مجلهٔ غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال سوم ـ شمارهٔ ۴ ـ صفحه‌های ۲۴۵ ـ ۲۳۹ (زمستان ۱۳۸۰)

مقالهٔ پژوهشی

ارزیابی وضعیت آنتی‌اکسیدانی وشاخص‌های استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع دو

دکتر علیرضا استقامتی*، دکتر اصغر زربان، دکتر محمود دوستی**

چکیده

مقدمه: در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس خطر پیشرفت ضایعات عروقی وجود دارد که یکی از عوامل بسیار مهم و مؤثر در اتیولوژی آن را صدمات اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن می‌دانند و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این بیماران می‌تواند تا حدودی مانع از ایجاد وپیشرفت این عوارض گردد. **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه به منظور ارزیابی استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی نوع دو (۳۰ نفر) و مقایسهٔ آن با افراد شاهد (۲۸ نفر) قدرت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما با روش **FRAP**، مالون دی آلدئید به عنوان فراوردهٔ نهایی پراکسیداسیون لیپیدها با روش **HPLC**، گروه‌های کربونیل و گروه‌های تیول به عنوان شاخص‌هایی از اکسیداسیون پروتئین‌ها، ویتامین‌های **E**، **C**، و نسبت ویتامین **E** به کلسترول اندازه‌گیری گردیدند. علاوه بر آن مجموعه‌ای از پارامترهای بیوشیمیایی دیگر نظیر قندخون، هموگلوبین گلیکوزیله، کلسترول، تری‌گلیسرید، **HDL-C**، **LDL-C**، بیلی‌روبین و اسیداوریک مورد آزمایش قرار گرفتند. **یافته‌ها:** نتایج نشان می‌دهد که در بیماران دیابتی، میزان مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها، نسبت به افراد شاهد افزایش می‌یابد (**P<۰/۰۰۵**). از بین شاخص‌های اکسیداسیون پروتئین‌ها، تغییر معنی‌داری در میزان گروه‌های کربونیل مشاهده نشد، ولی میزان گروه‌های تیول در بیماران دیابتی کاهش معنی‌داری داشت (**P<۰/۰۲**). مقادیر ویتامین **E** و **C** نیز در پلاسمای بیماران دیابتی نسبت به افراد شاهد تغییر چندانی نداشت، اگرچه نسبت ویتامین **E** به کلسترول تام در این بیماران کاهش نشان می‌داد (**P<۰/۰۵**). قدرت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما در دو گروه تغییر معنی‌داری نداشت. در بین آزمایش‌های بیوشیمیایی انجام شده، سطح گلوکز خون، هموگلوبین گلیکوزیله، کلسترول تام، تری‌گلیسرید و **LDL-C** در بیماران دیابتی نوع دو افزایش معنی‌داری داشت و مقدار **HDL-C** کاهش نشان می‌داد. **نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل بخصوص افزایش پراکسیداسیون لیپیدها ایجاد استرس اکسیداتیو را در بیماری دیابت ملیتوس تأیید می‌کند. بنابراین ارزیابی این وضعیت و اتخاذ شیوه‌های درمانی مناسب در جهت تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، استرس اکسیداتیو، دیابت ملیتوس نوع دو، **FRAP**

مقدمه

بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس در دراز مدت در معرض خطر ایجاد ضایعات عروقی می‌باشند. این ضایعات می‌تواند ماکروواسکولار یا میکروواسکولار باشند. اگرچه عوامل متعددی را در ایجاد و پیشرفت این ضایعات دخیل می‌دانند، ولی امروزه نقش استرس اکسیداتیو[i] و رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز این ضایعات بیشتر مورد توجه قرارگرفته است[۱-۳]

