

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Mosul
College of Pharmacy



The Role of Cholinesterases as Biomarkers in the Stages of Diabetes Mellitus and its Complications

A Thesis Submitted to The Council of the
College of Pharmacy/ University of Mosul
As a partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Master of Science
in Pharmacy

By
Muwafaq Hadi Zaya Abdullallah
(B.Sc. Pharmacy 2017)

Supervised by

Assistant Prof.

Dr. Ahmed A.J. Mahmood

PhD in Pharmaceutical Chemistry

Assistant Prof.

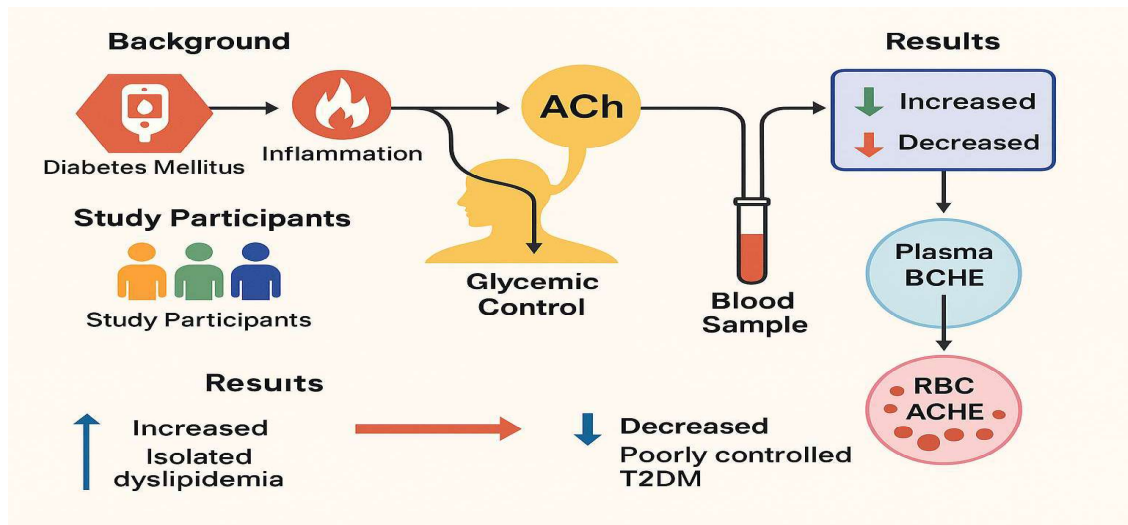
Dr. Musab M. Khalaf

PhD. In Pharmacology

2025 A.D

1447 A.H

Abstract



Highlights

- Analytical cross-sectional study, Duhok (Dec 2024–May 2025); n=328, age 30–55.
- Groups: T2DM=223 (102 single-drug oral; 121 combination), T1DM=50, dyslipidemia=25, controls=30.
- Strata: controlled vs uncontrolled (HbA1c≈7%) and ± complications.
- Assay: modified Michel electrometric pH; plasma BChE & RBC AChE (Δ pH/20 min).
- T2DM: lower ChE with poor control/complications; AChE drop > BChE.
- T1DM: ChE below controls but not correlated with control.
- Dyslipidemia: higher ChE; lipid status can mask reductions.
- Medications and common comorbidities showed no consistent independent effect.

Background: Diabetes mellitus (especially Type 2 diabetes mellitus (T2DM)) is characterized by chronic metabolic inflammation and insulin resistance arising from adipose and hepatic dysfunction. This low-grade inflammatory state drives disease progression and long-term complications.

A key counter-regulatory mechanism is the vagus nerve-mediated cholinergic anti-inflammatory pathway, in which acetylcholine (ACh) released by parasympathetic nerves suppresses pro-inflammatory cytokines. Circulating cholinesterase enzymes – plasma butyrylcholinesterase (BChE) and erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) – regulate ACh availability and thus link autonomic tone to immune activation. Because ACh itself is difficult to measure, BChE and AChE activities have been proposed as surrogate biomarkers of neuroimmune balance.

