مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/دوره دهم/ پائیز ۱۳۸۴/ ۲۱-۱۶

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

دکتر عبدالجلال مرجانی[۱]، دکتر مهران فرج الهی[۲]، غلامرضا وقاری[۳]

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

۲-استادیار گروه داخلی دانشکده پزشکی 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 یافته‌ها 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 می‌باشد.

روش بررسی: مطالعه از نوع موردی- شاهدی و روش نمونه‌گیری 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.

یافته‌ها: سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی تیپ ۲ (۶/۲۷±۰/۸۰ نانومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۳/۵۶±۰/۹۸ نانومول در میلی‌لیتر) افزایش معنی‌داری نشان داده است. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز بیماران دیابتی تیپ ۲ (۱۰۳۷/۹۴±۷۸/۱۰ واحد در گرم هموگلوبین) در مقایسه با گروه کنترل (۱۲۴۷/۸۴±۷۴/۸۵ واحد در گرم هموگلوبین) کاهش معنی‌داری نشان داده است.

نتیجه‌گیری: وجود اختلاف معنی‌دار در افزایش پراکسیداسیون لیپید و کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان بیماران دیابتی ممکن است در پیشرفت عوارض قلبی و عروقی در این بیماران نقش مهمی ایفا نماید. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود که بیماران دیابتی ممکن است به آنتی‌اکسیدانهای بیشتری نیاز داشته باشند. استفاده از مکمل‌های 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.

کلید واژه‌ها: پراکسیداسیون لیپید، آنزیم آنتی‌اکسیدان، دیابت ملیتوس

وصول مقاله: ۸۴/۳/۱۰ اصلاح نهایی: ۸۴/۱۱/۳ پذیرش مقاله: ۸۴/۱۱/۱۰

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 آنتی‌اکسیدانها از بدن حذف می‌شوند. از آنزیمهای آنتی‌اکسیدان مهم شناخته شده می‌توان گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را نام برد (۱).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-12]

ترکیبات ناپایدار رادیکالهای آزاد بر روی چربی، پروتئین، دی ان آ و کربوهیدراتهای سلولها تأثیر می‌گذارند که از بین این مواد چربیها نسبت به رادیکالهای آزاد دارای بیشترین حساسیت می‌باشند که می‌تواند باعث ضایعه اکسیداتیو بشود که تأثیر این رادیکالها توسط سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به طور طبیعی خنثی می‌گردد. تأثیر دفاعی اکسیداتیو توسط یک سری آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی (ویتامین E و C) و گلوتاتیون فراهم می‌گردد (٤-٢). افزایش تولید رادیکالهای آزاد و یا کاهش سطح آنتی‌اکسیدانها 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 زنجیروار ادامه می‌یابد که محصول آن مالون دی آلدئید می‌باشد که این وضعیت در نهایت ممکن است باعث مرگ سلولی همراه با علائم گسترده بیماری بشود (٥). عدم تعادل بین تأثیر دفاعی آنتی‌اکسیدانها و افزایش تولید رادیکالهای آزاد باعث حالاتی می‌شود که به آن استرس اکسیداتیو می‌گویند. استرس اکسیداتیو در نتیجه افزایش تولید اکسیدانهایی مثل اکسیژنهای فعال بوجود می‌آید. این وضعیت ممکن است باعث آسیب سلولی 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 (٨-٦). 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 می‌تواند به عنوان یک فاکتور کمک‌کننده 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 می‌باشد. به طوری که بعضی از آنها افزایش (۹) و بعضی دیگر کاهش (۱۱-۱۰) را نشان داده‌اند. به همین دلیل هدف از این مطالعه تعیین تغییرات سطح پلاسمایی پراکسیداسیون لیپید (که به صورت مالون دی آلدئید بیان می‌شود) و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان گلبول قرمز (گلوتاتیون پراکسیداز) بیماران دیابتی تیپ ۲ مراجعه‌کننده به کلینیک دیابت شهر گرگان و مقایسه آن با گروه کنترل می‌باشد، تا تغییرات موارد فوق در بیماران دیابتی تیپ ۲ بررسی گردد.

روش بررسی

مطالعه از نوع موردی- شاهدی و روش نمونه‌گیری تصادفی بوده است. از بیماران مراجعه‌کننده به کلینیک دیابت مرکز آموزشی و درمانی ٥ آذر گرگان به طور تصادفی ۳۸ بیمار دیابتی تیپ ۲ انتخاب و نمونه‌های خون ناشتا هپارینه تهیه شده است. بیماران دیابتی تیپ ۲ در صورت داشتن بیماری ثانویه (فشار خون- بیماری قلبی و عروقی و غیره) از مطالعه حذف گردیدند. هم چنین از ۱۹ فرد سالم که از لحاظ سن و جنس با بیماران دیابتی تیپ ۲ همسان شده‌اند و هیچگونه بیماری نداشته‌اند (با کمک معاینات پزشکی و آزمایشگاهی) نمونه‌های خون هپارینه تهیه گردیده است. از نمونه‌های خون تهیه شده، پلاسما از گلبولهای قرمز با کمک دستگاه سانتریفوژ (در دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ در دقیقه) جدا گردیده است. بیماران دیابتی و افراد سالم که در طی مطالعه دارو

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-12]