* مرکز تحقیقات غدد بیمارستان امام خمینی،
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران
** گروه بیوشیمی،
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران

i- Oxidative stress

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

استرس اکسیداتیو درنتیجهٔ عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌شود. به عبارت دیگر درسیستم‌های بیولوژیک هوازی به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های دفاع آنتی اکسیدانی طراحی شده است تا اثرات زیانبار این عوامل مهاجم را خنثی نموده، یا به حداقل برساند. برخی از اجزای این سیستم دفاعی نظیر آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز، همچنین اسید اوریک، بیلی روبین و مولکول‌های دارای گروه تیول در داخل بدن ساخته می‌شوند، ولی برخی دیگر نظیر ویتامین E یا آلفا توکوفرول، ویتامین C و بتا کاروتن، باید از طریق رژیم غذایی تأمین گردند. در حالت استرس اکسیداتیو، بسیاری از ماکرومولکول‌ها آسیب می‌بینند و فرایند پراکسیداسیون لیپیدها، اکسیداسیون DNA، اکسیداسیون پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها و اختلال عملکرد غشاهای مختلف اتفاق می‌افتد.[۴،۵]

شواهد موجود نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیش از یکصد بیماری از جمله دیابت ملیتوس دخالت دارد.[۶] در این زمینه ساز و کارهای مختلفی پیشنهاد شده است که افزایش تولید رادیکال‌های آزاد درنتیجهٔ اتواکسیداسیون گلوکز، فعال شدن راه پلی‌اُل[i] و تشکیل پروتئین‌های گلیکوزیله از مهمترین آنها می‌باشد. علاوه بر آن کاهش فعالیت یا مقدار برخی از آنتی اکسیدان‌ها نیز می‌تواند در تشدید این حالت مؤثر باشد.[۷]

درحال حاضر شاخص مطلق و تعریف شده‌ای برای استرس اکسیداتیو وجود ندارد، ولی شاخص‌های زیادی وجود دارند، که می‌توانند تا حدودی نشان دهندهٔ این وضعیت باشند.

اندازه‌گیری آنتی اکسیدان‌ها به طور کل یا هر یک به تنهایی و همچنین ارزیابی مولکول‌های بیولوژیکی اکسید شده و صدمه دیده از مهمترین این روش‌ها می‌باشند که امروزه کاربرد بسیار زیادی پیدا کرده‌اند.[۸]

در مطالعهٔ حاضر، وضعیت استرس اکسیداتیو در تعدادی از بیماران مبتلا به دیابت نوع دو در مقایسه با گروه شاهد مورد ارزیابی قرار گرفته است. برای این منظور شاخص‌های مختلفی مانند قدرت آنتی اکسیدان تام پلاسما، مالون دی آلدئید[ii] به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها، گروه‌های کربونیل به عنوان شاخصی از اکسیداسیون پروتئین‌ها، گروه‌های تیول پلاسما، آلفا توکوفرول و و یتامین C استفاده گردید.

مواد وروش‌ها

جامعه مورد مطالعه: در این مطالعه که بصورت مورد ـ شاهدی انجام شده است، تعداد ۳۰ نفر (۱۶ مرد و ۱۴ زن) از بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع دو معرفی شده از سوی درمانگاه غدد بیمارستان امام خمینی با میانگین سنی ۱/۴۶± ۵۱/۳ سال و دورهٔ بیماری ۱/۳۳±۹/۸ سال به عنوان گروه مورد انتخاب گردیدند. همچنین تعداد ۲۸ نفر (۱۵ مرد و ۱۳ زن) از افراد سالم با میانگین سنی ۱/۴۶±۴۸/۷۵ سال به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند.

روش انجام پژوهش: نمونهٔ خون صبحگاهی در شرایط ناشتا (۱۲ ساعت) و با ضد انعقاد EDTA (۱/۵ میلی گرم در میلی لیتر) تهیه شد و بلافاصله پلاسمای آن جدا گردید، برخی از پارامترها مانند ویتامین C بسرعت مورد آزمایش قرار گرفت، ولی جهت انجام پارامترهای دیگر، نمونه پلاسما در شرایط ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش (کمتر از ۲ ماه) نگهداری شد. تمامی معرف‌های شیمیایی مورد نیاز و روش‌های اختصاصی ارزیابی استرس اکسیداتیو از نوع با درجه خلوص بالا و از شرکت‌های مرک و فلوکا[iii] تهیه شدند.

برای اندازه‌گیری پارامترهای معمولی بیوشیمیایی مانند، گلوکز، کلسترول، HDL-C، بیلی‌روبین، اسیداوریک و پروتئین تام از کیت‌های شرکت پارس آزمون (ایران) استفاده گردید وLDL–C براساس فرمول فریدوالد محاسبه شد. همچنین جهت ارزیابی HbA1c از روش کالریمتری استفاده شد.

