

The Relationship between Serum Homocysteine and Incidence of Atherosclerosis in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Bahman Moradi Poodeh¹,
Kasra Ghanaat¹,
Saeid AbedianKenari²,
Zahra Kashi³,
Jamshid Izadi⁴,
Abbas Khonakdar Tarsi⁴

¹ MSc Student in Biochemistry, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Associate Professor, Immunogenetics Research center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Internal Medicine, Diabetes Research Centre, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Biochemistry and Genetics, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 19, 2014 ; Accepted January 17, 2015)

Abstract

Background and purpose: Cardiovascular diseases are the leading causes of death in people with diabetes. These diseases occur earlier in diabetics than non-diabetics. Increased plasma homocysteine levels are among the factors that accelerate atherosclerosis in diabetic patients. Plasma homocysteine levels increase significantly in patients with atherosclerosis. Therefore, in this study, homocysteine levels were assessed in patients with diabetes mellitus and coronary atherosclerosis.

Materials and methods: A case-control study was conducted in which the subjects were divided into three groups (n=25 per group): the group of diabetic patients with atherosclerosis, diabetic patients without atherosclerosis, and atherosclerotic patients without diabetes. The fasting plasma homocysteine levels and other variables were measured by ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) and routine laboratory methods, respectively. Data analysis was performed applying Spearman and Pearson tests in SPSS V.13.

Results: The means of homocysteine levels in diabetic patients with atherosclerosis, in atherosclerosis subjects without diabetes and in diabetic patients without atherosclerosis were 18.52 ± 6.36 , 13.56 ± 4.53 , and 9.99 ± 3.3 $\mu\text{mol/L}$, respectively. We observed significant differences between the three groups ($P < 0.05$).

Conclusion: In diabetic patients with atherosclerosis, the serum concentration of homocysteine was higher than those of the other groups. High levels of homocysteine may have a role in high prevalence of atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus.

Keywords: Homocysteine, diabetes, atherosclerosis

بررسی ارتباط بین میزان هوموسیستئین سرم با ایجاد آترواسکلروز در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲

بهمن مرادی پوده^۱

کسری قناعت^۱

سعید عابدیان کناری^۲

زهرا کاشی^۳

جمشید ایزدی^۴

عباس خنکدار طارسی^۴

چکیده

سابقه و هدف: بیماری‌های قلبی عروقی از علل عمده مرگ و میر در افراد دیابتی هستند. این بیماری در افراد دیابتی نسبت به افراد غیر دیابتی زودتر رخ می‌دهد. افزایش سطح هوموسیستئین سرم از جمله عواملی است که روند ایجاد آترواسکلروز در افراد دیابتی را تسریع می‌کند. از آن جا که هوموسیستئین سرم به طور معنی‌دار در بیماران مبتلا به آترواسکلروز افزایش می‌یابد، هدف از انجام این مطالعه مقایسه سطح هوموسیستئین در بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز با بیماران دیابتی و قلبی بوده است.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع مطالعه موردی-شاهدی بود که در آن افراد مورد مطالعه به سه گروه تقسیم شدند شامل بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز (۲۵ نفر)، بیماران دیابتی بدون آترواسکلروز (۲۵ نفر) و بیماران مبتلا به آترواسکلروز بدون دیابت (۲۵ نفر)، هوموسیستئین ناشتای سرم به روش ELISA و سایر متغیرها به کمک روش‌های معمول آزمایشگاهی سنجش شدند. بررسی آماری با استفاده از آزمون اسپیرمن و پیرسون انجام گردید.

یافته‌ها: مقدار هوموسیستئین (میانگین \pm انحراف معیار) برای بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز $18/52 \pm 6/36 \mu\text{mol/L}$ ، برای بیماران آترواسکلروزی بدون دیابت $13/56 \pm 4/53 \mu\text{mol/L}$ و برای بیماران دیابتی بدون آترواسکلروز $9/99 \pm 3/3 \mu\text{mol/L}$ می‌باشد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین سه گروه از بیماران وجود داشت ($p < 0/05$).

استنتاج: میزان هوموسیستئین بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز بیش‌تر از دو گروه دیگر بود. بالا بودن میزان هوموسیستئین ممکن است در شیوع بالای آترواسکلروز در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نقش داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: هوموسیستئین، دیابت، آترواسکلروز

مقدمه

بسیار طولانی، همچنان جزء بیماری‌های پرخطر و کشنده به حساب می‌آید. زمینه اختلال ژنتیکی در این

دیابت از نظر عامل پیدایش و یا نوع علائم در گیر از گروه بیماری‌های ناهمگن است و با وجود تلاش‌های

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۹۴-۹۲ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مؤلف مسئول: عباس خنکدار طارسی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: khonakdarab@gmail.com

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی بالینی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه ایمنی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه داخلی، مرکز تحقیقات دیابت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار، گروه بیوشیمی - بیوفیزیک و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۲۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۸/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۰/۲۷

