارهای خروج از مطالعه، شامل اختلالات شدید روانی، ناتوانی جسمی، سرطان، بیماری عروق کرونر، بیماری آلزایمر و یا زوال عقلی، کم خونی و بیماری‌های هماتولوژیکی در عرض ۶ ماه گذشته، بیماری‌های سل، ایدز و سایر بیماری‌های مسری که به تازگی تشخیص داده شده بود و درمان با انسولین، مصرف سیگار و داروهای کاهنده ی کلسترول شامل استاتین و ازتیمایب بود.

تعداد ۱۰۰ نمونه در گروه مورد و ۵۰ نمونه در گروه شاهد و در مجموع، ۱۵۰ بیمار مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه شاهد، شامل ۵۰ مرد به ظاهر سالم با قند خون ناشتای طبیعی و بدون هیچ گونه سابقه‌ی دیابت و بیماری‌های حاد و مزمن دیگر و در محدوده‌ی سنی مورد نظر بود. شرکت کنندگان در مطالعه، پس از تکمیل فرم های پرسش‌نامه‌ی اطلاعات بالینی و رضایت‌نامه‌ی آگاهانه انتخاب شدند (۱۱).

از هر کدام از افراد مورد مطالعه، بعد از ۱۲ساعت ناشتا بودن، ۵ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته و در لوله‌های هپارینه برای جداسازی پلاسما جمع‌آوری شد. نمونه‌ها بلافاصله به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد و پلاسمای به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری، در لوله‌های اپندورف در ۸۰- درجه‌ی سانتی گراد نگهداری شد. غلظت پارامترهای بیوشیمیایی شامل گلوکز ناشتا (Fasting blood glucose یا FBG)، تری‌گلیسیرید (TG)، کلسترول تام (Total cholesterol یا TC)، کلسترول- لیپوپروتئین کم‌چگال (Low density lipoprotein-cholesterol یا LDL-C) و کلسترول- لیپوپروتئین پرچگال (High density lipoprotein-cholesterol یا HDL-C) در پلاسما با استفاده از کیت‌های معمول تجاری آزمایشگاهی توسط دستگاه Autoanalyser مدل Hitachi 902 بر اساس روش‌های آنزیمی و معمول اندازه‌گیری شد. برای نمونه‌هایی که TG کمتر از ۴۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر داشتند، غلظت LDL-C بر اساس فرمول FriedWald محاسبه گردید (۱۲).

اندازه‌گیری استرول‌ها، با استفاده از تکنیک گاز کروماتوگرافی و طیف‌سنج جرمی انجام شد (۱۳)؛ بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از پلاسمای هر یک از نمونه‌ها در لوله‌ی شیشه‌ای درپوش‌دار حاوی ۵۰ میکرولیتر از استاندارد داخلی (۵-آلفا کلستان ۱ میلی‌مولار) اضافه گردید. سپس، ۱ میلی‌لیتر آب‌مقطر High-performance liquid chromatography grade (HPLC grade) به آن‌ها اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند. در مرحله‌ی بعد، ۳/۵ میلی‌لیتر هگزان به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد و پس از قرار دادن لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط، قسمت رویی با استفاده از پیپت پاستور به لوله‌ی تمیز دیگری منتقل شد. استخراج با هگزان تکرار و قسمت‌های مختلف هگزان مخلوط شدند. سپس، حلال با استفاده از گاز نیتروژن تبخیر و نمونه‌ها خشک شدند. برای مشتق‌سازی ۳۰ میکرولیتر پیریدین خشک و ۷۰ میکرولیتر BSTFA-TMCS (99:1) (N, O-Bistrifluoroacetamide- Trimethylchlorosilane) اضافه، درب لوله‌ها محکم بسته و سپس، ورتکس گردید و در آخر، تمامی لوله‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در آون ۶۴ درجه‌ی سانتی گراد قرار داده شد تا مشتق‌سازی کامل شود. پس از خروج لوله‌ها از آون و سرد شدن در دمای اطاق، ۱ میکرولیتر از هر نمونه توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی و طیف‌سنج جرمی Hewlett packard مدل ۶۸۹۰ مجهز به Mass selective detector 5973 (MSD 5793) با استفاده از ستون DB-5 (25 mm × 0.25 mm ID×0.25 µm film thickness) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