برای اندازه‌گیری قدرت آنتی اکسیدان تام پلاسما از روش FRAP[iv] (ضریب تغییرات برون سنجش[v] و درون سنجش[vi] بترتیب ۳/۳٪ و ۱/۸٪) که توسط بنزیک و همکاران

i- Polyol pathway

ii- Malondialdehyde (MDA)

iii- Merck and Fluka

iv- Ferric reducing ability of plasma (FRAP)

v- Between-run assay

vi- Within-run assay

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

جدول ۱ـ نتایج مربوط به شاخص‌های دموگرافیک وآزمایش‌های معمولی بیوشیمیایی در دو گروه افراد دیابتی و افراد شاهد

متغیر	افراد دیابتی (n =۳۰)	افراد شاهد (n =۲۸)	P Value
جنس (مؤنث به مذکر)	۱۶/۱۴	۱۵/۱۳	۰/۹۸
سن (سال)	۵۱/۳ ±۱/۵*	۴۸/۸±۱/۵	۰/۳
دوره بیماری (سال)	۹/۸ ±۱/۳	–	–
هموگلوبین گیلکوزیله (٪)	۹/۴±۰/۲	–	–
گلوکزخون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۸۸/۱ ±۱۱/۲	۷۶/۲±۲/۶	۰/۰۰۰
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۱۰/۶±۹/۰	۱۶۸/۴±۵/۵	۰/۰۰۰
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۹۰/۳ ±۱۶/۵	۹۳/۵±۷/۱	۰/۰۰۰
HDL- C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۳۴/۴ ±۱/۴	۵۲/۱ ± ۲/۱	۰/۰۰۰
LDL- C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۳۶/۷±۳۹/۰	۹۷/۴ ±۴/۷	۰/۰۰۰
اسیداوریک (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴/۰ ±۰/۲	۴/۵±۰/۲	۰/۰۸۹
بیلی‌روبین تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۰/۶۲ ± ۰/۴۰	۰/۷۰ ±۰/۰۴	۰/۱۶

* نتایج بصورت Mean±S.E.M بیان شده‌اند.

ارایه شده، استفاده گردید.[۹] به طور خلاصه، دراین روش توانایی پلاسما در احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) اندازه‌گیری می‌شود. با احیای یون‌های فریک وتبدیل آن به یون‌های فرو (Fe^{2+}) در PH اسیدی و با حضور معرف‌های اختصاصی، کمپلکس آبی رنگی ایجاد می‌شود که در طول موج ۵۹۳ نانومتر و بصورت اسپکتروفتومتریک قابل اندازه‌گیری است. این واکنش غیر اختصاصی است و هر مولکولی که در شرایط فوق قابلیت احیای یون فریک را داشته باشد، دراین واکنش شرکت می‌نماید.

جهت ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدها، مولکول مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها و بر اساس روش چیر کو (ضریب تغییرات برون‌سنجش و درون‌سنجش بترتیب ۷/۴٪ و ۵/۸٪) با تکنیک HPLC آنالیز شد.[۱۰] مولکول‌های MDA در شرایط اسیدی و دمای بالا با تیوباربیتوریک اسید (TBA) واکنش داده و مجموعه‌ای (MDA-TBA 2) با رنگ ارغوانی تشکیل می‌دهد که شدت رنگ درطول موج ۵۳۲ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. اگرچه به دلیل تداخلاتی که وجود دارد، ابتدا با استفاده از سیستم HPLC (مدل Waters-600E) و ستون کروماتوگرافی از نوع Sphreisorb ODS ۵ میکرونی مجموعهٔ MDA-TBA جدا سازی شده و سپس مورد ارزیابی و آنالیز قرارگرفت.

به منظور اندازه‌گیری گروه‌های کربونیل پلاسما از روش ارایه شده توسط لوین و همکارانش (ضریب تغییرات برون سنجش و درون سنجش بترتیب ۷٪ و۶٪) استفاده گردید.[۱۱] در این روش معرف ۲ و۴ دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین با گروه‌های کربونیل موجود در پروتئین‌ها ایجاد باز شیف می‌نماید و کمپلکس زرد رنگ ایجاد می‌کند که شدت رنگ حاصله بصورت اسپکتروفتومتریک و درطول موج ۳۸۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است.

