مقاله پژوهشی

آسیب اکسیداتیو DNA و لیپیدها و ارتباط آن با گلیکاسیون پروتئین در بیماران دیابتی نوع I

دکتر محمدتقی گودرزی * ، علی اکبر نویدی عباسپور** ، دکتر محسن رضائی*** ، حسین بابااحمدی رضائی**
دکتر مصطفی انصاری****

دریافت : ۸۶/۲/۳ ، پذیرش : ۸۶/۸/۲۶

چکیده:

مقدمه و هدف: هیپرگلیسمی با افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) همراه است. گونه های فعال اکسیژن با DNA وارد واکنش شده و ترکیبات مختلفی از جمله ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین (8-OHdG) را به وجود می آورند که نتیجه فرایندهای ترمیم DNA می باشد و در ادرار دفع می شود. هدف از این مطالعه ارزیابی ارتباط مابین آسیب اکسیداتیو DNA و گلیکاسیون پروتئین در بیماران دیابتی نوع 1 می باشد بدین منظور، با اندازه گیری سطح 8-OHdG ادرار در گروه های دیابتی و شاهد، ارتباط آن با سطح هموگلوبین گلیکوزیله HbA1c و پروتئینهای گلیکه سرم (GSP) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان مالون دی آلدئید پلاسما (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در دیابت مورد سنجش قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه ۳۲ نفر بیمار مبتلا به دیابت نوع 1 کنترل نشده و ٤٨ فرد سالم که از لحاظ سن و جنس یکسان سازی شده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه گیری مقادیر GSP و MDA به روش کالریمتری، اندازه گیری HbA_{1c} به روش کروماتوگرافی تعویض یونی و اندازه گیری 8-OHdG ادراری به روش الایزای رقابتی صورت گرفت. اطلاعات بدست آمده با استفاده از آزمونهای آماری مناسب آنالیز شدند.

نتایج : در این مطالعه سطح 8-OHdG ادرار، HbA_{1c} خون، MDA پلاسما و GSP در گروه دیابتی بطور قابل ملاحظه ای بالاتر از افراد شاهد بود ($P<0.05$). علاوه بر آن 8-OHdG ادراری ارتباط معنی داری با HbA_{1c} خون در گروه دیابتی نشان داد. ارتباط قند خون ناشتا با GSP نیز در گروه دیابتی معنی دار بود. همچنین ارتباط معنی داری مابین قند خون ناشتا و MDA در گروه دیابتی مشاهده شد در حالیکه ارتباط MDA با HbA1c معنی دار نبود.

نتیجه نهایی: نتایج این مطالعه نشان داد که در بیماران دیابتی نوع 1 در نتیجه افزایش سطح گلوکز خون و اختلالات متابولیسمی مربوط به آن حالت استرس اکسیداتیو ایجاد می شود که نتیجه آن آسیب به DNA و پراکسیداسیون لیپیدها می باشد. بعلاوه میزان آسیب اکسیداتیو وارده به DNA در این بیماران باسطح کنترل گلیسمی در ارتباط است در حالی که به نظر می رسد پراکسیداسیون لیپیدی ارتباط معنی داری با غلظت HbA_{1c} ندارد.

کلید واژه ها : آسیب اکسیداتیو DNA / دیابت نوع I / ۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین / هموگلوبین گلیکه

مقدمه :

هیپرگلیسمی به عنوان عامل اتیولوژیک مهم در ایجاد عوارض دیابت ملیتوس به شمار می رود(۱). تغییراتی که در نتیجه فرآیند گلیکه شدن ملکول ها پیش می آید منجر به تغییر در عملکرد این ملکول ها می گردد (۲). از طرف دیگر فرآیند اتواکسیداسیون گلوکز منجر تولید

* استاد گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان(mtgoodarzi@yahoo.com)
** کارشناس ارشد بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی همدان
*** استادیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان
**** دانشیار گروه داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