Conventional diabetes diagnostics (fasting glucose, OGTT, HbA1c) have important limitations: glycemic tests require fasting and are affected by acute stress or mis-handling, while HbA1c has lower diagnostic sensitivity at fixed thresholds and is unreliable in anemia or altered red-cell turnover. Prior studies of ChE in diabetes have yielded inconsistent results (some report lower ChE in T2D, others find higher activity often associated with dyslipidemia), leaving a gap in understanding. The present study therefore examines whether blood cholinesterase activity reflects metabolic control and complications in diabetes.

Methods: An analytical cross-sectional study was conducted in Duhok, Iraq (Dec 2024–May 2025) on 328 adults (age 30–55) of both sexes. Participants included 223 patients with T2DM and 50 with T1DM, plus 25 individuals with isolated dyslipidemia (no diabetes) and 30 healthy controls. The T2DM was subdivided by therapy type and clinical status: 102 patients on single-drug oral therapy and 121 on combination therapy.

Each group was further stratified into controlled vs uncontrolled glycemic status (target HbA1c \approx 7% as cutoff) and uncomplicated vs complication-burdened (presence of any chronic microvascular or macrovascular complication). The T1DM group (all on insulin) was divided by glycemic control (no T1DM cases had long-term complications).

Blood samples were obtained from all subjects, and plasma BChE and erythrocyte AChE activities were measured by a validated modified Michel electrometric pH assay. ChE activities (Δ pH/20 min) were compared across subgroups to assess associations with diabetic status, control, and comorbid conditions.

Results: Circulating cholinesterase activity varied significantly with diabetic status. Both plasma BChE and RBC AChE were lower in almost all T2DM patient groups compared to healthy controls. Reductions were most marked in poorly controlled and/or complicated T2DM: for example, the uncontrolled T2DM with complications subgroup exhibited the lowest mean BChE and AChE

levels. In every diabetic subgroup, the fall in AChE activity was generally more pronounced than the decline in BChE. By contrast, the isolated dyslipidemia group showed significantly elevated ChE levels: both BChE and AChE activities were higher than in healthy subjects.

Analysis by medication revealed no consistent effect of any specific diabetes drug or combination on ChE activity. Likewise, most concomitant conditions (hypertension, ischemic heart disease, etc.) did not independently alter ChE activity. In type 1 diabetic patients, both BChE and AChE tended to be below controlled values, but their levels did not correlate with glycemic control, indicating a weak relationship between ChE activity and T1DM.

Conclusion: These findings indicate that blood cholinesterase activity – especially erythrocyte AChE – associates with metabolic control in T2DM and may serve as a practical adjunct biomarker of disease severity. Lower ChE levels were associated with poorly controlled and complicated diabetes. In contrast, coexisting hyperlipidemia tended to raise ChE activity and could mask underlying reductions in diabetic patients; thus, lipid profiles should be considered when interpreting results.

Overall, routine measurement of plasma BChE and RBC AChE could provide an inexpensive, easily obtained indicator of inflammatory/autonomic imbalance and diabetic risk, supplementing traditional tests. Larger-scale studies are warranted to confirm these observations and clarify the clinical utility of ChE assays in diabetes management.

Keywords: type 2 diabetes, type 1 diabetes, cholinesterase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, dyslipidemia, autonomic imbalance, inflammation



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

دور الكولينستريزات كمؤشرات حيوية لمراحل مرض السكري ومضاعفاته

رسالة مقدمة للجنة الدراسات العليا
كلية الصيدلة / جامعة الموصل
كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل الطالب

موفق هادي زيا عبد الله

(بكالوريوس صيدلة ٢٠١٧)