گروه‌های تیول موجود در پلاسما نیز به عنوان شاخص دیگری از وضعیت استرس اکسیداتیو مورد ارزیابی قرار گرفتند.

گروه‌های تیول پلاسما (-SH) نسبت به صدمات اکسیداتیو حساس هستند و کاهش آنها نشانهٔ مهمی از استرس اکسیداتیو است. برای اندازه‌گیری گروه‌های تیول از ۲و۲دی‌تیوبیس نیتروبنزوئیک اسید (DTNB) که به معرف

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

جدول ۲ـ نتایج مربوط به آزمایش‌های اختصاصی مربوط به ارزیابی استرس اکسیداتیو دردو گروه افراد دیابتی و افراد شاهد

متغیر	افراد دیابتی	افراد شاهد	P Value
FRAP (میکرومول در لیتر)	۶۴۲/۵±۲۰/۷*	۶۸۳/۸۲±۱۵/۳	۰/۱۲
پراکسیداسیون لیپیدها (میکرومول در لیتر)	۰/۴۶ ±۰/۰۴	۰/۳۲ ± ۰/۰۳	۰/۰۰۵
اکسیداسیون پروتئین‌ها (نانومول در میلی‌گرم پروتئین)	۱/۱ ±۰/۱	۱/۰ ± ۰/۱	۰/۳۵
گروه‌های تیول (میلی‌مول در لیتر)	۴۰۷/۰±۸/۰	۴۳۶/۲±۹/۴	۰/۰ ۲
ویتامین E (میکرومول در لیتر)	۴۵/۷ ±۲/۰	۴۶/۴±۱/۶	۰/۸۱
نسبت ویتامین E به کلسترول	۰/۲۲±۰/۰۱	۰/۲۷ ± ۰/۰ ۱	۰/۰۰۱
ویتامین C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱/۰۰ ±۰/۰۵	۰/۹۵ ± ۰/۰ ۴	۰/۵۲

* نتایج بصورت Mean±S.E.M بیان شده‌اند.

المن[i] (ضریب تغییرات برون سنجش و درون سنجش بترتیب ۴٪ و ۲/۱٪) مشهور است، استفاده گردید. گروه‌های تیول با احیای این معرف، کمپلکس زرد رنگ ایجاد می‌نمایند که در طول موج ۴۲۱ نانومتر قابل اندازه‌گیری است.[۱۲]

ویتامین E یا آلفاتوکوفرول با روش HPLC و بر اساس روش ارایه شده توسط آرنود و همکارانش (ضریب تغییرات برون سنجش و درون سنجش به ترتیب ۶/۵٪ و۵/۲٪) اندازه‌گیری شد.[۱۳]

ویتامین C نیز با استفاده از ۲و۴ دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین و بر اساس روش استانلی مورد آنالیز قرارگرفت.[۱۴]

علاوه بر آزمایش‌های انجام شدهٔ فوق، نسبت ویتامین E به کلسترول محاسبه گردید ومورد بررسی قرار گرفت.

روش‌های آماری: جهت مطالعات آماری از نرم افزارSPSS ویرایش ۹ استفاده شد. نتایج بصورت میانگین و خطای استاندارد از میانگین (SEM)[ii] بیان شده است. همچنین برای مقایسهٔ دو گروه با یکدیگر نیز از آزمون t نمونه‌های مستقل[iii] استفاده گردید. نتایج با مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان نتایج معنی‌دار تلقی گردیدند.

یافته‌ها

نتایج مربوط به شاخص‌های دموگرافیک و آزمایش‌های معمولی بیوشیمیایی در دو گروه بیماران مبتلا به دیابت و افراد شاهد در جدول (۱) نشان داده شده است. در گروه بیماران دیابتی نسبت زن به مرد ۱۶به۱۴ (۵۳/۳٪) و در گروه شاهد این نسبت بصورت ۱۵به۱۳ (۵۳/۶٪) می‌باشد. از نظر سن نیز دو گروه با یکدیگر منطبق[iv] می‌باشند.