بیماری هنوز کاملاً شناخته نشده است اما پراکندگی و وقوع آن زمینه بسیار قوی خانوادگی دارد اگرچه بدون تردید، اختلال تک و یا حتی چند ژنی می‌تواند جزء عوامل اصلی ایجادکننده باشد(۱). براساس یافته‌های فدراسیون بین‌المللی دیابت (International Diabetes Federation)، گروه بیماری‌های دیابت یکی از چالش برانگیزترین مشکلات بهداشتی امروزی به حساب می‌آیند. تخمین زده می‌شود که بالغ بر ۳۵۰ میلیون نفر در سطح جهان مبتلا به این بیماری‌ها باشند. هم‌چنین انتظار می‌رود که تعداد این بیماران تا سال ۲۰۳۰ به ۵۵۰ میلیون نفر افزایش یابد(۲). از جمله مشکلات و خطرهای مرتبط با آن، پیدایش اختلالات مزمن به‌ویژه اختلالات عروقی میکروسکوپی در بیماران مبتلا است. اختلال مویرگی در اندام‌هایی مانند کلیه، قلب، مغز و چشم خود را نشان می‌دهد. احتمال وقوع حمله‌های قلبی و مغزی در افراد بزرگسال دیابتی، ۲ تا ۴ برابر بیش‌تر از افراد غیر دیابتی است. بیماری‌های قلبی عروقی که بیماری شریان کرونر، فشار خون بالا، عارضه مادرزادی قلبی و سکته را شامل می‌شوند از دلایل عمده مرگ و میر در جهان به حساب می‌آیند(۳). آمار زیر که به وسیله جامعه دیابت آمریکا (American Diabetes Association) از بیماران دیابتی این کشور منتشر شد، نشان دهنده اهمیت این اختلال‌ها است:

- سال ۲۰۰۴، ۶۸ درصد از افراد دیابتی تلف شده به دلیل اختلال‌های قلبی و ۱۶ درصد به دلیل حمله‌های مغزی (بیماران ۶۵ سال و مسن‌تر) تلف شده‌اند.

- در خلال سالیان ۲۰۰۸-۲۰۰۵، ۶۸ درصد افراد دیابتی ۲۰ ساله و یا مسن‌تر، به فشار خون مبتلا بوده‌اند.

- در همین سه سال تعداد افراد دیابتی ۴۰ ساله و یا مسن‌تر که به اختلال چشمی (Retinopathy) مبتلا بوده‌اند، ۴/۲ میلیون نفر بوده است. از این تعداد ۴/۴ درصد (۷۰۰ هزار نفر) دارای اختلال شدید بودند که منجر به از دست دادن توانایی بینایی آنان شده است.

- در سال ۲۰۰۸، ۴۴ درصد از افراد دیابتی دارای

موارد نارسایی کلیوی بوده‌اند که تعداد بیش از ۲۰۰ هزار نفر از آنان در مرحله نهایی (End-Stage) بیماری قرار داشتند. فاکتورهای خطر عمده و مستقل برای بیماری‌های قلبی عروقی شامل استعمال سیگار، فشار خون بالا، افزایش کلسترول تام و کلسترول-LDL، کاهش کلسترول-HDL سرم، دیابت ملیتوس و افزایش سن می‌باشند. این فاکتورهای خطر معمولاً برای ارزیابی وضعیت فردی که به نظر می‌رسد در معرض بیماری‌های قلبی عروقی قرار گرفته است، به کار می‌روند(۴)، اما این فاکتورهای خطر شاخص می‌توانند ۲۵ تا ۳۰ درصد فاکتورهای خطر قلبی عروقی را در بیماران شامل شوند. به نظر می‌رسد که عوامل دیگری نقش کلیدی در پیشرفت آترواسکلروز داشته باشند. از طرف دیگر با وجود بررسی‌های فراوان در مورد آترواسکلروز، هنوز نکات بسیاری از نظر مکانیسم پیدایش این اختلالات، کشف نشده، باقی مانده‌اند. در سالیان اخیر یکی از فاکتورهای قابل توجه در این زمینه ترکیب متابولیک واسطه‌ی هوموسیستین (Homocysteine) است. در بیماران دیابتی به علت فقدان انسولین کافی، پروتئین‌های بدن به ویژه نوع عضلانی تجزیه می‌شوند و همراه با پروتئین‌های غذایی مقدار بیش از حد معمول متیونین را وارد خون می‌کنند که طی متابولیسم به هوموسیستین تبدیل می‌گردد. هوموسیستین یک اسید آمینه ناپایدار است و با داشتن گروه واکنش‌پذیر سولفیدریل (SH) می‌تواند در حضور اکسیژن مولکولی و در pH فیزیولوژیک، در اثر اکسیداسیون به دی‌سولفید تبدیل گردد (RSSR) که می‌تواند در نتیجه اتواکسیداسیون، با تولید رادیکال آزاد اکسیژن، موجب استرس اکسیداتیو شود(۵): $2 RSH + O_2 \rightarrow RSSR + [O_2^-] \rightarrow H_2O_2$