المشرف

الأستاذ المساعد

د. مصعب محمد خلف

دكتوراه في علم الادوية

الأستاذ المساعد

د. احمد عبدالجبار محمود

دكتوراه كيمياء صيدلانية

٢٠٢٥ ميلادي

١٤٤٧ هجري

الملخص

الخلفية

يتميز داء السكري (وخاصة النمط الثاني منه) بوجود التهاب أبيض مزمن ومقاومة للأنسولين ناتجة عن خلل وظيفي في الأنسجة الدهنية والكبدية. وهذه الحالة الالتهابية منخفضة الدرجة تدفع بتطور المرض وظهور المضاعفات طويلة الأمد. ومن آليات التنظيم المضادة لهذه العملية الالتهابية المسار الكولينري المضاد للالتهاب الذي يوسطه العصب المبهم؛ حيث يُفَرِّز الأسيتيل كولين (ACh) من الأعصاب اللاودية ليعمل على تثبيط السيروتوكينات المسببة للالتهاب. كما تتحكم إنزيمات الكولينستراز الدائرة في الدم – إنزيم البوتيريل كولينستراز في البلازما (BChE) والأسيتيل كولينستراز في كريات الدم الحمراء – (AChE) في مدى توافر الأسيتيل كولين، بما يربط بذلك حالة الجهاز العصبي الذاتي بحالة الاستجابة المناعية. ونظرًا لصعوبة قياس الأسيتيل كولين نفسه، فقد اقترح أن يكون نشاط كلٍّ من إنزيمي BChE و AChE مؤشرين حيويين بديلين يعكسان الاتزان العصبي-المناعي.

تشير الأدلة إلى أن اختبارات تشخيص السكري التقليدية (اختبارات السكر الصائم، واختبار تحمل الغلوكوز عبر الفم، واختبار الهيموغلوبين السكر HbA1c) تعاني من قيود مهمة؛ إذ تتطلب اختبارات السكر الصائم صيامًا وتتعرض للتأثر بالعوامل المجهدة الحادة أو بسوء التعامل مع العينات، بينما يتميز اختبار HbA1c بحساسية تشخيصية منخفضة عند استخدام نسبة معينة كعتبة ويصبح غير موثوق في حالات فقر الدم أو التغيرات في دورة حياة خلايا الدم الحمراء. ولقد أعطت الدراسات السابقة حول إنزيمات الكولينستراز في السكري نتائج متضاربة؛ فقد أفاد بعضها بانخفاض نشاط هذه الإنزيمات في المرضى من النمط الثاني، بينما لاحظت دراسات أخرى زيادة في النشاط غالبًا ما ترتبط باضطرابات دهون الدم، مما ترك فجوة في الفهم. وبناءً على ذلك، تهدف هذه الدراسة الحالية إلى التحقق مما إذا كان نشاط إنزيمات الكولينستراز في الدم يعكس مستوى السيطرة الأيضية في داء السكري ووجود المضاعفات المصاحبة.

الطريقة

أجريت دراسة مقطعية تحليلية في دهوك، العراق (من ديسمبر ٢٠٢٤ إلى مايو ٢٠٢٥) شملت ٣٢٨ من البالغين (بين ٣٠ و ٥٥ سنة). وقد ضمت الدراسة ٢٢٣ مريضًا بداء السكري من النمط الثاني و ٥٠ مريضًا بداء السكري من النمط الأول، إضافةً إلى ٢٥ شخصًا يعانون من خلل في دهون الدم المعزول دون إصابتهم بالسكري و ٣٠ فردًا سليمًا (كمجموعة ضابطة). وتم تقسيم مرضى النمط الثاني

حسب نوع العلاج والحالة السريرية؛ إذ كان ١٠٢ منهم يتناولون دواءً فمويًا واحدًا، و١٢١ يتلقون أكثر من علاج. كما تم تصنيف كل مجموعة فرعية إلى فئتين إضافيتين بناءً على مدى السيطرة على سكر الدم) باستخدام نسبة $HbA1c \approx 7\%$ كعتبة فاصلة بين المسيطر وغير المسيطر على السكر)، وبناءً على وجود المضاعفات أم لا (وجود أية مضاعفات وعائية دقيقة أو وعائية كبيرة مزمنة). وقد قسمت مجموعة السكري من النمط الأول (الذين يتلقون جميعهم الإنسولين) أيضًا إلى فئتين بحسب مدى السيطرة على سكر الدم، مع التأكيد على عدم وجود حالات مضاعفات طويلة الأمد ضمنها.

أُخذت عينات دم من جميع المشاركين، ثم قيس نشاط إنزيم البوتيريل كولينستراز في البلازما ونشاط إنزيم الأسيتيل كولينستراز في كريات الدم الحمراء باستخدام اختبار ميشيل الكهربائي المعدل لقياس تغير الرقم الهيدروجيني. بعد ذلك، قورنت نشاطات الكولينستراز ΔpH خلال ٢٠ دقيقة (بين المجموعات الفرعية لتقييم ارتباطها بحالة السكري، ومدى السيطرة عليه، والحالات المرضية المصاحبة).