از بین آزمایش‌های معمولی بیوشیمیایی، سطح گلوکز، کلسترول تام، LDL-C و تری گلیسرید در گروه بیماران دیابتی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد. ولی HDL-C نسبت به گروه شاهد دارای کاهش است. اگر چه در بین دو گروه مقدار اسیداوریک و بیلی‌روبین تفاوت معنی‌داری ندارد. نتایج مربوط به آزمایش‌های اختصاصی ارزیابی استرس اکسیداتیو در جدول (۲) نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود قدرت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما که با روش FRAP اندازه‌گیری شده است، علیرغم کاهش در گروه بیماران دیابتی، از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد، اگرچه مقدار MDA به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در گروه بیماران دیابتی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است (۰/۰۴ ± ۰/۶۴ میکرومول در افراد دیابتی درمقابل ۰/۰۲ ± ۰/۳۲ میکرومول در افراد شاهد) که این افزایش از نظر آماری دارای ارزش است (P<۰/۰۰۵).

در نمودار (۱) قله‌های (پیک‌های) حاصل از تزریق نمونه‌های استاندارد و یک نمونه مربوط به افراد مورد مطالعه با سیستم HPLC نشان داده شده است. همان طور

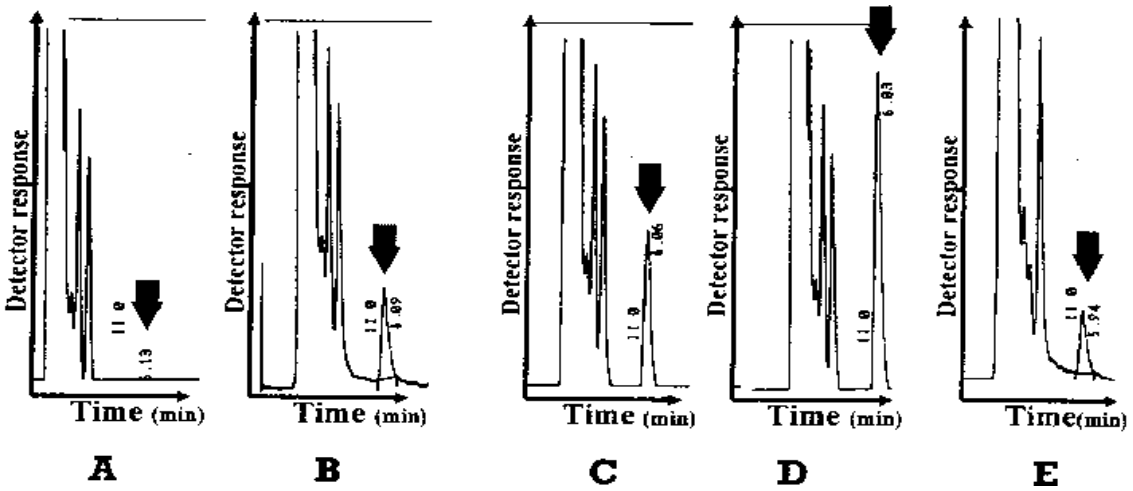
i- Ellman

ii- Standared error of mean

iii- Unpaired-t student test

iv- Matched

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]



نمودار ۱ـ قله‌های مربوط به کمپلکس MDA-TBA که با روش HPLC جداسازی و اندازه‌گیری شده است.

A: MDA=0 μ M نمونهٔ استاندارد با غلظت ؛ **B:** MDA=1 μ M نمونه استاندارد با غلظت

C: MDA=2 μ M نمونه استاندارد با غلظت؛ **D:** MDA=3 μ M نمونه استاندارد با غلظت

E: نمونهٔ مربوط به افراد مورد مطالعه

که ملاحظه می‌شود، قلهٔ مربوط به کمپلکس MDA-TBA2 پس از حدود ۵ دقیقه ایجاد می‌گردد.