شرایط دستگاه گاز کروماتوگراف به شرح زیر بود: تزریق در حالت Split (۱:۱۰) و دمای ۲۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با استفاده از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ثابت ۱ میلی لیتر در دقیقه، دمای آغازین ۱۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، سپس 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 درجه ی سانتی‌گراد رسید و ۱۵ دقیقه در این درجه‌ی حرارت نگه داشته شد. این برنامه، ۲۸/۰۸ دقیقه به طول انجامید. پس از اندازه‌گیری کلیه‌ی نمونه‌ها، متغیرهای Cholesterol، Desmosterol، Lathosterol، Campesterol و Sitosterol تعیین مقدار شدند. زمان بازداری استرول‌های مورد نظر با مقایسه با مخلوط استاندارد استرول‌ها شناسایی و مساحت سطح زیر منحنی هر پیک با استفاده از نرم‌افزار Hewlett packard chemstation محاسبه شد. برای اندازه‌گیری غلظت هر استرول، مساحت سطح زیر منحنی پیک مربوط به آن برای هر نمونه تعیین و پس از تقسیم بر مساحت پیک استاندارد داخلی، با استفاده از منحنی استاندارد برای هر استرول، استاندارد مربوط به محاسبه گردید (۱۳).

واکاوی آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد. متغیرهای کمی اندازه‌گیری شده به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. طبیعی بودن متغیر های کمی با استفاده از آزمون Kolmogorov–Smirnov بررسی شد و متغیرهایی که توزیع طبیعی نداشتند، با استفاده از تبدیلات مناسب طبیعی شدند. جهت مقایسه‌ی متغیرهای مورد نظر در دو گروه، از آزمون‌های آماری t Independent برای متغیرهای با توزیع طبیعی و آزمون Mann-Whitney برای متغیرهایی با توزیع غیر طبیعی استفاده گردید. در کلیه‌ی آزمون‌ها، $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج شاخص های آنتروپومتریک و روش های بیوشیمیایی دو گروه در جدول ۱ آمده است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، از نظر سنی، سطح سرمی کلسترول تام، LDL-C، مقادیر فشار خون سیستول و دیاستول بین دوگروه مورد و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). افزایش معنی‌داری در سطح سرمی FBG ($P < ۰/۰۰۰۱$)، TG ($P = ۰/۰۰۱$)، وزن ($P < ۰/۰۰۰۱$)، دور کمر ($P < ۰/۰۰۰۱$)، دور لگن ($P < ۰/۰۰۰۱$)، نسبت دور کمر به لگن ($P = ۰/۰۲۶$) و شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) ($P = ۰/۰۱۴$) در گروه مورد نسبت به گروه شاهد وجود داشت. از طرفی، سطح HDL-C به طور معنی‌داری در بیماران کاهش یافته بود ($P < ۰/۰۰۰۱$).

جدول ۱. مقایسه‌ی شاخص‌های آنتروپومتریک و آزمایش‌های بیوشیمیایی در دو گروه مورد و شاهد

