مقایسه پراکسیداسیون لیپید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان (گلوتاتیون پراکسیداز) گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ و افراد سالم

دكتر عبدالجلال مرجاني ^ا، دكتر مهران فرج الهي ً، غلامرضا وقاري ً

۱-استادیار گروه بیوشیمی و بیوفیزیک دانشکده پزشکی گرگان، (مؤلف مسؤل) abdoljalal@yahoo.com

۲-استادیار گروه داخلی دانشکده یزشکی گرگان

۳-مربی گروه بیوشیمی و بیوفیزیک و تغذیه دانشکده پزشکی گرگان

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت ممکن است با عدم تعادل بین تأثیر دفاعی آنتی اکسیدانها و افزایش تولید رادیکالهای آزاد ارتباط داشته باشد. هدف از این مطالعه با توجه به تناقص یافته ها تعیین تغییرات پراکسیداسیون لیپید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ شهر گرگان و مقایسه آن با گروه کنترل می باشد.

روش بررسی: مطالعه از نوع موردی- شاهدی و روش نمونه گیری تصادفی بوده و از ۳۸ بیمار دیابتی تیپ ۲ که به کلینیک دیابت مرکز آموزشی درمانی ۵ آذر مراجعه نمودهاند و ۱۹ فرد سالم که از لحاظ سن و جنس با بیماران دیابتی همسان شدهاند برای مطالعه انتخاب گردیدند. اطلاعات بدست آمده با استفاده از آزمون آماری t- استودنت مورد ارزیابی قرار گرفت و دادههای پژوهش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی تیپ ۲ (۲/۸۰ \pm ۱/۲۷ نانومول در میلی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۴/۸۰ \pm ۱/۹۸ نانومول در میلی لیتر) افزایش معنی داری نشان داده است. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ (۱۰۳۷/۹٤ \pm ۱/۷۲/۸٤ واحد در گرم همو گلوبین) در مقایسه با گروه کنترل (۱۲٤۷/۸٤ \pm ۱۲٤۷/۸٤ واحد در گرم همو گلوبین) کاهش معنی داری نشان داده است.

نتیجه گیری: وجود اختلاف معنی دار در افزایش پراکسیداسیون لیپید و کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان بیماران دیابتی ممکن است در پیشرفت عوارض قلبی و عروقی در این بیماران نقش مهمی ایفا نماید. به همین دلیل پیشنهاد می شود که بیماران دیابتی ممکن است به آنتی اکسیدانهای بیشتری نیاز داشته باشند. استفاده از مکمل های دارویی و غیر دارویی مهار کننده رادیکالهای آزاد مثل ویتامین E و C و یا گوجه فرنگی، پرتقال، نارنگی، سیر و غیره نقش مهمی در تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی داشته و در بهبود زندگی بیماران دیابتی بسیار مهم باشد.

كليد واژهها: پراكسيداسيون ليپيد، آنزيم آنتي اكسيدان، ديابت مليتوس

وصول مقاله: ۸٤/٣/۱۰ اصلاح نهایی: ۸٤/١١/٣ پذیرش مقاله: ۸٤/١١/١٠

مقدمه

رادیکالهای آزاد مولکولهایی هستند که از نظر شیمیایی بسیار فعال و تولید این رادیکالها یک فرایند طبیعی واکنشهای متابولیسمی بدن میباشد. این رادیکالها ممکن است در جریان بیماریهایی مانند دیابت تولید

شوند که از طریق ترکیب با آنتی اکسیدانها از بدن حذف می شوند. از آنزیمهای آنتی اکسیدان مهم شناخته شده می توان گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را نام برد (۱).