سطح گروه‌های کربونیل به عنوان شاخصی از اکسیداسیون پروتئین‌ها در دو گروه تغییر معنی‌داری نداشت، اگرچه میزان گروه‌های تیول، به عنوان شاخص دیگری از استرس اکسیداتیو، درگروه بیماران دیابتی به طور با ارزشی کاهش یافته بود (۸/۰۴ ± ۴۰۷ میلی‌مول در لیتر درگروه بیماران در مقابل ۹/۴ ± ۴۳۶ میلی‌لیتر در افراد شاهد، P< ۰/۰۲).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آلفا توکوفرل و ویتامین C نشان می‌دهد که سطح این دو در دو گروه مورد مطالعه تغییر معنی‌داری نداشته است، ولی چنانچه نسبت آلفا توکوفرل به کلسترول محاسبه شود، این اختلاف معنی دار خواهد بود (۰/۰۱ ± ۰/۲۲ در مقابل ۰/۰۱± ۰/۲۷، P< ۰/۰۵).

بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به دیابت در نتیجهٔ افزایش سطح گلوگز خون و اختلافات متابولیسمی مربوط به آن، حالت استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود. آزمایش‌های اختصاصی انجام شده مانند اندازه‌گیری MDA به عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدها با روش HPLC که به عنوان یک روش استاندارد مطرح است، این موضوع را تأیید نموده است.

نتایج این مطالعه حاکی از افزایش MDA در نتیجهٔ افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در گروه بیماران مبتلا به دیابت است. این نتایج مطابق با یافته‌هایی است که از سایر مطالعات بدست آمده است،[۱۵-۱۷] اگرچه در بسیاری از این مطالعات، نحوهٔ اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها بصورت غیر اختصاصی و با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری و فلوئورومتری صورت گرفته است.

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدان تام پلاسما ازروش FRAP استفاده شد. نتایج حاصل از این روش نشان می‌دهد که قدرت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما کاهش یافته است، اما این کاهش از نظر آماری معنی دار می‌باشد که دلیل آن را می‌توان دخالت عوامل متعددی همچون تأثیر اسید اوریک بر نتایج این آزمایش ذکر کرد. در انسان با توجه به غلظت بالای اسید اوریک، حدود ۶۰٪ از قدرت آنتی اکسیدان تام پلاسما به این مولکول بستگی دارد، بنابراین تغییرات سطح اسید اوریک می‌تواند برسطح FRAP تأثیر قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. در مطالعه‌ای که توسط نگارنده بصورت تجربی بر روی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت انجام شد، قدرت

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

آنتی اکسیدان تام پلاسما محاسبه شده با روش FRAP در گروه دیابتی نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود که دلیل آن می‌تواند سطح بسیار پایین اسید اوریک در موش صحرایی و همچنین شرایط کنترل شدهٔ خاص مطالعات تجربی باشد.[۱۸]

بر اساس دانسته‌های مطالعات مختلفی انجام شده است که از روش‌های دیگری غیر از روش FRAP برای تعیین قدرت آنتی‌اکسیدان پلاسما استفاده نموده‌اند و در برخی از این مطالعات سطح قدرت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما در افراد دیابتی کاهش داشت.[۱۵،۱۹،۲۰]

در این مطالعه سطح گروه‌های تیول بیماران مبتلا به دیابت نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. در مطالعهٔ دیگری نیز که بر روی بیماران دیابتی انجام شد، نشان داده شد که سطح گروه‌های تیول کاهش یافته است.[۱۵،۱۶] در این روش تمامی گروه‌های تیول، شامل گروه‌های موجود برسطح پروتئین‌ها، یا گروه‌های مربوط به مولکول‌های کوچکتر، اندازه‌گیری می‌شود، ولی به دلیل غلظت بالای پروتئین‌ها، بخش عمدهٔ این گروه‌ها مربوط به پروتئین‌ها می‌باشد. اندازه‌گیری گروه‌های تیول می‌تواند شاخص بسیار خوبی از وضعیت تأثیر استرس اکسیداتیو بر روی پروتئین‌ها باشد. مطالعات نشان داده است که رادیکال‌های هیدروکسیل ومتابولیت‌های رادیکال نیتریک اکسید ـ مانند پروکسی نیتریت ـ قادرند با گروه‌های تیول واکنش داده و آنها را خنثی نمایند. البته به نظر می‌رسد گروه‌های تیول مربوط به مولکول‌های کوچک نظیر گلوتاتیون به طور مؤثری در این واکنش‌ها شرکت نمایند.[۲۱]