متغیر	گروه: شاهد (n = ۵۰) میانگین ± انحراف معیار	مورد (n = ۱۰۰) میانگین ± انحراف معیار	مقدار P[1]
سن (سال)	۵۴/۱۹ ± ۴/۹۵	۵۵/۲۳ ± ۶/۷۰	۰/۳۶۲
وزن (کیلوگرم)	۷۴/۶۷ ± ۱۲/۵۷	۸۲/۷۸ ± ۱۲/۷۵	< ۰/۰۰۰۱
دور کمر (سانتی‌متر)	۹۳/۶۶ ± ۱۰/۲۷	۱۰۲/۱۸ ± ۱۱/۳۱	< ۰/۰۰۰۱
دور باسن (سانتی‌متر)	۹۹/۱۰ ± ۸/۴۵	۱۰۴/۷۴ ± ۷/۶۰	< ۰/۰۰۰۱
نسبت دور کمر به باسن	۰/۹۵ ± ۰/۰۹	۰/۹۸ ± ۰/۰۶	۰/۰۲۶
شاخص توده‌ی بدنی (کیلوگرم/مترمربع)	۲۲/۱۷ ± ۳/۵۱	۲۴/۲۵ ± ۳/۴۸	۰/۰۱۴
فشار خون سیستول (میلی‌متر جیوه)	۱۲۲/۳۶ ± ۱۳/۶۴	۱۲۴/۱۰ ± ۱۲/۶۵	۰/۲۱۶
فشار خون دیاستول (میلی‌متر جیوه)	۷۹/۷۷ ± ۸/۶۲	۷۹/۹۵ ± ۱۰/۴۸	۰/۶۴۳
تری گلیسیرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۲۴/۳۰ ± ۳۱/۸۴	۱۶۶/۱۴ ± ۷۷/۸۴	۰/۰۰۱
کلسترول تام (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۹۲/۸۶ ± ۳۳/۵۵	۱۸۸/۷۰ ± ۳۸/۴۸	۰/۵۱۸
کلسترول- لیپوپروتئین پرچگال (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۴۷/۳۰ ± ۵/۷۸	۳۹/۷۳ ± ۷/۷۷	< ۰/۰۰۰۱
کلسترول- لیپوپروتئین کم‌چگال (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۱۶/۴۳ ± ۲۷/۳۵	۱۱۵/۱۵ ± ۳۰/۰۳	۰/۸۰۱
قند خون ناشتا (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۹۶/۹۰ ± ۱۰/۷۲	۱۴۹/۸۶ ± ۴۵/۳۳	< ۰/۰۰۰۱

۱: سطح معنی‌داری حاصل از مقایسه‌ی گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد

برای متغیرهای پیوسته و طبیعی از آزمون Independent t و برای متغیرهای ناپارامتریک از آزمون Mann-Whitney استفاده گردید. نتایج آزمون‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

به منظور بررسی میزان متغیرهای اندازه گیری شده، میان بیماران مبتلا به دیابت و گروه شاهد، از آزمون Independent t استفاده شد. نتایج اندازه گیری نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول در جدول ۲ آمده است. بر اساس این نتایج، در مقایسه‌ی بین گروه‌های مورد و شاهد، نسبت میانگین غلظت نشانگرهای جذب کلسترول به کلسترول شامل سیتوسترول به کلسترول ($P < ۰/۰۰۰۱$)و کمپسترول به کلسترول ($P = ۰/۰۱۰$)، بیانگر کاهش معنی‌داری در میزان نشانگرهای جذب در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد بود. از طرف دیگر، نسبت نشانگرهای سنتز شامل لاتوسترول به کلسترول ($P = ۰/۰۱۶$) و دسموسترول به کلسترول ($P = ۰/۰۰۳$) به صورت معنی داری در گروه مورد نسبت به گروه شاهد افزایش یافته بود.

جدول ۲. مقایسه‌ی غلظت نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول نسبت به کلسترول در دو گروه شاهد و مورد

متغیر	گروه: شاهد (n = ۵۰)	مورد (n = ۱۰۰)	مقدار P[1]
سیتوسترول/کلسترول	۴۱۰ ± ۱۴۰	۳۳۰ ± ۱۰۲	< ۰/۰۰۰۱
کمپسترول/کلسترول	۱۸۰ ± ۶۶	۱۵۰ ± ۵۹	۰/۰۱۰
لاتوسترول/کلسترول	۳۲۰ ± ۱۲۰	۴۰۷ ± ۱۸۰	۰/۰۱۶
دسموسترول/کلسترول	۷۰ ± ۲۸	۸۴ ± ۲۴	۰/۰۰۳

۱: سطح معنی‌داری حاصل از مقایسه‌ی گروه مورد با گروه شاهد

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

غلظت بر اساس µmol/mmol × ۱۰۰ آمده است.

در مجموع، در گروه بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، نسبت نشانگرهای سنتز کلسترول به کلسترول، به طور معنی‌داری افزایش و نسبت نشانگرهای جذب کلسترول به کلسترول، به طور معنی‌داری کاهش یافته بود. با وجود افزایش غلظت کلسترول در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری میان دو گروه مشاهده نشد ($P = ۰/۶۲۶$).