(ویتامین C–E) و غذاهای آنتی‌اکسیدان (گوجه فرنگی، پرتقال، نارنگی و غیره) مصرف کردند از مطالعه خارج گردیدند. پلاسمای جدا شده جهت انجام آزمایشهای قند خون ناشتا و پراکسیداسیون لیپید (که به صورت مالون دی آلدئید بیان می‌شود) و گلبولهای قرمز جهت انجام آزمایشهای هموگلوبین گلیکوزیله، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استفاده شده است. اندازه‌گیری قند خون ناشتا، هموگلوبین گلیکوزیله و مالون دی آلدئید به ترتیب با استفاده از روش گلوکز اکسیداز (۱۲)، بور (۱۳) و ساتوه (۱٤) و دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل Jenway 6105 UV/VIS) در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی گرگان انجام شده است. طبق روش ساتوه مالون دی آلدئید حاصل با اسید تیوباربیتوریک ترکیب شده که در طول موج ۵۳۰ نانومتر جذب نوری ترکیب حاصل اندازه‌گیری شده است. آزمایشهای گلوتاتیون پراکسیداز با کمک کیت تخصصی راندوکس (۱۵) و دستگاه اسپکتروفتومتری فوق اندازه‌گیری شده است. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، ۵۰ میکرو لیتر خون هپارینه با یک میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده مخلوط شده و بعد از ۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه یک میلی‌لیتر محلول در ابکنیز به آن اضافه کردیم. در مدت زمان حداکثر ۲۰ دقیقه بعد از تهیه نمونه اندازه‌گیری 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 می‌کند.آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH فرم اکسید شده گلوتاتیون را به گلوتاتیون احیاء تبدیل می‌کند که در نتیجه این واکنش NADPH به NADP تبدیل شده که کاهش جذب نوری در طول موج ۳٤۰ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شده است. داده‌های بدست آمده وارد محیط نرم افزار آماری SPSS.10 وارد کامپیوتر شده و آزمون آماری t– استودنت جهت مقایسه‌های لازم استفاده شد. ارزش p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شده است.

یافته‌ها

در این مطالعه ۳۸ بیمار دیابتی تیپ ۲ مراجعه‌کننده به کلینیک دیابت مرکز آموزشی درمانی ۵ 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 معنی‌داری نشان داده است (p<۰/۰۵). همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داده است (p<۰/۰۵).

جدول ۱: ویژگی‌های بیماران دیابتی تیپ ۲ و گروه کنترل

مشخصات	بیماران دیابتی تیپ ۲	گروه کنترل
تعداد نمونه‌ها	۳۸	۱۹
سن (سال)	٤۸/۷۱±٦/٦۲	٤۷/٤۲±٥/٦
جنس	مذکر=۱۵	مذکر=۸
	مؤنث=۲۳	مؤنث=۱۱
مدت ابتلا به دیابت (سال)	۲/۷۱±۰/۷٤	—
قند خون ناشتا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۰۹/۲۹±۱۰/۷۵	۸۵/۲۹±۸/٦۵
هموگلوبین گلیکوزیله (درصد)	۱۰/۷۸±۱/۰۳	٦/۲٦±۰/۸۷

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-12]

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

	بیماران دیابتی تیپ ۲	گروه کنترل	ارزش P
مالون دی آلدئید (نانومول در میلی لیتر)	۶/۲۷±۰/۸۰	۳/۵۶±۰/۹۸	<۰/۰۵
گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در گرم هموگلوبین)	۱۰۳۷/ ۹۴± ۷۸/۱۰	۱۲۴۷/ ۸۴± ۷۴/ ۸۵	<۰/۰۵

بحث

در رابطه با تغییرات پراکسیداسیون لیپید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان (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 (۱۶) 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 معنی‌داری نشان داده است. همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بیماران دیابتی تیپ ۲ در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری 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 می‌یابد، 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 معنی‌داری 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 (۱۶) بوده است. نتایج 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 (۱۶) است مطابقت نشان نداده است. یکی از دلایل احتمالی این وضعیت بدلیل تضعیف سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی یا افزایش بیش از حد مقادیر رادیکالهای آزاد در بیماران دیابتی تیپ ۲ باشد که بر سیستم دفاعی در این شرایط غلبه می‌کند. احتمال دیگر برای این وضعیت کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به دلیل کاهش مصرف گلوکز توسط راه پنتوز فسفات باشد که منجر به کاهش تولید ماده‌ای به نام NADPH می‌شود (۲۲). همچنین کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-12]

ممکن است یا به دلیل افزایش تولید رادیکالهای آزاد باشد که باعث اکسید شدن و سپس دناتوره شدن آنزیم می‌شود و یا اینکه این کاهش فعالیت در نتیجه هیپرگلیسمی طولانی مدت گلیکوزیلاسیون آنزیم اتفاق افتاده که منجر به مهار شدن فعالیت آنزیم می‌شود (۲۳).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که وجود اختلاف معنی‌دار افزایش پراکسیداسیون لیپید و کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گلبول قرمز ممکن است در پیشرفت انواع عوارض بخصوص عوارض قلبی و عروقی در بیماران دیابتی تیپ ۲، یک عامل مستعد کننده باشد. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود که بیماران دیابتی تیپ ۲ ممکن است به آنتی‌اکسیدانهای بیشتری نیاز داشته باشند. استفاده از مکملهای دارویی و یا غیر دارویی مهارکننده رادیکالهای آزاد مثل ویتامین E و C و یا گوجه فرنگی، پرتقال، نارنگی، سیر و غیره نقش بسیار مهمی در تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی داشته و در بهبود زندگی بیماران دیابتی اهمیت بسزایی داشته باشد.

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, 355-359.
2. Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutrition Rev.1997; 55: S44-52.
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.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-12]

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 qualitatiye characterization of ervthrocvte 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.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-12]