النتائج

أظهرت النتائج أن نشاط إنزيمات الكولينستراز الدائرة في الدم اختلف اختلافاً ذا دلالة إحصائية تبعاً لحالة السكري. فقد كان نشاط كلٍ من إنزيمي البوتيريل كولينستراز في البلازما والأسيتيل كولينستراز في كريات الدم الحمراء أقل في جميع المجموعات تقريباً من مرضى السكري من النمط الثاني مقارنةً بمستويات هذه الإنزيمات لدى الأصحاء. وكان الانخفاض في مستويات هذه الإنزيمات أشد وضوحاً لدى مرضى السكري من النمط الثاني الذين لم يتم ضبط نسبة سكر دمهم بشكل جيد أو الذين يعانون من مضاعفات؛ فعلى سبيل المثال، سجّلت الفئة من المرضى الذين لم يتم ضبط نسبة سكر دمهم بشكل جيد ولديهم مضاعفات أدنى قيم متوسطة لنشاط BChE و AChE. وفي جميع المجموعات الفرعية من مرضى السكري، لوحظ أن الانخفاض في نشاط إنزيم الأسيتيل كولينستراز كان أكثر وضوحاً بشكل عام من الانخفاض في نشاط إنزيم البوتيريل كولينستراز.

وعلى النقيض، أظهرت مجموعة الأشخاص الذين يعانون من خلل في دهون الدم المعزول دون سكري مستويات إنزيمات الكولينستراز مرتفعة بشكل ملحوظ؛ فقد كان نشاط كلٍ من إنزيمي BChE و AChE لديهم أعلى مما كان لدى الأصحاء. ولم تكشف التحليلات بناءً على نوع العلاج عن أي تأثير ثابت لأي دواء سكري محدد أو لأي تركيبة علاجية على نشاط الكولينستراز. وبالمثل، لم تظهر معظم الأمراض المصاحبة (مثل ارتفاع ضغط الدم ومرض القلب الإقفاري وغيرها) أي تأثير مستقل على نشاط هذه الإنزيمات. أما لدى مرضى داء السكري من النمط الأول، فقد لوحظ ميل مستويات نشاط كلا الإنزيمين لأن تكون أقل مما لدى المرضى المسيطرين على المرض؛ غير أن هذه المستويات لم تتناسب

مع مدى السيطرة على سكر الدم، مما يشير إلى أن العلاقة بين نشاط الكولينستراز وداء السكري من النمط الأول كانت ضعيفة.

الاستنتاج

تشير هذه النتائج إلى أن نشاط إنزيمات الكولينستراز في الدم – وخصوصًا إنزيم الأسيتيل كولينستراز في كريات الدم الحمراء – يرتبط بشكل واضح بمستوى السيطرة الأيضية في داء السكري من النمط الثاني، وقد يُستخدم كمؤشر حيوي مساعد عملي لمقدار شدة المرض. كما وُجد أن المستويات المنخفضة لهذه الإنزيمات ارتبطت بالسكري الذي لم يكن ضبطه جيدًا أو الذي ترافق مع مضاعفات. وعلى النقيض من ذلك، يبدو أن وجود فرط الدهون الدموية المصاحب يميل إلى رفع نشاط هذه الإنزيمات، مما قد يخفي الانخفاضات الكامنة فيها لدى المرضى السكري؛ ومن ثم، ينبغي أخذ حالة الدهون الدموية في الاعتبار عند تفسير النتائج.

بشكل عام، قد يوفر القياس الروتيني لنشاط إنزيم البوتيريل كولينستراز في البلازما وإنزيم الأسيتيل كولينستراز في كريات الدم الحمراء مؤشرًا غير مكلف وسهل الحصول عليه لحالة الخلل في التوازن الالتهابي والجهاز العصبي الذاتي وخطر الإصابة بداء السكري، إضافةً إلى كونه مكملًا للاختبارات التقليدية. وثمة حاجة إلى إجراء دراسات على نطاق أوسع لتأكيد هذه الملاحظات وتوضيح الجدوى السريرية لاختبارات إنزيمات الكولينستراز في إدارة داء السكري.