بحث

هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی متابولیسم کلسترول از طریق اندازه گیری سطح سرمی نشانگرهای سنتز و جذب کلسترول در بیماری دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم می‌باشد. سایر عواملی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند، پارامترهایی هستند که ممکن است در بروز و پیشرفت دیابت نوع ۲ و عوارض ناشی از آن نقش داشته باشند.

در این مطالعه، برای به حداقل رساندن تأثیر جنسیت و سن بر پارامترهای مورد مطالعه و تفسیر نتایج به دست آمده، شرکت کنندگان از نظر جنسیت و سن همسان شدند. بنابراین، در مقایسه‌ی گروه مورد با گروه شاهد، در سن افراد تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱). با توجه به این که سن یک عامل خطر اصلی و مهم در بروز و پیشرفت دیابت نوع ۲ می‌باشد، اعتقاد بر این است که عدم تحمل گلوکز و همچنین، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال های آزاد از پیامدهای غیر قابل اجتناب افزایش سن است؛ این

پارامتر، مهم است؛ چرا که سن خود می‌تواند یک عامل تغییر دهنده‌ی سطح نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول باشد (۱۴).

از طرف دیگر، بین کلیه‌ی عوامل خطر قلبی- عروقی نظیر افزایش TG، کاهش HDL-C، افزایش وزن، دور کمر و BMI در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری وجود داشت. FBG نیز در گروه مورد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد. همه‌ی این پارامترها، در بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیک سیستم‌های مختلف بدن از اهمیت به‌سزایی برخوردارند و به خوبی شناخته شده است که هایپرگلایسمیا در طولانی مدت باعث ایجاد تغییرات قابل برگشت و به دنبال آن، تغییرات غیر قابل برگشت در ساختار و متابولیسم بافت‌ها می‌شود (۱۵).

اختلال در متابولیسم چربی‌ها نیز در دیابت نوع ۲ بسیار شایع است و در مطالعات متعددی چربی‌های نامطلوب خون به عنوان عوامل خطر دیابت شناخته شده‌اند. به طور کلی، مبتلایان به دیابت میزان TG بیشتر و HDL-C کمتری نسبت به افراد غیر مبتلا به دیابت دارند، اما تفاوت به نسبت کمی در مقدار LDL-C نشان می‌دهند. احتمال می‌رود به خاطر آن که افزایش TG خون در مقاومت به انسولین، نتیجه‌ای از افزایش تولید Very low density lipoprotein (VLDL) غنی از TG و کاهش کلیرانس VLDL است. اغلب مطالعات بالینی نشان داده‌اند که افزایش TG خون اغلب در افراد با چاقی شکمی و دیابت نوع ۲ مشاهده می‌شود و به طور معمول، با کاهش HDL-C و همچنین، با ذرات کوچک آتروژنیک LDL همراه می باشد (۱۶). از سوی دیگر، چاقی شکمی با مقاومت به انسولین، افزایش انسولین خون، دیس‌لیپیدمی، دیابت نوع ۲، فشار خون بالا و افزایش خطر بیماری‌های قلبی- عروقی همراه است (۱۷).

در مطالعه ی حاضر، سطح نشانگرهای جذب و سنتز کلسترول در دو گروه مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع، کاهش معنی داری در نسبت نشانگرهای جذب به کلسترول و افزایش معنی داری در نسبت نشانگرهای سنتز به کلسترول در گروه مورد نسبت به گروه شاهد وجود داشت. این یافته، با نتایج مطالعات در سایر جمعیت‌ها مبنی بر ارتباط میان مقاومت به انسولین و چاقی با افزایش سنتز کلسترول و کاهش جذب آن، هم‌خوانی دارد (۱۸، ۱۰-۹).

طبق پژوهش های پیشین، اختلال در متابولیسم کلسترول در دیابت نوع ۲ شامل افزایش سنتز کلسترول و کاهش جذب کلسترول می‌باشد (۲۰-۱۹، ۴). در مطالعه‌ی Gylling و همکاران، طی مقایسه‌ای میان غلظت استرول‌های غیر کلسترولی در پلاسمای بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۲، مشخص شد که فقدان انسولین در مبتلایان به دیابت نوع ۱، ممکن است جذب کلسترول را افزایش و سنتز کبدی کلسترول را در مقایسه با مبتلایان به نوع ۲ کاهش دهد (۲۱).