Archive of SID
www.SID.ir

گونه های واکنشگر اکسیژن می گردد(۳). به نظر می رسد DNA هسته و میتوکندری از لحاظ بیولوژیک یکی از اهداف مهم حمله اکسیداتیو رادیکالهای آزاد محسوب می شوند. از بین بازهای پورینی و پیریمیدینی، گوانین دارای استعداد بیشتری به اکسیداسیون می باشد بطوریکه در نتیجه حمله رادیکال هیدروکسیل به موقعیت هشتم مولکول گوانین، ترکیبی بنام 8-OHdG تولید می شود(۴) این ترکیب در نتیجه فرایندهای ترمیم DNA آزاد شده و بدون متابولیزه شدن در ادرار دفع می شود. خاصیت موتاژنیک 8-OHdG کاملا شناخته شده است (۵) بنابراین ترکیب مذکور به عنوان یک بیومارکر مهم استرس اکسیداتیو سلولی و محصول ترمیم DNA مدنظر می باشد(۶). از آنجا که 8-OHdG تعادل دینامیکی مابین آسیب اکسیداتیو DNA و سرعت ترمیم آن را نشان می دهد اندازه گیری این ترکیب در ادرار در ارزیابی آسیب DNA در کل بدن حائز اهمیت است(۶،۷).

نتایج مطالعهٔ داندونا و همکاران (۸) نشان داد که مقدار 8-OHdG ادراری در بیماران دیابتی افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل دارد، ولی آنها نتوانستند ارتباطی بین 8-OHdG و HbA_{1c} نشان دهند. همچنین در تحقیق دیگری که بر روی بیماران دیابتی صورت گرفت ارتباط معنی دار از نظر آماری مابین 8-OHdG ادرار و HbA_{1c} خون دیده نشد(۹).

اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه (PUFA) نیز حساسیت خاصی به اکسیداسیون توسط رادیکالهای آزاد و دیگر گونه های فعال دارند. با توجه به اینکه سیالیت غشا به حضور این اسیدهای چرب مربوط است، هر گونه آسیب اکسیداتیو آنها منجر به کاهش سیالیت غشا و در نتیجه اختلال در فعالیت فیزیولوژیکی آن می شود. مالون دی آلدئید (MDA) یکی از محصولات فرعی فرایند پراکسیداسیون لیپیدی، می باشد که به عنوان شاخص کلی پراکسیداسیون لیپیدها مطرح است(۱۰). بسیاری از مطالعات انجام شده افزایش پراکسیداسیون لیپید را در هر دو نوع دیابت نشان داده اند با این وجود هنوز مشخص نیست که آیا پراکسیداسیون لیپید در افراد دیابتی حتی بدون عوارض میکرووواسکولار افزایش می یابد . از طرف دیگر این موضوع که آیا میزان آسیب اکسیداتیو روی DNA با میزان افزایش گلوکز خون که شاخص ان HbA1c می باشد ارتباط دارد هنوز کاملا مطالعه نشده است.

لذا این مطالعه با هدف تعیین میزان آسیب اکسیداتیو DNA و لیپیدها و ارتباط آن با گلیکاسیون پروتئینها در بیماران دیابتی نوع I انجام گردید.

روش کار:

بیماران و گروه کنترل : در این مطالعه موردی ـ شاهدی تعداد ۳۲ نفر بیمار مبتلا به دیابت نوع I (۱۸ نفر زن و ۱۴ نفر مرد) با میانگین سنی ۱۹/۰۳ سال و ۴۸ فرد سالم (۲۶ نفر زن و ۲۲ نفر مرد) که از لحاظ سنی با گروه بیمار متناسب بودند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. فرم پرسشنامه برای هر دو گروه شامل سابقه مصرف الکل، سیگار، دارو و دارا بودن بیماریهای سیستمیک دیگر تکمیل گردید. همه بیماران در حال درمان با انسولین قرار داشتند و از داروی دیگری استفاده نمی کردند. تمامی بیماران دارای غلظت نرمال کراتینین سرم (کمتر از ۱/۲ میلی گرم در دسی لیتر) بودند. هیچ یک از بیماران سابقه استعمال سیگار وهمچنین علائم بالینی رتینوپاتی یا نوروپاتی نداشتند.

جمع آوری نمونه : نمونه ادرار صبح ناشتا در ظروف استریل درب دار گرفته شد و پس از سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه در g ۸۰۰ از بخش شفاف رویی در لوله های اپندورف استریل ریخته و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰°- سانتیگراد نگهداری شد. همچنین از کلیه افراد بیمار و کنترل نمونه گیری خون وریدی در حالت ناشتا (تا ۱۲ ساعت) صورت گرفت و سرم و پلاسما به روش استاندارد جدا گردید.