رادیکال آزاد اکسیژن، کلسترول LDL (LDL-c) را اکسید و تولید LDL-oxd می‌کنند. LDL-oxd واسطه‌ای کلیدی در بیماری آترواسکلروز است(۶) و باعث آزادسازی ملکول‌های چسبندگی سلول‌های عروقی یا (vascular cell adhesion molecule (VCAM)) و

آن جایی که هموسیستئین هنوز به عنوان فاکتور خطر برای بیماری دیابت به طور کامل پذیرفته نشده است، در این مطالعه سعی بر آن شده تا آن را به عنوان یک فاکتور خطر کامل برای بیماری دیابت مطرح نمود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع موردی-شاهدی بوده است. پرسشنامه‌ای طراحی شد و در آن پرسشنامه گفته شد که نمونه‌های بیماران برای کارهای تحقیقاتی استفاده خواهد شد و کسانی که رضایت خود را اعلام نمودند، وارد مطالعه شدند. تعداد حجم نمونه با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$n = \frac{(z_1 - \alpha/2 + z_{1-\beta})^2 \times s_1^2 + s_2^2}{(\mu_0 - \mu_1)^2}$$

$$\alpha = 5\% \quad \beta = 20\%$$

طبق فرمول مذکور برای هر گروه از بیماران، تعداد ۲۵ نفر انتخاب گردید که از بین آن‌ها، ۲۵ مورد بیمار قلبی بعد از آنژیوگرافی توسط پزشک مورد تایید قرار گرفت و به عنوان بیماران قلبی عروقی انتخاب شدند. ۲۵ مورد دیگر از بیماران قلبی عروقی، مبتلا به دیابت نوع ۲ هم بودند که توسط قند خون دو بار ناشتای بالای ۱۲۵ مورد شناسایی قرار گرفتند. ۲۵ نفر دیگر، بیمارانی بودند که فقط مبتلا به بیماری دیابت نوع ۲ و دارای قند خون ناشتای بالای ۱۲۵ بودند و از نظر بیماری قلبی هیچ مشکلی نداشتند و از همه این ۲۵ نفر آزمون ورزش و اکو گرفته شد و افرادی که آزمون ورزش و اکو آن‌ها مثبت بود، تحت آنژیوگرافی قرار گرفتند و بعد از آنژیوگرافی مشخص شد که این افراد دارای بیماری قلبی نمی‌باشند. در این مطالعه ۲۵ نفری که هم بیماری قلبی عروقی و هم دیابت را داشتند به عنوان گروه مورد و دو گروه دیگر به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند به طوری که افراد حاضر در سه گروه از نظر سن، جنس، سابقه خانوادگی آترواسکلروز، شاخص توده بدنی با هم

پروتئین-۱ جذب کننده شیمیایی مونوسیت (Monocyte chemotactic protein 1 (MCP1)) می‌گردد. این مولکول‌ها سبب افزایش چسبندگی و نفوذپذیری مونوسیت می‌شوند. به دنبال این مرحله مونوسیت به ماکروفاژ تبدیل و با به دام انداختن LDL-oxd به سلول‌های کفی تبدیل می‌گردد که این سلول‌ها باعث تسریع پیشرفت مرحله نخست پیدایش آترواسکلروز می‌شوند. هم چنین رادیکال‌های آزاد تولید شده می‌توانند با نیتریک اکسید (NO) ترکیب شوند و با تبدیل آن به پروکسی نیتريت، مانع اثر گشادکنندگی NO و در نهایت موجب تشدید آترواسکلروز گردند (۷).

بررسی‌های فراوانی تلاش نموده‌اند هموسیستئین را به عنوان یک عامل خطر کامل برای بیماری دیابت معرفی نمایند (۸)، ولی هنوز تا پذیرفته شدن، بررسی‌های بیش تری مورد نیاز هستند (۹). افزایش سطح هموسیستئین و دیابت ملیتوس، هر دو به تنهایی می‌توانند سبب افزایش خطر ابتلا به بیماری قلبی عروقی شوند و از طرفی با ادغام این دو فاکتور، خطر ابتلا به مراتب بیش تر می‌گردد. گزارش شده است که غلظت هموسیستئین خون بیمارانی که همزمان مبتلا به دیابت و آترواسکلروز هستند، بیش از بیماران مبتلا به آترواسکلروز یا دیابت به تنهایی می‌باشد (۱۰، ۱۱). مطالعات متعددی تلاش نموده‌اند رابطه منطقی بین نقش تخریبی این ترکیب و دیابت را تفهیم نمایند که در این مورد نیز لازم است بررسی‌های بیش تری به ویژه از نوع مکانیسمی انجام پذیرد. اکثر مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که هیپرهوموسیستئینی باید به عنوان یک عامل خطر برای بیماران قلبی عروقی در نظر گرفته شود. از آن جایی که بیماری قلبی عروقی در افراد مبتلا به دیابت به مراتب بیش تر از افراد سالم است، می‌توان سهم هموسیستئین را در شیوع بیش تر بیماری قلبی عروقی در افراد مبتلا به دیابت بررسی کرد. هدف از انجام این بررسی تعیین غلظت هموسیستئین خون در بیماران دیابتی و رابطه آن با بروز آترواسکلروز می‌باشد. از