ترکیبات نایایدار رادیکالهای آزاد بر روی چربی، پروتئین، دی ان آ و کربوهیدراتهای سلولها تأثیر می گذارند که از بین این مواد چربیها نسبت به رادیکالهای آزاد دارای بیشترین حساسیت میباشند که مى تواند باعث ضايعه اكسيداتيو بشود كه تأثير اين رادیکالها توسط سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی به طور طبيعي خنثي مي گردد. تأثير دفاعي اكسيداتيو توسط يك سری آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی (ویتامین E و C) و گلوتاتیون فراهم می گردد (۲-۶). افزایش تولید رادیکالهای آزاد و یا کاهش سطح آنتی اکسیدانها ممکن است باعث تخریب اکسیداسیونی سلولی اسیدهای چرب چند پیوند دوگانه موجود در ساختمان غشاء سلولی شده که به عنوان پراکسیداسیون لیپید شناخته شده و اگر چنانچه این تخریب اکسیداسیونی شروع بشود به طور زنجيروار ادامه مي يابد كه محصول آن مالون دى آلدئيد می باشد که این وضعیت در نهایت ممکن است باعث مرگ سلولی همراه با علائم گسترده بیماری بشود (٥). عدم تعادل بین تأثیر دفاعی آنتی اکسیدانها و افزایش تولید رادیکالهای آزاد باعث حالاتی می شود که به آن استرس اكسيداتيو مي گويند. استرس اكسيداتيو در نتيجه افزایش تولید اکسیدانهایی مثل اکسیژنهای فعال بوجود مى آيد. اين وضعيت ممكن است باعث آسيب سلولي شده و در بروز بعضی از بیماریها نقش داشته باشد. بعضی از مطالعات انجام شده نشان داده است که عوارض بیماری دیابت ممکن است تا حدودی با استرس اکسیداتیو ارتباط داشته باشد (۸-۱). بیماری دیابت یکی از بیماریهای اصلی در کشورهای پیشرفته میباشد. میزان مرگ و میر بیماران دیابتی تیپ ۲ نسبت به افراد سالم به خصوص در رابطه با بیماری قلبی و عروقی افزایش نشان داده است. دلایل احتمالی این وضعیت وجود استرس

اکسیداتیو در این بیماران بوده که می تواند به عنوان یک فاکتور کمک کننده بروز بیماری قلبی و عروقی نقش داشته باشد. در رابطه با تغییرات سطح پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم آنتیاکسیدان گلبول قرمز (گلوتاتیون پراکسیداز) بیماران دیابتی تیپ ۲ یافتههای متناقصی موجود می باشد. به طوری که بعضی از آنها افزایش (۹) و بعضی دیگر کاهش (۱۱–۱۰) را نشان داده اند. به همین دلیل هدف از این مطالعه تعیین تغییرات داده اند. به همین دلیل هدف از این مطالعه تعیین تغییرات مالون دی آلدئید بیان می شود) و فعالیت آنزیم مالون دی آلدئید بیان می شود) و فعالیت آنزیم دیابتی تیپ ۲ مراجعه کننده به کلینیک دیابت شهر گرگان و مقایسه آن با گروه کنترل می باشد، تا تغییرات موارد فوق در بیماران دیابتی تیپ ۲ بررسی گردد.

روش بررسی

(ویتامین C-E) و غذاهای آنتی اکسیدان (گوجه فرنگی، پرتقال، نارنگی و غیره) مصرف کردند از مطالعه خارج گردیدند. پلاسمای جدا شده جهت انجام آزمایشهای قند خون ناشتا و يراكسيداسيون ليپيد (كه به صورت مالون دی آلدئید بیان می شود) و گلبولهای قرمز جهت انجام آزمایشهای هموگلوبین گلیکوزیله، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استفاده شده است. اندازه گیری قند خون ناشتا، همو گلوبین گلیکوزیله و مالون دی آلدئید به ترتیپ با استفاده از روش گلوکز اکسیداز (۱۲)، بور (۱۳) و ساتوه (۱٤) و دستگاه اسیکتروفتومتری (مدل Jenway 6105 UV/VIS) در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی گرگان انجام شده است. طبق روش ساتوه مالون دى آلدئيد حاصل با اسيد تيوباربيتوريك ترکیب شده که در طول موج ۵۳۰ نانومتر جذب نوری ترکیب حاصل اندازه گیری شده است. آزمایشهای گلوتاتیون پراکسیداز با کمک کیت تخصصی راندو کس (۱۵) و دستگاه اسیکتروفتومتری فوق اندازه گیری شده است. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم گلوتاتيون پراكسيداز، ٥٠ ميكرو ليتر خون هيارينه با يك میلی لیتر محلول رقیق کننده مخلوط شده و بعد از ٥ دقیقه در حرارت آزمایشگاه یک میلیلیتر محلول در ابکنیز به آن اضافه کردیم. در مدت زمان حداکثر ۲۰ دقیقه بعد از تهیه نمونه اندازه گیری فعالیت آنزیم انجام شده است. در این روش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اکسیداسیون

گلوتاتیون احیاء را به گلوتاتیون اکسید شده در حضور مادهای به نام کیومن هیدروپراکسید (Cumene hydroperoxide) کاتالیز می کند. آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH فرم اکسید شده گلوتاتیون را به گلوتاتیون احیاء تبدیل می کند که در نتیجه این واکنش NADPH به NADP تبدیل شده که کاهش جذب نوری در طول موج ۳٤۰ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری شده است. دادههای بدست آمده وارد محیط نرم افزار آماری SPSS.10 وارد کامپیوتر شده و آزمون آماری t- استودنت جهت مقایسه های لازم استفاده شد. ارزش p کمتر از ۰/۰٥ معنى دار تلقى شده است.