اندازه گیری سطح ادراری 8-OHdG : غلظت 8-OHdG ادرار توسط کیت الایزا رقابتی تهیه شده از شرکت GENTAUR بلژیک اندازه گیری شد. در این روش از آنتی بادی مونوکلونال با اختصاصیت بالا به عنوان آنتی بادی اولیه استفاده شد. مقادیر این ترکیب با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب نانوگرم در میلی لیتر ادرار به دست آمد، اما با توجه به متغیر بودن غلظت 8-OHdG در ادرار، مقادیر آن بر حسب نانوگرم در میلی گرم کراتینین ادرار محاسبه شد.

اندازه گیری HbA_{1c}: درصد HbA_{1c} خون با استفاده از کیت تهیه شده از شرکت BIOSYSTEM و بر اساس روش کروماتوگرافی تعویض یونی اندازه گیری شد. از آنجا که این روش بر اساس اختلاف بار الکتریکی می باشد اجزای گلیکه HbA_{1a} و HbA_{1b} تداخلی ایجاد نکرده و تنها جزء اندازه گیری شده، HbA_{1c} می باشد.

اندازه گیری GSP: برای اندازه گیری GSP از روش کالریمتری

Archive of SID
www.SID.ir

تیوباربیتوریک اسید(TBA) استفاده شد، بدین صورت کـه ۵-هیدروکسی متیل فورفورال(HMF) ناشی از دهیدراسیون هگزوزها در اسید اگزالیک جوشان اندازه گیری شد(۱۱). بـه منظور دستیابی به نتیجه ای اسـتاندارد، مقـادیر پـروتئین گلیکه سرم(GSP) بر حـسب نـانومول هیدروکـسی متیـل فورفورال در میلی گرم پروتئین سرم محاسبه گردید.

اندازه گیری MDA پلاسما : بـرای انـدازه گیـری مـالون دی آلدئید پلاسما از روش کـالریمتری اصـلاح شـده اسـتفاده گردیـد. روش کـالریمتری براسـاس واکـنش MDA بـا تیوباربیتوریک اسید (TBA) طراحی شده است و در نتیجه آن کمپلکس رنگـی $MDA\text{-}TBA_2$ حاصـل مـی شـود کـه جذب ماکزیمم آن در 535nm می باشد(۱۲).

اندازه گیری قند خون ناشتا، کراتینین سـرم و ادرار، پـروتئین توتال سرم : اندازه گیری گلوکز و پروتئین توتـال سـرم بـا استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون و انـدازه گیـری کراتینین سرم و ادرار با استفاده از کیت شـرکت MAN و بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت صورت گرفت.

روشهای آماری : دراین مطالعه از نرم افزارSPSS به منظـور تجزیه و تحلیل آماری داده ها استفاده شد. بـرای مقایـسه دو گروه از آزمون t و برای بررسی ارتباط بین فاکتورهـا از آزمون رگرسیون خطی استفاده و نتایج با P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی شد.

نتایج :

نتایج مربوط به مشخصات و فاکتور های بیوشـیمیائی مطالعه شده در دو گروه افراد سالم وبیماران دیابتی نوع ۱ در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱ :مشخصات و مارکر های بالینی بیماران دیابتی و افراد سالم مورد مطالعه

فاکتور	بیماران دیابتی	افراد سالم
جنس (زن/مرد)	۱۸/۱۴	۲۶/۲۲
سن (سال)	۱۹/۱±۵/۲	۱۹/۸۳±۳/۲
گلوکز خون ناشتا (mg/100m)	*۲۹۱/۴±۸۳/۲	۷۷/۶±۵/۸
هموگلوبین گلیکوزیله (٪)	*۹ ± ۱/ ۵	۵/۲ ±۰/۵۰
پروتئین گلیکه سرم (nmolHMF/mg protein)	* ۰/۸۰ ±۰/۲۴	۰/۳۲ ± ۰/۱۲
مالون دی آلدئید پلاسما(µmol/l)	* ۰/۷۳ ± ۰/۲۴	۰/۲۹ ± ۰/۰۷
۸-هیدروکسی داکسی گوانوزین (ng/mg creatinine)	* ۱۶/۸ ± ۵/۶	۹/۹ ± ۳/۹
کراتینین سرم (mg/dl)	۰/۵۵ ± ۰/۱۱	۰/۵۵ ± ۰/۰۹
کراتینین ادرار (mg/dl)	۸۵/۵ ± ۲۰/۲	۸۴/۲±۲۲/۵
پروتئین توتال سرم(g/dl)	۷/۰۴ ± ۰/۴۵	۷/۴۱ ± ۰/۶۰

داده ها به صورت X±SD بیان شده است.

* اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه کنترل با p<0.05

با توجه به همسان سازی دو گروه مورد مطالعه از نظر سن و جنس اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت.

میزان گلوکز سرم در حالت ناشـتا و همچنـین مقـدار HbA1c در افراد دیابتی بطور معنی داری بیـشتر از افـراد سالم بود. اندازه گیری GSP نیز به عنوان شاخصی دیگر از گلیکاسیون پروتئینها می باشدو نتایج بدست آمـده نـشان داد که غلظت سرمی GSP نیز در افـراد دیـابتی بیـشتر از گروه کنترل می باشد(P<0.05). میزان مـالون دی آلدئیـد پلاسمائی در افراد دیابتی بیشتر از مقادیر مربوط به گـروه سالم بود (p<0.05).

غلظـت 8-OHdG ادرار در افـراد دیـابتی و سـالم بـه ترتیب برابر۵/۶ ± ۱۶/۸ و ۳/۹ ± ۹/۹ ng/mg creatinine تعیین گردید، که بـا افـزایش قابـل ملاحظـه ای در گـروه دیابتی نسبت به گروه شاهد نشان داد(P<0.05).

همبستگی فاکتورهای مختلف بررسی شـده در گـروه بیماران دیابتی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: همبستگی فاکتورهای اندازه گیری شده در گروه بیماران دیابتی نوع I

فاکتورهای مورد بررسی	ضریب همبستگی (r)	ارزش P
8-OHdG & HbA1c	۰/۴۱	۰/۰۲
GSP & FBS	۰/۳۵	۰/۰۴۸
MDA & FBS	۰/۴۰	۰/۰۲۴
FBS & HbA1c	۰/۲۴	۰/۱۸۵
8-OHdG & FBS	۰/۳۰	۰/۰۸۸
8-OHdG & GSP	۰/۳۱	۰/۰۷۹
8-OHdG & MDA	۰/۱۸	۰/۳۰۹

با توجه به نتایج به دست آمده بـین دو فـاکتور 8-OHdG ادراری و HbA_{1c} ارتباط معنی داری در افراد دیابتی نوع 1 مشاهده گردید (p<0.05 , r=0.41). همچنـین ارتبـاط دو فـاکتور FBS و GSP در گـروه بیمـاران معنـی دار بـود (P<0.05 , r=0.35). نتایج این مطالعـه همچنـین ارتبـاط معنی داری بین FBS و MDA را در بیمارن دیابتی نـشان داد (P<0.05 , r=0.40). در حالیکـه ارتبـاط معنـی داری بین MDA و HbA_{1c} مشاهده نگردید.

بحث:

شواهدی دال بر ایجاد استرس اکسیداتیو سیـستمیک در بیمـاران دیـابتی و نقـش مهـم آن در پـاتوژنز آسـیب اندوتلیال و عوارض بیماری موجود اسـت(۱۳). در مطالعـه حاضر توانـستیم ایـن مـشاهدات را بـه مـارکر اختـصاصی آسیب اکسیداتیو DNA در ادرار (8-OHdG) گستـــرش

Archive of SID

www.SID.ir

دهیم. همچنین مقادیر هموگلوبین گلیکه (HbA_{1c})، GSP و MDA را به ترتیب به عنوان شاخص های کنترل قند خون، و پراکسیداسیون لیپیدها مورد بررسی قرار دادیم. میزان 8-OHdG و دیگر بازهای مدیفیه شده که از DNA جداشده و از سلول خارج می گردد ، تعادل دینامیکی مابین سرعت آسیب اکسیداتیو DNA و سرعت ترمیم آن را نشان می دهد. از این رو سطح بازهای اکسید شده نه تنها در نتیجه ترمیم های آسیب اکسیداتیو DNA بلکه در اثر نوسانات سرعت ترمیم نیز تغییر می کند(۱۴). 8-OHdG به عنوان مارکر باارزشی از آسیب DNA و ترمیم مطرح است و از آنجا که گوانین شکننده ترین باز هسته محسوب می شود تحت تاثیر رژیم غذایی قرار نگرفته و مستقل از سایر فرایندهای متابولیک در ادرار دفع می شود (۱۵). مطالعات قبلی نیز ارتباط بین آسیب DNA و ایجاد عوارض دیابت را نشان داده اند برای مثال هینوکیو و همکاران نشان دادند که عوارض دیابت نظیر نفروپاتی و رتینوپاتی با افزایش 8-OHdG همراه می باشد (۱۶).