روش ایمونواسی آنزیمی برای اندازه گیری هوموسیستین کل در خون می باشد که میزان جذب به طور معکوس با غلظت هوموسیستین کل در سرم ارتباط دارد. برای اندازه گیری پروفایل لیپیدی از کیت های شرکت پارس آزمون استفاده و مقدار LDL-C سرم توسط معادله فرید-والد محاسبه شد. اندازه گیری مقدار گلوکز، اسید اوریک، بیلروبین کل و کراتینین سرم با استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون انجام گردید. متغیرهای کمی در سه گروه با استفاده از Student-t test و متغیرهای کیفی با استفاده از χ^2 مورد مقایسه قرار گرفتند و از آزمون اسپیرمن و پیرسون برای تعیین ارتباط بین متغیرها استفاده و مقادیر $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار تلقی گردید.

یافته ها

از ۲۵ بیمار دیابتی مبتلا به آترواسکلروز، ۱۱ مرد و ۱۴ زن، از ۲۵ بیمار مبتلا به آترواسکلروز بدون بیماری دیابت نوع ۲ نیز ۱۱ مرد و ۱۴ زن و از ۲۵ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ بدون بیماری آترواسکلروز، ۱۲ مرد و ۱۳ زن انتخاب شدند. افراد سه گروه از نظر سن، جنس، مصرف سیگار، سابقه خانوادگی آترواسکلروز و شاخص توده بدنی همسان سازی شدند. جدول های شماره ۱ و ۲، نتایج مربوط به پروفایل لیپیدی، گلوکز و سایر فاکتورهای سرمی مورد مطالعه را نشان می دهند. علاوه بر این آنالیز رگرسیون مربوط به فاکتورهای مورد سنجش در جدول شماره ۳ نشان داده شده اند.

همسان سازی شدند. از میان بیماران دچار آترواسکلروز، تنها افرادی انتخاب شدند که ۱ یا بیش تر از یک شریان کرونری به طور قابل توجهی ($\leq 70\%$) دچار گرفتگی بود. همه این بیماران کم تر از ۱۰ سال از تشخیص بیماری آنها گذشته بود و در یک سال گذشته از انسولین یا متفورمین برای درمان خود استفاده نکرده بودند. هموگلوبین A_{1c} تمامی بیمارانی که مبتلا به دیابت بودند بالاتر از ۶/۵ درصد بود. افراد سیگاری، مبتلا به کم خونی و دارای بیماری های کبدی و خانم های باردار و همچنین افرادی که بلوک قلبی شاخه چپ داشتند از آنجا که تعیین انفارکتوس بر اساس نوار قلب نامشخص است، از این مطالعه حذف شدند. بیماران حاضر از نظر سن در محدوده بین ۳۵ تا ۸۰ سال قرار داشتند. پرسشنامه ای برای این مطالعه تنظیم شد که در آن مشخصات افراد شرکت کننده در طرح شامل سن، جنس، فشار خون، هموگلوبین A_{1c}، مدت زمان تشخیص بیماری، سابقه خانوادگی بیماری و غیره مورد پرسش قرار گرفت و از همه افرادی که وارد مطالعه شدند، نمونه گیری خون ناشتا انجام شد و آنگاه متغیرها با روش های آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفتند. بعد از این که نمونه های خون در محیط آزمایشگاه منعقد گردید، ۱۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه در حرارت اتاق سانتیفرز و سرم آنها جدا شد. نمونه های جمع آوری شده تا زمان آزمایش در دمای ۷۰- درجه نگهداری شدند.

برای اندازه گیری هوموسیستین از روش ELISA و کیت شرکت Axis-shield diagnostic با cv کم تر از ۲۰ درصد استفاده شد. Axis® Homocysteine یک

جدول شماره ۱: مقایسه مقدار کلسترول تام، کلسترول LDL و HDL و تری گلیسرید سرم در سه گروه بیماران مورد مطالعه

متغیر	بیماران قلبی - دیابتی (مورد)	بیماران قلبی (شاهد)	بیماران دیابتی (شاهد)
	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین
سن (سال)	۶۰ ± ۱۰	۵۹ ± ۱۲	۵۵ ± ۸
کلسترول تام (mg/dL)	۲۳۸/۶۴ ± ۳۴/۶۷ ***	۲۱۷/۳۶ ± ۲۵/۰۸ *	۱۶۸/۰۴ ± ۳۲/۰۱
LDL-C (mg/dL)	۱۵۸/۳۵ ± ۳۴/۴ *	۱۴۱/۰۳ ± ۲۴/۸۳	۹۵/۱۸ ± ۲۵/۹۳
HDL-C (mg/dL)	۳۶/۷۲ ± ۷/۹۱	۳۷/۶ ± ۶/۷۶	۴۱/۹۶ ± ۹/۲۶
تری گلیسرید (mg/dL)	۲۲۱/۴۴ ± ۳۸/۴۵ *	۱۹۳/۶۴ ± ۵۳	۱۵۷/۷۲ ± ۴۸/۱۳

* تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) با بیماران دیابتی
** تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) با بیماران قلبی را نشان می دهد.
HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol. LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol.