در مطالعه‌ی دیگری توسط de Mello و همکاران، ارتباط بین نشانگرهای سرمی سنتز و جذب کلسترول و احتمال وقوع دیابت نوع ۲ بررسی شد و همچنین، مداخله‌ی سبک زندگی بر روی میزان استرول ها و شیوع دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه‌ی هم‌گروهی، در زمینه‌ی پیش‌گیری از دیابت بر روی ۳۴۵ فرد فنلاندی میانسال با اختلال تحمل گلوکز، وزن بالا و بدون استفاده از داروهای کاهش دهنده ی کلسترول صورت گرفت. سطح سرمی استرول های غیر کلسترولی نشانگر جذب (سیتوسترول و کمپسترول) و استرول‌های نشانگر سنتز (لاتوسترول و دسموسترول) کلسترول این افراد به روش گاز کروماتوگرافی- طیف سنج جرمی اندازه گیری شد و بیماران به طور میانگین به مدت ۴ سال یا تا زمان بروز دیابت پی گیری شدند. این مطالعه نشان داد که افزایش سنتز و کاهش جذب کلسترول با افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ همراه است و این تغییرات، حتی قبل از بروز بیماری قابل اندازه‌گیری می‌باشند. طبق نتایج این مطالعه، اصلاح سبک زندگی می‌تواند از وقوع دیابت نوع ۲ پیش‌گیری نماید و یا شروع بیماری را در افراد پرخطر به تعویق بیندازد و به طور قابل توجهی، موجب بهبود حساسیت به انسولین و کاهش وزن شود. طی بررسی‌های ۸ ساله، در سال اول پس از مداخله‌ی تغییر سبک زندگی، افزایش میزان استرول‌های غیر کلسترولی و کاهش لاتوسترول، مشاهده شد که سطح سرمی بالاتر سیتوسترول و کمپسترول با خطر کمتر و سطح سرمی بالاتر لاتوسترول با خطر بالاتر ابتلا به دیابت نوع ۲ همراه است. همچنین، بر اساس این نتایج، به نظر می‌رسد استرول‌های غیر کلسترولی سرم و استرول‌های پیش‌ساز کلسترول، می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی پیش‌بینی ایجاد دیابت نوع ۲ عمل کنند (۲۲).

پژوهش‌های دیگری نیز بیانگر این موضوع می‌باشند که جذب پایین و سنتز بالای کلسترول با بروز بیشتر دیابت نوع ۲ همراه می‌باشد (۲۳).

در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است که فیتوسترول‌ها و پیش سازهای کلسترول به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی مهمی در جذب روده‌ای و سنتز کبدی کلسترول هستند و پارامترهای بالینی مفیدی در مطالعه‌ی هایپرکلسترولمیا، بتا سیتوسترولمیا، آترواسکلروزیس و بیماری های قلبی و دیابت می باشند. در واقع، تجزیه و تحلیل این نشانگرها موجب درک بهتر هموستاز کلسترول به منظور مداخله‌ی درمانی بهتر می‌شود. به طور مثال، می‌توانند برای هدفمند کردن اثربخشی داروها در جهت کاهش سنتز کلسترول در افراد با سنتز بالا یا در شناسایی افراد با جذب بالا برای درمان های ترکیبی با مهار کننده‌های جذب کلسترول سودمند باشد. بر این اساس، تغییرات در نسبت بین جذب و سنتز کلسترول در چندین

بیماری متابولیک نظیر دیابت نوع ۲ بسیار مورد توجه می‌باشد (۱۳).

به طور کلی، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که در افراد مبتلا به دیابت سنتز کلسترول افزایش و جذب آن کاهش می‌یابد. با توجه به بررسی های انجام شده، ایران از جمله کشورهایی است که به میزان زیاد در معرض خطر ابتلا به دیابت قرار دارد. میزان شیوع دیابت نوع ۲، در سال ۲۰۱۱ برای جمعیت بزرگسال ۷۰-۲۵ سال ایران برابر ۱۱/۳۷ درصد گزارش شده است. به عبارتی، بیش از چهار میلیون بزرگسال ایرانی، مبتلا به دیابت ملیتوس هستند که این رقم نسبت به ۷ سال گذشته، بیش از ۳۵ درصد افزایش یافته است که بخش مهمی از آن، به علت اپیدمی افزایش چاقی می‌باشد (۲۴).