در مطالعه ما مقادیر ادراری 8-OHdG در بیماران دیابتی نوع 1 (بدون عوارض) افزایش معنی داری نسبت به افراد سالم نشان داد که می تواند نشانگر افزایش ریسک موتاژنز در این بیماران باشد.

همانطور که انتظار می رفت مقادیر هموگلوبین گلیکه (HbA_{1c}) خون در بیماران مبتلا به دیابت نوع 1 بالاتر از افراد سالم بود. هم اکنون از HbA_{1c} به عنوان استاندارد ارجح به منظور ارزیابی کنترل گلیسمی و شاخص پیش بینی بسیاری از عوارض مزمن دیابت استفاده می شود. نتایج اندازه گیری HbA_{1c} با نتایج مطالعه ماتوچی (Matteucci) که با روش دیگری اندازه گیری شده بود مطابقت داشت(۱۷).

بعلاوه نتایج مطالعه ما نشان داد مقادیر GSP در بیماران دیابتی به طور معنی داری بالاتر از افراد سالم بود که خود شاخص دیگری از دیابت کنترل نشده بود. از آنجا که بازسازی آلبومین سرم بسیار کندتراز هموگلوبین است (نیمه عمر آلبومین ۲۰-۱۴ روز و عمر گلبول قرمز ۱۲۰ روز)، شدت گلیکاسیون پروتئینهای سرم (مخصوصا آلبومین) شاخصی برای میزان گلیسمی در کوتاه مدت محسوب می شود. همچنین در مواردی که اندازه گیری HbA_{1c} با مشکل مواجه می شود (مثلا در آنمی همولیتیک) اندازه گیری GSP ارزشمند خواهد بود. لازم به توضیح است که در بیماران مبتلا به آنمی به دلیل کوتاه بودن عمر گلبول های قرمز و درنتیجه تماس کوتاهتر با گلوکز میزان هموگلوبین گلیکه کمتر و ارتباط منطقی بین این فاکتور و سطح گلوکز خون مشاهده نمی گردد. نتایج اندازه گیری GSP در گروه دیابتی و افراد سالم با نتایج مطالعه قبلی که مقادیر پروتئین گلیکه سرم را با روش شیمیایی تیوباربیتوریک اسید اندازه گرفته بود نیز مطابقت داشت(۱۱،۱۸).

افزایش مقدار MDA پلاسما در بیماران دیابتی نیز نشانگر بروز استرس اکسیداتیو در این بیماران بود که با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد (۱۹،۲۰). مقادیر MDA در بیماران دیابتی همگام با پیشرفت بیماری افزایش می یابد که نشان دهنده تولید زیاد رادیکال های آزاد ، پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب اکسیداتیو سلولی می باشد و احتمالا در ایجاد عوارض دراز مدت دیابت نقش دارد. به عبارت دیگر پراکسیداسیون لیپیدی فرآیند مرتبط با رادیکال آزاد است که به دلیل مکانیسم خود افزایشی غیر قابل کنترل کاملا مضر می باشد و سبب اختلال در ساختمان غشاء ، لیپید ها و دیگر ترکیبات سلولی می گردد.

ازآنجا که در گروه بیماران دیابتی ارتباط معنی داری بین 8-OHdG ادراری و HbA_{1c} مشاهده شد می توان احتمال ارتباط بین تشکیل AGE و آسیب اکسیداتیو DNA در بیماران مبتلا به دیابت نوع 1 را مطرح نمود. گرچه در برخی از مطالعات چنین ارتباطی مشاهده نشده است(۸،۹). وجود تفاوت در این موضوع می تواند نشان دهنده این مطلب باشد که فاکتورهای دیگری غیر از هیپرگلیسمی در اکسیداسیون DNA می تواند نقش داشته باشد.