جدول شماره ۲: مقایسه مقادیر گلوکز، اسید اوریک، کراتینین، بیلروبین تام، اوره، فشار خون سیستولی و دیاستولی و توده بدنی در سه گروه بیماران مورد مطالعه

متغیر	بیماران قلبی-دیابتی (مورد)	بیماران قلبی (شاهد)	بیماران دیابتی (شاهد)
گلوکز (mg/dL)	۱۴۴/۰۴±۲۵/۶۲*	۹۱/۸±۱۰/۳۹	۱۴۱/۲۴±۲۹/۱۹*
اسید اوریک (mg/dL)	۵/۶۲±۲/۱۶	۵/۹۳±۲/۵۹	۵/۷۶±۱/۳۶
کراتینین (mg/dL)	۰/۶۸±۰/۲۴	۰/۵۶±۰/۲۲	۰/۶۷±۰/۲۱
بیلروبین تام (mg/dL)	۰/۶۳±۰/۲	۰/۶۷±۰/۲۲	۰/۶۵±۰/۲۲
اوره (mg/dL)	۱۹/۶۸±۴/۰۶	۱۹/۹۶±۵/۱۴	۱۹/۵۲±۸/۰۸
شاخص توده بدنی (kg/m ²)	۲۹/۲۸±۱/۹۱	۲۸/۴۴±۲/۸۲	۳۰/۰۳±۴/۴۱

* تفاوت معنی دار ($p < 0.05$) با بیماران قلبی را نشان می دهد. از نظر میزان گلوکز خون تفاوت آماری معنی داری در بیماران مورد با بیماران دیابتی وجود نداشت ولی در مقایسه با بیماری آترواسکلروز تفاوت معنی دار وجود داشت ($p < 0.05$).

high density lipoprotein- cholesterol :HDL-C
low density lipoprotein-cholesterol :LDL-C

جدول شماره ۳: آنالیز رگرسیون برای LDL و TG و کلسترول توتال بین بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز با بیماران دیابتی و آترواسکلروزی

نوع بیماری*	نسبت شانس (OR)	حدود اطمینان ۹۵٪ برای نسبت شانس		معنی داری
		کران پایین	کران بالا	
آترواسکلروز	عرض از مبداء LDL	۰/۹۸۲	۰/۶۶۴	۰/۰۶۴
	TG	۰/۹۸۸	۰/۲۰۸	۰/۲۰۸
	Chol	۰/۹۹۸	۰/۹۵۲	۰/۹۵۲
دیابتی	عرض از مبداء LDL	۰/۸۹۰	۰/۰۵۳	۰/۰۰۱
	TG	۰/۹۶۸	۰/۰۲۰	۰/۰۰۱
	Chol	۱/۰۴۲	۰/۴۶۴	۰/۴۶۴

The reference category is: Diabetic+Atherosclerosis.*

بین سه فاکتور لیپیدی و بیماری انجام شد. در این روش افرادی که به بیماری دیابت و آترواسکلروز مبتلا بودند، به صورت جداگانه با افرادی که فقط آترواسکلروز و فقط بیماری دیابت داشتند، مقایسه شدند. طبق این بررسی هیچ یک از سه فاکتور لیپیدی بین دو گروه بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز و آترواسکلروزی اختلاف معنی داری ندارند. اما بررسی ارتباط بین بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز و بیماران دیابتی نشان می دهد که TG برای بیماران دیابتی نسبت به بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز حالت محافظتی دارد ($p = 0.02$, $OR = 0.995$). مقایسه مقادیر اوره، کراتینین، بیلروبین، اسید اوریک، فشار خون سیستولی و شاخص توده بدنی تفاوت معنی داری را بین سه گروه نشان نداد. تفاوت معنی داری از نظر میانگین فشار خون دیاستولی

مقایسه مقدار تری گلیسرید تفاوت آماری معنی داری بین گروه مورد با بیماری آترواسکلروز وجود نداشت ولی بین گروه مورد و بیماری دیابت، تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.05$). مقایسه میزان کلسترول خون تفاوت آماری معنی داری بین گروه مورد با دو گروه دیگر نشان نداد. از نظر میزان HDL-C تفاوت آماری معنی داری بین گروه مورد با دو گروه دیگر وجود نداشت.