در میزان گروه‌های کربونیل جهت ارزیابی اکسیداسیون پروتئین‌ها، تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد که دلیل آن را می‌توان وابسته بودن ایجاد گروه‌های کربونیل به عناصر واسطه‌ای ذکر کرد. احتمال آزاد بودن عناصر (عناصری که براحتی درتبادلات الکترونی شرکت می‌کنند مانند Cu^{2+} -Cu^{+} و Fe^{2+}- Fe^{+}) و در سیستم گردش خون تأثیر آن بر ساختمان پروتئین‌ها و ایجاد گروه‌های کربونیل بسیار کم است.[۲۳]

غلظت آنتی اکسیدان‌های اگزوژن و آندوژن در بین دو گروه تغییر معنی‌داری نداشت. به عنوان مثال تغییر معنی‌داری درمقدار ویتامین C و E در بیماران دیابتی نسبت به گروه شاهد وجود نداشت. اگر چه در تعدادی از مطالعات انجام شده نشان داده شد که در بیماران دیابتی سطح برخی از این آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش یافته است.[۱۵،۱۶] اما شاخص دیگری که نشان دهندهٔ وجود اختلال در تعادل ویتامین E بدن است، نسبت این ویتامین به کلسترول پلاسما می‌باشد. با توجه به اینکه ویتامین E به عنوان اولین خط دفاعی اجزای لیپیدی سلول در برابر عوامل مهاجم بکار می‌رود، طبیعتاً به هنگام افزایش مقدار این لیپیدها نیاز به ویتامین E نیز بیشتر می‌گردد. بدین جهت، اندازه‌گیری نسبت ویتامین E به کلسترول و دیگر لیپیدها می‌تواند بسیار کمک کننده باشد.

در مطالعهٔ حاضر نسبت ویتامین E به کلسترول به طور معنی‌داری دربیماران دیابتی نسبت به افراد شاهد کاهش یافته است که دلیل عمدهٔ آن افزایش لیپیدهای پلاسما از جمله کلسترول و تری‌گلیسیرید در بیماران دیابتی می‌باشد. با توجه به وجود استرس اکسیداتیو دربیماران دیابتی و تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد و از طرفی افزایش سطح لیپیدها، نیاز به آنتی اکسیدان‌ها ـ بخصوص آلفاتوکوفرول ـ افزایش می‌یابد.

ساز و کار (مکانیسم) بسیار متنوعی را در خصوص ایجاد استرس اکسیداتیو در بیماری دیابت ملیتوس ذکر می‌کنند که اتواکسیداسیون قندها یکی از موارد مهم آن است. ترکیباتی با ساختمان آلفا - هیدروکسی آلدئیدی (مثل گلوکز) می‌توانند به فرم انولی درآمده، با احیای عناصر واسطه‌ای و سپس اکسیژن باعث تولید رادیکال‌های آزاد گردند.

اولین رادیکالی که ایجاد می‌شود، رادیکال سوپراکسید است و توسط آنزیم سوپراکسید دسموتاز، تولید H_2O_2 می‌نماید و این گونهٔ فعال در حضور عناصر واسطه‌ای می‌تواند رادیکال هیدروکسیل تولید نماید که فوق العاده خطرناک و مهاجم است.[۲۱] همچنین درهنگام افزایش گلوگز خون با اتصال قند به پروتئین‌ها، ترکیباتی تولید می‌شود که در تولید رادیکال‌های آزاد نقش دارند. تولید رادیکال سوپراکسید در حین انجام این واکنش نشان داده شده است.[۲۴] علاوه برموارد فوق کاهش سطح گلوتاتیون احیا در نتیجهٔ اختلال در میزان تولید NADPH که به دنبال فعال شدن راه پلی‌ال اتفاق می‌افتد، می‌تواند برباز سازی ویتامین‌های C وE و در نتیجه کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدان سیستم مؤثر باشد.[۲۵]

بنابراین به نظر می‌رسد در بیماری دیابت، استرس اکسیداتیو ایجاد شده بیشتر به دلیل تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌باشد و البته کاهش سطح آنتی اکسیدان‌ها (چنانچه اتفاق بیفتد) به دلیل مصرف آنها در

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]

جریان فرایند استرس اکسیداتیو خواهد بود. با توجه به این موضوع باید وضعیت بیماران دیابتی را از نظر استرس اکسیداتیو مورد توجه قرار داد و در صورت نیاز از مکمل‌های ویتامین C ویتامین E و سایر آنتی اکسیدان‌ها استفاده کرد.