نتیجه نهایی :

با توجه به ارتباط مثبت بین HbA_{1c} و دفع ادراری 8-OHdG می توان نتیجه گیری نمود که کنترل سطح گلوکز خون و در نتیجه کاهش HbA_{1c} می تواند منجر به کاهش آسیب اکسیداتیو بافت گردد. با توجه به اینکه نتایج این مطالعه ارتباط مستقیم FBS و GSP را نشان داد می توان با اندازه گیری قند خون ناشتا در بیماران دیابتی نوع 1 شدت گلیکاسیون پروتئینهای با نیمه عمر پایین را تعیین کرد. در این مطالعه ارتباط معنی داری بین سطح

Archive of SID
www.SID.ir

ناشتای گلوکز خون و HbA_{1c} مشاهده نشد که می تواند نشانگر نوسانات شدید قند خون در افراد مبتلا به دیابت نوع 1 باشد. نهایتا ارتباط معنی دار سطح ناشتای گلوکز خون و MDA نشان داد که هیپرگلیسمی احتمالا با افزایش تولید رادیکالهای آزاد در پراکسیداسیون لیپیدها مؤثر است.

منابع :

1. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of long term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. New Eng J Med 1993; 329: 977- 986.
2. Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and aging. Free Radic Biol Med 1991; 10: 339-352.
3. Hunt JV, Smith CCT, Wolff SP. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. Diabetes,1990;39:1420-1424.
4. Schneider JE, Price S, Maidt L, Gutteridge JM, Floyd RA. Methylene blue plus light mediates 8-hydroxy-2´-deoxyguanosine formation in DNA preferentially over strand brakage. Nucleic Acids Res. 1990;18:631-635.
5. Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage 8-hydroxy-2´-deoxyguanosine as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. Mutat Res 1997;387:146-63.
6. Cooke MS, Evans MD, Herbent KE, Lunec J. Urinary 8-oxo-2´-deoxyguanosine scurce, significance and supplements. Free Radic Res 2000;32:381-97.
7. Loft S, Deng XS, Tuo J, Wellejus A, Sorensen M, Poulsen HE. Experimental study of oxidative DNA damage. Free Radic Res 1998;29:525-39.
8. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, et al. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. Lancet 1996;347: 444-445.
9. Krapfenbauer K, Birnbacher R, Vierhapper H, Herkner K, Kampel D, Lubec G . Glycoxidation and protein and DNA oxidation in patients with diabetes mellitus. Clinical Science 1998; 95:331-337.
10. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of lifestyle factors. Clin Chem 1997;43:1209-1214.
11. خدادادی الف. اندازه گیری پروتئینهای گلیکوزیله سرم به روش اصلاح شده تیوباربیتوریک اسید. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان، سال ششم، شماره ١٣٧٧،١: ٤٩-٤٥.
12. Rodriguez-Martinez MA, Ruiz-Torres A. Homeostasis between lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in healthy human aging. Mech Ageing Dev 1992; 66: 213-22.
13. Giugliano D, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. Diabetes Care 1996;19:257-267.
14. Halliwell B. Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come?. Am J Clin Nutr 2000;72:1082-7.
15. Wu LL, Chiou C, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-hydroxy-2´-deoxyguanosine: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetes. Clinica Chemica Acta 2004; 339: 1-9.
16. Hinokio Y, Suzuki S, Hirai M, Chiba M, Hirai A, Toyota T. Oxidative DNA damage in diabetes mellitus: its association with diabetic complications. Diabetologia, 1999; 42: 995-998.
17. Matteucci E, Giampietro O. Oxidative stress in families of type 1 diabetes patients. Diabetes Care, 2000;23:1182-1186.
18. McFarland KF, Catalano EW, Day JF, Thorpe SR, Baynes JW. Nonenzymatic glycosylation of serum proteins in diabetes mellitus. Diabetes 1979;28:1011-1014.
19. Griesmacher A, Kindhouser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knobl P, et al. Enhanced serum levels of thiobarbituric acid reactive substances in diabetes mellitus. Am J Med,1995 ;98:469-475.
20. Ruiz C, Alegria A, Barbera R, Farre R, Laganda MJ. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type 1 diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Invast 1999;59;99-105.

Archive of SID

www.SID.ir