از نظر آماری تفاوت معنی داری بین مقادیر LDL-C بیماران آترواسکلروز و بیماران گروه مورد وجود نداشت ولی بین بیماری دیابت و گروه مورد ارتباط معنی داری وجود داشت ($p < 0.05$).

در ادامه با استفاده از روش Multinomial Logistic Regression بررسی ارتباط

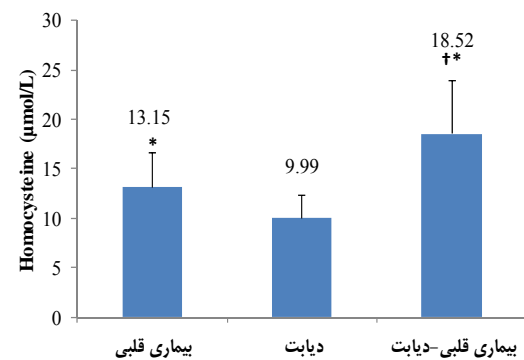
دیابت به خصوص دیابت نوع ۲ و هم‌چنین در افراد پیش‌دیابتی که نسبت به انسولین مقاومت نشان می‌دهند، نسبت به گروه شاهد افزایش می‌یابد. هم‌چنین سطح هوموسیستین در افراد به غلظت هورمون انسولین، انسولین درمانی و نیز داروهایی که روی غلظت هورمون انسولین تأثیر می‌گذارند، بستگی دارد (۱۱). در مطالعه دیگری Yumi M و همکاران نشان دادند که انسولین سطوح هوموسیستین پلاسما را با کاهش فعالیت آنزیم سیستاتینوین β - سنتتاز و با افزایش فعالیت آنزیم متیلن تتراهدروفلوات ردوکتاز کبدی، افزایش می‌دهد (۱۲). افزایش هوموسیستین در بیماری دیابت با اختلال عملکردی اندوتلیال، مقاومت انسولینی، اختلالات لیپیدی خون، کنترل ضعیف بیماری و استرس اکسیداتیو مرتبط می‌باشد (۱۳).

افزایش هوموسیستین خون به عنوان یک فاکتور خطر برای بیماری‌های انسدادی عروق شناخته می‌شود و سطح بالای هوموسیستین پلاسما در بیماران مبتلا به عروق محیطی مثل بیماری‌های عروق کرونر وجود دارد. در مطالعات آینده‌نگری که اخیراً روی جمعیت‌های بزرگ انجام گرفته است، سطح افزایش یافته هوموسیستین در بیماران مبتلا به دیابت گزارش شده است (۱۴).

Hoogven و همکاران در مطالعه خود افزایش مرگ و میر را در افراد دیابتی که سطح افزایش یافته هوموسیستین دارند، به خاطر بیماری‌های عروق کرونری گزارش کرده‌اند (۱۵). ارتباط قوی بین سطح افزایش یافته هوموسیستین و دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های ژاپنی گزارش شده است (۱۶). در مطالعه حاضر سطح افزایش یافته هوموسیستین در بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز بیش‌تر از بیماران آترواسکلروزی و در این گروه از بیماران نیز بیش‌تر از بیماران دیابتی بود. Rudy و همکاران نتایج مشابه نتایج مطالعه حاضر در تحقیق خود گرفته‌اند و در مطالعات خود نشان دادند که هم افزایش سطح هوموسیستین و هم دیابت ملیتوس هر دو به تنهایی می‌توانند باعث بیش‌تر شدن خطر ابتلا

بین گروه مورد با بیماری آترواسکلروز وجود نداشت اما فشار دیاستولی بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز و آترواسکلروز تفاوت قابل ملاحظه‌ای با بیماران دیابتی داشتند.

میانگین هوموسیستین در گروه مورد $6/36 \pm 18/52 \mu\text{mol/L}$ و برای بیماران مبتلا به دیابت $4/53 \pm 13/56 \mu\text{mol/L}$ و برای بیماران مبتلا به دیابت $3/3 \pm 9/99 \mu\text{mol/L}$ بوده است که تفاوت معنی داری بین بیماران دیابتی مبتلا به آترواسکلروز و دو گروه دیگر بیماری وجود داشت ($p > 0/05$). هم‌چنین تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین هوموسیستین بیماران قلبی و بیماران دیابتی وجود داشت ($p < 0/05$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: میانگین مقادیر هوموسیستین در سه گروه مورد مطالعه. مقدار هوموسیستین در گروه بیماران قلبی-دیابتی در مقایسه با دو گروه دیگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارد. * تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) با بیماران دیابتی و † تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) با بیماران قلبی را نشان می‌دهد.