ىافتەھا

در این مطالعه ۳۸ بیمار دیابتی تیپ ۲ مراجعه کننده به کلینیک دیابت مرکز آموزشی درمانی ٥ آذر گرگان انتخاب گردیدند. ویژگی نمونهها در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین طبق جدول ۲ نتایج حاکی از آن است که سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داده است (p<٠/٠٥). همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون یراکسیداز بیماران دیابتی تیب ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داده است (p<٠/٠٥).

حدول ۱: و به گیهای سماران دیانتی تیب ۲ و گروه کنترل

مشخصات	بیماران دیابتی تیپ ۲	گروه کنترل	
تعداد نمونهها	٣٨	19	
سن (سال)	$\xi A/V 1 \pm \tau/\tau Y$	8V/87±0/7	
جنس	مذکر =١٥	مذ کر =۸	
	مؤنث=٢٣	مؤنث=١١	
مدت ابتلا به دیابت (سال)	Y/V1±•/V£	_	
قند خون ناشتا (میلیگرم در دسیلیتر)	Y•9/Y9±1•/V0	$Ao/Y9\pm A/To$	
همو گلوبین گلیکوزیله (درصد)	1·/VA±1/•٣	7/Y7±•/AV	

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار مالون دی آلدئید پلاسما، گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ و گروه کنترل

ارزش P	گروه کنترل	بیماران دیابتی تیپ ۲	
<•/•0	4/01±1/97	٦/ ۲۷ ±٠/٨٠	مالون دی آلدئید (نانومول در میلی لیتر)
<•/•0	$17 \text{EV/ A} \text{E} \pm \text{VE/ A0}$	1·WV/ 98± VA/1·	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در گرم هموگلوبین)

ىحث

در رابطه با تغییرات پراکسیداسیون لیپید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان (گلوتاتیون پراکسیداز) گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ گزارشهای متناقضی مطرح میباشد. نتایج بعضی از مطالعات حاکی از افزایش (۹) کاهش (۱۱–۱۰) و غیر قابل تغییر (۱۳) موارد فوق را نشان داده است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد که سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داده است. همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داده است. با توجه به یافتههای سایر محققان نتایج بدست آمده از این مطالعه با نتایج مطالعه تعدادی از محققان که سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی تیپ ۲ افزایش می یابد، مطابقت نشان داده است (۲۰-۱۷). علل احتمالی افزایش رادیکالهای آزاد در بیماران دیابتی تیپ ۲ به دلیل افزایش تولید اکسیژنهای فعال در نتیجه عمل گلیکوزیله شدن و پراکسیداسیون، اتواکسیداسیون گلوکز، اکسیدشدن گلوکز به گلوکز اسیدی و کاهش سیستم دفاعی آنتیاکسیدانی میباشد (۲۱). تنظیم قند خون احتمالاً یک فاکتور بسیار مهم در کاهش پراکسیداسیون لیپید در بیماران دیابتی تیپ ۲ میباشد. جلوگیری از

تشکیل پراکسیداسیون لیپید ممکن است در به تأخیر افتادن پیشرفت عوارض دیابت کمک کننده باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه همچنین نشان میدهد که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داده است. نتایج مطالعه تعدادی از محققان نشان داده است که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش (۱۱–۱۰) افزایش (۹) و یا بدون تغییر (۱٦) بوده است. نتابج حاصل از این مطالعه با نتایج مطالعات سایر محققان که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (۱۱–۱۰) گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است مطابقت نشان داده است. اما نتایج بدست آمده از این مطالعه با نتایج دیگر محققان که فعالیت آنزیم فوق در بیماران دیابتی تیپ ۲ افزایش (۹) و یا تغییر نیافته (۱٦) است مطابقت نشان نداده است. یکی از دلایل احتمالی این وضعیت بدلیل تضعیف سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی یا افزایش بیش از حد مقادیر رادیکالهای آزاد در بیماران دیابتی تیپ ۲ باشد که بر سیستم دفاعی در این شرایط غلبه می کند. احتمال دیگر برای این وضعیت کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به دلیل کاهش مصرف گلو کز توسط راه پنتوز فسفات باشد که منجر به کاهش تولید مادهای به نام NADPH می شود (۲۲). همچنین کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

عوارض قلبی و عروقی در بیماران دیابتی تیب ۲، یک عامل مستعد كننده باشد. به همين دليل پيشنهاد مي شود که بیماران دیابتی تیپ ۲ ممکن است به آنتی اکسیدانهای بیشتری نیاز داشته باشند. استفاده از مکملهای دارویی و یا غیر دارویی مهار کننده رادیکالهای آزاد مثل ویتامین E و C و یـا گوجه فرنگی، پرتقـال، نارنـگی، سیـر و غیره نقش بسیار مهمی در تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی داشته و در بهبود زندگی بیماران دیابتی اهمیت بسزایی داشته باشد.