در خصوص چگونگی تغییرات هموستاز کلسترول در بیماری های متابولیک، اطلاعات زیادی برای جمعیت ایران در دست نیست و این مقاله برای اولین بار این تغییرات را در مورد بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ گزارش می کند. در صورت تأیید در مطالعات بیشتر و مشخص شدن دقیق مکانیسم این تغییرات، با توجه به اهمیت بیماری دیابت نوع ۲، تصور می‌رود اندازه‌گیری پروفایل استرولی به عنوان یک روش تشخیصی بتواند افراد با خطر دیابت و افراد پره دیابتیک را شناسایی کند و در پیش‌گیری یا تشخیص به موقع بیماری مؤثر واقع شود؛ چرا که با تغییر در میزان سنتز و جذب کلسترول افراد پره دیابتیک، بدون در نظر گرفتن سطح سایر لیپیدها، ممکن است بتوان با استفاده از داروهای مهار کننده ی سنتز کلسترول و یا تغییر در رژیم غذایی، تغییرات هموستاز کلسترول را بهبود بخشید.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی طرح پژوهشی ۳۹۵۶۶۵ مصوب در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. از این معاونت به خاطر تأمین قسمتی از منابع مالی مطالعه سپاسگزاری می گردد. همچنین، از کلیه‌ی شرکت کنندگان در طرح به خاطر فراهم ساختن امکان انجام تحقیق قدردانی می‌شود.

References

1. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. Oman Med J 2012; 27(4): 269-73.
2. Gray SP, Jandeleit-Dahm K. The pathobiology of diabetic vascular complications--cardiovascular and kidney disease. J Mol Med (Berl) 2014; 92(5): 441-52.
3. Donaghue KC, Wadwa RP, Dimeglio LA, Wong TY, Chiarelli F, Marcovecchio ML, et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. Pediatr Diabetes 2014; 15(Suppl 20): 257-69.
4. Gylling H. Clinical utility of serum markers of cholesterol absorption and synthesis. Curr Opin Lipidol 2014; 25(3): 207-12.
5. 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.
6. Miettinen TA, Gylling H, Nissinen MJ. The role of serum non-cholesterol sterols as surrogate markers of absolute cholesterol synthesis and absorption. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2011; 21(10): 765-9.
7. Rajaratnam RA, Gylling H, Miettinen TA. Impaired postprandial clearance of squalene and apolipoprotein B-48 in post-menopausal women with coronary artery disease. Clin Sci (Lond) 1999; 97(2): 183-92.
8. Miettinen TA, Gylling H, Tuominen J, Simonen P, Koivisto V. Low synthesis and high absorption of cholesterol characterize type 1 diabetes. Diabetes Care 2004; 27(1): 53-8.
9. Gylling H, Hallikainen M, Pihlajamaki J, Simonen P, Kuusisto J, Laakso M, et al. Insulin sensitivity regulates cholesterol metabolism to a greater extent than obesity: Lessons from the METSIM Study. J Lipid Res 2010; 51(8): 2422-7.
10. Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. Atherosclerosis 2000; 153(1): 241-8.
11. American Diabetes Association. (2) Classification and diagnosis of diabetes. Diabetes Care 2015; 38(Suppl): S8-S16.
12. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18(6): 499-502.
13. 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.
14. Jain HR, Shetty V, Singh GS, Shetty S. A Study of Lipid Profile in Diabetes Mellitus. Int J Sci Study 2016; 4(9): 56-61.
15. Veronica G, Esther RR. Aging, metabolic syndrome and the heart. Aging Dis 2012; 3(3): 269-79.
16. Subramanian S, Chait A. Hypertriglyceridemia secondary to obesity and diabetes. Biochim Biophys Acta 2012; 1821(5): 819-25.
17. Laakso M, Kuusisto J. Insulin resistance and hyperglycaemia in cardiovascular disease development. Nat Rev Endocrinol 2014; 10(5): 293-302.
18. Pihlajamaki J, Gylling H, Miettinen TA, Laakso M. Insulin resistance is associated with increased