بحث

در این مطالعه مقدار هوموسیستین سرم و ارتباط آن با احتمال بروز بیماری‌های قلبی عروقی در سه گروه بیماران دیابتی، دیابتی- قلبی و قلبی مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری هوموسیستین سرمی در سه گروه نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی داری بین هوموسیستین گروه مورد با دو گروه دیگر وجود دارد. در مطالعه‌ای که Meigs و همکاران انجام دادند، نشان داده شد که سطح هوموسیستین پلاسما در افراد مبتلا به

به بیمارهای قلبی عروقی شوند. به علاوه وقتی که این دو فاکتور با هم جمع شوند، خطر ابتلا به مراتب بیش تر می شود. به نظر می رسد در بیمارانی که هم دیابت و هم آترواسکلروز دارند غلظت هموسیستئین خون بیش تر از بیماران دچار آترواسکلروز به تنهایی و یا بیماری دیابت به تنهایی می باشد (۱۷). مطالعه حاضر این مزیت را نسبت به دیگر مطالعات دارد که همزمان بیماران دیابتی و آترواسکلروزی و بیمارانی که مبتلا به هر دو بیماری فوق هستند را در مطالعه قرار داده است. علل عمده مشکلات عروقی در بیماران دیابتی نوع ۲ ممکن است استرس ناشی از هیپرگلیسمی باشد. منبع بالقوه دیگر استرس اکسیداتیو، افزایش هموسیستئین است (۱۸). مطالعه‌ای که توسط Signorello و همکاران صورت گرفته نشان داد که هموسیستئین برای اتواکسیداسیون مستعد است، احتمال آسیب اکسیداتیوی سلول‌های عروقی را از طریق کاهش آزادسازی نیتریک اکسید از سلول‌های اندوتلیال و پلاکت‌ها، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تشکیل ترومبوکسان A2 در پلاکت‌ها و افزایش اکسیداسیون LDL افزایش می دهد (۱۹). مطالعات قلبی هنوز نتوانسته اند هموسیستئین را به عنوان یک فاکتور خطر مستقل برای دیابت معرفی کنند و پیشنهاد کرده اند مطالعات بیش تری در جمعیت‌های مختلف صورت بگیرد و مطالعه حاضر نیز در همین جهت بوده است. در مطالعه حاضر بالا بودن سطح هموسیستئین در گروه مورد مطالعه، رابطه‌ای مثبت و معنی دار را بین هموسیستئین و بیماری عروق کرونر در مبتلایان به دیابت نوع ۲ را نشان می دهد. بررسی‌های اخیر فرضیه ارتباط بین غلظت هموسیستئین سرم در بیماران دیابتی با بروز بیماری قلبی عروقی را تا حدی قوت می بخشد (۲۰). یافته‌های مطالعه حاضر نیز تقویت کننده این فرضیه است که افزایش سطح هموسیستئین سرم به طور مستقل از سایر فاکتورهای خطر اصلی، شانس ابتلا به بیماری‌های ایسکمیک قلبی را در افراد دیابتی نوع ۲ افزایش می دهد. با توجه به شیوع بالاتر

افزایش هموسیستئین خون در کشور ما نسبت به سایر کشورها (۲۱) و ابتلای دو الی سه برابری بیماران دیابتی نسبت به افراد عادی به بیماری قلبی عروقی (۲۲)، به نظر می رسد افزایش سطح هموسیستئین در افراد مبتلا به دیابت، نقش مهم و موثری در پیشرفت بیماری آترواسکلروز داشته باشد. بنابراین پیشنهاد می گردد با توجه به نقش احتمالی تخریبی هموسیستئین در تسریع روند بروز آترواسکلروز در بیماران دیابتی، میزان هموسیستئین خون افراد دیابتی به طور منظم تحت پایش قرار گیرد. با این حال نیاز است تا بررسی‌های جامع تر در گروه‌های هدف به منظور کسب نتایج دقیق تر صورت گیرد.

در مجموع با وجود این شواهد، دیابت یکی از عواملی است که احتمالاً از طریق‌ی که هنوز کاملاً مشخص نشده است با افزایش سطح هموسیستئین خون باعث تشدید اثرات هموسیستئین در تسریع روند آترواسکلروز و ایجاد بیماری‌های عروق کرونری قلب می گردد. لذا هموسیستئین در بیماران دیابتی می تواند همان کلید گم شده در پیدایش سریع و منتشر آترواسکلروز باشد.

بالا بودن سطح هموسیستئین پلاسما می تواند عامل خطر مستقلی برای آترواسکلروز باشد و حتی افزایش متوسط آن ممکن است خطر بیماری قلبی عروقی در بیماران دیابتی نوع دو را تشدید نماید. بنابراین برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی در بیماران دیابتی، بررسی و کنترل فاکتورهای خطر حائز اهمیت است و تلاش در جهت کاهش هموسیستئین احتمالاً کمک زیادی به کاهش عوارض قلبی عروقی و افزایش طول عمر افراد دیابتی خواهد کرد. از آن جا که میزان هموسیستئین سرم وابسته به ویتامین‌های فولات و کوبالامین است لذا توصیه می شود که اندازه گیری همزمان هموسیستئین با این ویتامین‌ها موثرتر خواهد بود. هم چنین با افزایش حجم نمونه و همسان سازی بیش تر بین گروه‌ها نتایج معتبرتر خواهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهش و مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به جهت حمایت مالی و تامین تجهیزات مورد نیاز این طرح تشکر می کنند. از کلیه کارمندان آزمایشگاه کلینیک طوبی ساری و به ویژه آقای

دکتر سعید عابدیان کناری و هم چنین از کلیه کارمندان آزمایشگاه تحقیقاتی بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران که در ارائه این طرح با ما همکاری کرده اند، تقدیر و تشکر می شود. این مقاله از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی بالینی حاصل شده است.