ممكن است يا به دليل افزايش توليد راديكالهاي آزاد باشد که باعث اکسید شدن و سیس دناتوره شدن آنزیم میشود و یا اینکه این کاهش فعالیت در نتیجه هيير گليسمي طولاني مدت گليكوزيلاسيون آنزيم اتفاق افتاده که منجر به مهار شدن فعالیت آنزیم می شود (۲۳).

نتيجه گيري

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که وجود اختلاف معنىدار افزايش پراكسيداسيون ليپيد و كاهش فعاليت آنزيم گلوتاتيون پراكسيداز گلبول قرمز ممكن است در پيشرفت انواع عوارض بخصوص

References

- 1. Kohen R, Chevion S, Schartz R, Berry EM. Evaluation of the total low moleculer weight antioxidant activity of plasma in health and diseases: a new approach, cell pharmacol. 1996; 3, 355-
- 2. Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutrition Rev.1997; 55: S44-
- 3. Halliwell B, Gutteridge J.M.C. Oxygen is poisonous- an introduction to oxygen toxicity and free radical. In: Free Radical in Biology and Medicine (ed. by B. Hallwell & J.M.C Gutteridge) 2 nd edn, pp. 1-20. Oxford University Press (clarendon), Oxford.
- 4. Sies H. Strategies of antioxidant defence. Eur J Biochem. 1993; 215: 213-19.
- 5. Baynes JW. Perspective in diabetes. Role of oxidative stress in development of complication in diabetes. Diabetes. 1991; 40: 405-41.
- 6. Hayoz D, Ziegler T, Brunner HR, Ruiz J. Diabetes mellitus and vascular lesions. Metabolism. 1998; 47, 16-19.
- 7. Rosen P, Du X, Tschope D. Role of oxygen derived radicals for a- tocopherol? Mol. Cell. Biochem. 1998; 188, 103-111.
- 8. Szaleczky E, Prechl J, Feher J, Somogyi A. Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus-a rationale approach. Postgrad Med J. 1999; 75, 13-17.
- 9. Turk HM, Sevinc A, Camci C, Cigli A, Buyukberber S, Savli H, Bayraktar N. Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. Acta Diabetol. 2002; 39 (3): 117-122.
- 10. Cigremis Y, Kose M, Ozgurlu F, Turkoz Y, Egri M. The investigation of erythrocyte SOD, Cat and GPX antioxidant enzyme level in pateints with type 2 diabetes mellitus. G.U. Journal of Science. 2003; 16 (2): 239-244.
- 11. Palanduz S, Ademoglu E, Gokkusu C, Tamer S. Plasma antioxidants and type 2 diabetes mellitus. Res. Commun Mol pathol pharmacol. 2001; 109 (5-6): 309-318.
- 12. Barnrnham D. and Trinder P (1972) An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst. Feb; 97 (151): 142-5.
- 13. GS Bodor, RR Little, N Garrett, W Brown, DE Goldstein, and MH Nahm. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical Laboratory: three years of experience. Clin. Chem., Dec 1992; 38: 2414-2418.

- 14. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by new colorimetric method. Clin. Chim. Acta.1978; 90, 37-43.
- 15. Paglia D.E., and Valentine W.N. Studies on the quantitatise and qualitative characterization of ervthrocyte glutathione peroxidase.J. Lab. Clin.1967; 70:158.
- 16. Memisogullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. Cell Biochem Funct. 2003; 21 (3): 291-296.
- 17. Vanizor B, Orem A, Karahan SC, Kiran E, Erem C, Alivazicioglu R, et al. Decreased nitric oxide end-products its relationship with high density lipoprotein and oxidative stress in people with type 2 diabetes without complications. Diabetes Res. Clin. Prac, 2001; 54: 33-39.
- 18. Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, Jang MK, Kim MJ and park YB. Alternation of hepatic antioxidation enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabeticrats by supplementation of dandelion water extract. Clin Chim Acta. 2002; 317: 109-117.
- 19. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus with and without complications. Clin. Sci. 1996; 90: 255-60.
- 20. Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwel B, et al. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. Diabetologica. 1997; 40: 647-53.
- 21. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular disease. The role of oxidative stress. Metabolism 1995; 44: 363-368.
- 2.2. Sumovski W, Baquerizo H, Rabinovich A: Oxygen free radical scavenger protect rat islet cells from damage by cytokines. Diabetelogica.1992; 32: 792-796.
- 23. Hunt J, Wolff SP. Oxidative glycation and free radical production: A causal mechanism of diabetic complications. Free Rad. Res.Commun.1991; 12: 115-123.