cholesterol synthesis and decreased cholesterol absorption in normoglycemic men. J Lipid Res 2004; 45(3): 507-12.
19. Cederberg H, Gylling H, Miettinen TA, Paananen J, Vangipurapu J, Pihlajamaki J, et al. Non-cholesterol sterol levels predict hyperglycemia and conversion to type 2 diabetes in Finnish men. PLoS One 2013; 8(6): e67406.
20. Simonen PP, Gylling HK, Miettinen TA. Diabetes contributes to cholesterol metabolism regardless of obesity. Diabetes Care 2002; 25(9): 1511-5.
21. Gylling H, Tuominen JA, Koivisto VA, Miettinen TA. Cholesterol metabolism in type 1 diabetes. Diabetes 2004; 53(9): 2217-22.
22. de Mello VD, Lindstrom J, Eriksson JG, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Pihlajamaki J, et al. Markers of cholesterol metabolism as biomarkers in predicting diabetes in the Finnish Diabetes Prevention Study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2015; 25(7): 635-42.
23. Schofield CJ, Sutherland C. Disordered insulin secretion in the development of insulin resistance and Type 2 diabetes. Diabet Med 2012; 29(8): 972-9.
24. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: Principles of pathogenesis and therapy. Lancet 2005; 365(9467): 1333-46.

DOI: *10.22122/jims.v37i519.10998* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 519, 3rd Week, May 2019**

Received: 06.11.2018 Accepted: 12.02.2019 Published: 05.05.2019

Cholesterol Synthesis and Absorption Markers in Type 2 Diabetes Mellitus

Bentolhoda Hayatmoghadam[1], Fouzieh Zadhoush[2], Fahime Amirkhani[1], Morteza Pourfarzam[3]

Original Article

Abstract

Background: Type 2 diabetes mellitus **(**T2DM) is the most common form of diabetes caused by insufficient insulin secretion, insulin resistance, or both. Considering the high prevalence of T2DM, and the role of various components in the progress of the disease, and in order to better understand some of the mechanisms of pathogenesis responsible for the progression of T2DM, this study aimed to investigate if the levels of cholesterol synthesis and absorption markers in patients with T2DM was different compared with healthy subjects.

Methods: In this cross-sectional study, 150 men between 40 and 60 years of age were selected from people attending Isfahan diabetes centers and the Isfahan Endocrine and Metabolism Research Center, Isfahan, Iran. The subjects were divided into control group including 50 apparently healthy men with normal fasting blood glucose (FBG) and no history of T2DM, and 100 patients with FBG ≥ 126 mg/dl and a history of T2DM. Fasting serum and plasma samples were used to measure biochemical parameters using commercial laboratory methods, and absorption and synthesis markers of cholesterol, using gas chromatography-mass spectrometry technique. Statistical analyzes were done via SPSS software using Kolmogorov-Smirnov, independent t, and Mann-Whitney tests at the significance level of $P < 0.05$.

Findings: There were significant differences in the biochemical and anthropometric parameters between the studied groups. Evaluation of the concentration ratio of absorption (β-sitosterol and campesterol) and synthesis (lathosterol and desmosterol) markers to cholesterol showed a significant increase in the synthesis markers, and a significant decrease in the absorption markers in the patients group compared to the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of this study indicate that the rate of cholesterol synthesis is increased, and that of cholesterol absorption is decreased in a population of Iranian patients with T2DM. These findings are in accordance with data from other populations, and may indicate that the cholesterol synthesis and absorption markers may be used as surrogate markers to better understand some of the pathogenesis mechanisms involved in the development and complications of T2DM, and may help to predict, and treat its complications more effectively in the future.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, Cholesterol, Sitosterol, Campesterol, Lathosterol, Desmosterol, Gas chromatography-mass spectrometry, Sterol

Citation: Hayatmoghadam B, Zadhoush F, Amirkhani F, Pourfarzam M. **Cholesterol Synthesis and Absorption Markers in Type 2 Diabetes Mellitus.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(519): 214-21.

1- Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Morteza Pourfarzam, Email: pourfarzam@pharm.mui.ac.ir