سپاسگزاری

از مدیریت و کارشناسان محترم بخش بیوشیمی دانشکدهٔ پزشکی، بخش غدد بیمارستان امام خمینی و بخش فیزیولوژی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران تشکر وقدردانی می‌گردد.

References

1. Baynes JW.Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes 1991; 40:405-12.
2. Keaney JF Jr, Loscalzo J. Diabetes, oxidative stress, and platelet activation. Circulation 1999; 99:189-91
3. West IC.Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabet Med 2000; 17:171-80.
4. Predy VR, Reilly ME, Mantlc O, Peters TJ. Oxidative damage in liver diseases. JIFCC. 1998; 10:16-19.
5. Harman D. Aging and oxidative stress JIFCC 1999; 1:24-27.
6. Pincemail J. Free radicals and antioxidants in human disease. In: Analysis of free radicals in blogical systems. Birkhauser verlag; 1995. 83-98.
7. Ceriello A Acute hyperglycaemia and oxidative stress generation. Diabet Med 1997; 14:S45-9.
8. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. Ann Clin Biochem 1998; 181-200.
9. Benzie IF, Strain JJ.The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidantpower": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239:70-6.
10. Chirico S. High-performance liquid chromatography-based thiobarbituric acid tests. Methods Enzymol 1994; 233:314-8.
11. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER.Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins.Methods Enzymol 1990; 186:464-78
12. Hu ML.Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. Methods Enzymol 1994; 233:380-5.
13. Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A.Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene inserum by isocratic high-performance liquid chromatography. J Chromatogr 1991; 572:103-16.
14. Omaye ST, Turnbull JD, Sauberlich HE.Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues, and fluids. Methods Enzymol 1979; 62:3-11
15. Ceriello A, Bortolotti N, Motz E, Crescentini A, Lizzio S, Russo A, TonuttiL, Taboga C. Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients. Diabetes Care 1998; 21:1529-33.
16. Ceriello A, Bortolotti N, Falleti E, Taboga C, Tonutti L, Crescentini A, Motz E, Lizzio S, Russo A, Bartoli E.Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. Diabetes Care 1997; 20:194-7.
17. Altomare E, Vendemiale G, Chicco D, Procacci V, Cirelli F.Increased lipid peroxidation in type 2 poorly controlled diabetic patients. Diabete Metab 1992; 18:264-71.
18. Zarban A, Doosti M, Esteghamati A, Allameh A. Evaluation of antioxidant status in streptotocin-induced diabetic rates by ferric reducing ability of plasma assay Acta Med Irainc; 38:127-131.
19. Vijayalingam S, Parthiban A, Shanmugasundaram KR, Mohan V.Abnormal antioxidant status in impaired glucose tolerance andnon-insulin-dependent diabetes mellitus. Diabet Med 1996; 13:715-9.
20. Haffner SM, Agil A, Mykkanen L, Stern MP, Jialal I.Plasma oxidizability in subjects with normal glucose tolerance, impaired glucosetolerance, and NIDDM. Diabetes Care 1995; 18:646-53
21. Coudray C, Roussel AM, Arnaud J, Favier A.Selenium and antioxidant vitamin and lipidoperoxidation levels in preagingFrench population. EVA Study Group. Edude de vieillissement arteriel. Biol Trace Elem Res 1997; 57.
22. Yan LJ, Traber MG, Packer L.Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modifiedapolipoprotein B of human low-density lipoproteins. Anal Biochem 1995; 228:349-51.
23. Wolff SP, Dean RT.Glucose autoxidation and protein modification. Thepotential role of'autoxidative glycosylation' in diabetes. Biochem J 1987; 245:243-50.
24. Mullarkey CJ, Edelstein D, Brownlee M. Free radical generation by early glycation products: a mechanism for acceleratedatherogenesis in diabetes. Biochem Biophys Res Commun 1990; 173:932-9
25. Flohe L, Gunzler WA.Assays of glutathione peroxidase. Methods Enzymol 1984; 105:114-21.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-11-04]