References

1. CA Burtis, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Amsterdam: Elsevier; 2006.
2. International Diabetes Federation DA, The Diabetes Atlas released on World Diabetes Day 5th. 2011.
3. Tom TJ. International mortality from heart disease: rates and trends. *Int J Epidemiol* 1989; 18(3 suppl 1): S20-28.
4. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97(18): 1837-1847.
5. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Fuecker K, Temelkova-Kurktschiev T, Hanefeld M, et al. In vivo evidence for increased oxidation of circulating LDL in impaired glucose tolerance. *Diabetes* 2002; 51(10): 3102-3106.
6. Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs Effecting Homocysteine metabolism: Impact on Cardiovascular Risk. *Drugs* 2002; 62(4): 605-616.
7. Ebesunun MO, Obajobi EO. Elevated plasma homocysteine in type 2 diabetes mellitus: a risk factor for cardiovascular diseases. *Pan Afr Med J* 2012; 12: 48.
8. González R, Pedro T, Martinez-Hervas S, Civera M, Priego MA, Catalá M, et al. Plasma homocysteine levels are independently associated with the severity of peripheral polyneuropathy in type 2 diabetic subjects. *J Peripher Nerv Syst* 2012; 17(2): 191-196.
9. Huang T, Wahlqvist ML, Xu T, Xu A, Zhang A, Li D. Increased plasma n-3 polyunsaturated fatty acid is associated with improved insulin sensitivity in type 2 diabetes in China. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54(suppl 1): 112-119.
10. Ndrepepa G, Kastrati A, Braun S, Koch W, Kölling K, Mehili J, et al. A prospective cohort study of predictive value of homocysteine in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2006; 373(1-2): 70-76.
11. Meigs JB, Jacques PF, Selhub J, Singer DE, Nathan DM, Rifai N, et al. Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome: the Framingham offspring study. *Diabetes Care* 2001; 24(8): 1403-1410.
12. Yumi M, Akira K, Akatsuki K, Masoa Y, Nobuki F, Yutaka T. Factors associated with serum total homocysteine level in type 2 diabetes. *Environ Health Prev Med* 2008; 13(3): 148-155.
13. Hunter-Lauin C, Hudson PR, Mukherjee S, Davies GK, Williams CP, Harvey JN, et al.

- Folat supplementation reduces serum Hsp70 level with type2 diabetes. *Cell stress chaperones* 2004; 9(4): 344-349.
14. Schnyder G, Pin R, Roffi M, Flammer Y, Hess OM. Association of Plasma Homocysteine with the number of Major Coronary Arteries Severly Narrowed. *Am J Cardiol* 2001; 88(9): 1027-1030.
 15. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased Risk of Cardiovascular Disease, Especially in Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus: a population-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18(1): 133-138.
 16. Okada E, Oida K, Tada H, Asazuma K, Eguchi K, Tohda G, et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for coronary arteriosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22(3): 484-490.
 17. Rudy A, Kowalska I, Strackowski M, Kinalska I. Homocysteine Concentrations and Vascular Complications in patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Metab* 2005; 31(2): 112-117.
 18. Hunter-Lauin C, Hudson PR, Mukherjee S, Davies GK, Williams CP, Harvey JN, et al. Folat supplementation reduces serum Hsp70 level with type2 diabetes. *Cell Stress Chaperones* 2004; 9(4): 344-349.
 19. Signorello MG, Viviani GL, Armani U, Cerone R, Minniti G, Piana A, et al. Homocysteine, reactive oxygen species and nitric oxid in type 2 diabetes mellitus. *Thromb Res* 2007; 1209(4): 607-613.
 20. Atay AE, Simsek H, Demir B, Sakar MN, Kaya M, Pasa S, et al. Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in normotensive gravidae with gestational diabetes. *Herz* 2013; 39(5): 627-632.
 21. Fakhzadeh H, Ghotbi S, Pour-ebrahim R, Nouri M, Heshmat R, Shafaei A, Larjani B. Evaluation of total plasma homocysteine, folic acid and vitamin B12 in 25-64 aged inhabitants of Tehran University of Medical Sciences population lab region. *Ijdl* 2004; 3: 99-110 (Persian).
 22. Hoogeveen EK KP, Beks PJ, Mackaay AJ, Jakobs C, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus a population-based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18(1): 133-138.