مجله علمـــی پـژوهشـی دانشـگـاه علـــوم پزشـکی اردبیـــل

دوره ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۵، صفحات۱۸۳ تا ۱۸۷

میزان مالون دی آلدئید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان گلبول قرمز در بیماران دیابتی نوع II

دکتر عبدالجلال مرجانی [1]

[1]نویسنده مسئول: استادیار گروه بیوشیمی و بیوفیزیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان **E-mail:** abdoljalal@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت ممکن است با عدم تعادل بین تاثیر دفاعی آنتی اکسیدان ها و افزایش تولید رادیکال های آزاد ارتباط داشته باشد. با توجه به تناقض یافته ها و تعیین تغییرات مالون دی آلدئید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان سوپراکسیددسموتاز گلبول قرمز در بیماران دیابتی نوع II مطالعه حاضر طراحی و انجام شد.

روش کار: این مطالعه مورد- شاهدی با روش نمونه گیری تصادفی در سال ۱۳۸٤ انجام شد. ۳۸ بیمار دیابتی نوع II مراجعه کننده به درمانگاه دیابت مرکز آموزشی- درمانی پنج آذر و ۱۹ فرد سالم که از لحاظ سن و جنس با بیماران دیابتی همسان بودند برای مطالعه انتخاب گردیدند. از بیماران نمونه خون هپارینه تهیه شد. پلاسمای جدا شده جهت انجام آزمایش قند خون، پراکسیداسیون لیپید و گلبول های قرمز خون جهت آزمایش های هموگلوبین گلیکوزیله و فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز استفاده شد. در پایان نتایج به دست آمده با برنامه آماری SPSS نسخه ۱۰ و آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: در مطالعه حاضر سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی نوع II (۸۰ /۰±۶/۲۷ نانومول در میلی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۹۸± ۳/۵۶ نانومول در میلی لیتر) افزایش معنی داری نشان داد (p<۰/۰۵). فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز گلبول قرمز بیماران دیابتی نوع II (۵۹/۳۶ ± ۶۷۸/۷۸ واحد در گرم هموگلوبین) در مقایسه با گروه کنترل (۵۲/۹۸ ± ۱۰۵۶/٤۷ واحد در گرم هموگلوبین) کاهش معنی داری داشت (p<۰/۰۵).

نتیجه گیری: وجود اختلاف معنی دار در افزایش مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بیماران دیابتی ممکن است در پیشرفت عوارض خطرناک در این بیماران نقش مهمی ایفا نماید. زیرا افزایش سطح مالون دی آلدئید و کاهش سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در بدن می تواند منجر به تخریب سلولی شود. به همین دلیل بیماران دیابتی ممکن است به آنتی اکسیدان های بیشتری نیاز داشته باشند. استفاده از مکمل های دارویی و غیر دارویی مهار کننده رادیکال های آزاد مانند ویتامین C ،E و ترکیبات حاوی ویتامین C (مرکبات) نقش مهمی در تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی داشته و می تواند در بهبود زندگی بیماران دیابتی بسیارمهم باشد.

واژه های کلیدی: پراکسیداسیون لیپید، سوپراکسید دسموتاز، دیابت نوع II،مالون دی آلدئید

دریافت: ۸٤/٤/۱۳ **اصلاح نهایی:** ۸۵/۳/۱۱ **پذیرش:** ۸۲/۵/۲۹

مقدمه

رادیکال های آزاد مولکول‌هایی هستند که از نظر شیمیایی بسیار فعال بوده و تولید این رادیکال ها یک فرایند طبیعی در واکنش های متابولیسمی بدن می‌باشند. این رادیکال ها ممکن است در جریان بیماری هایی مانند دیابت تولید شوند که از طریق ترکیب با آنتی اکسیدان ها از بدن حذف می شوند. از آنزیم های آنتی اکسیدان مهم شناخته شده می توان سوپر اکسید دیسموتاز،گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز را نام برد[۱].

www.SID.ir

ترکیبات ناپایدار رادیکال های آزاد بر روی چربی، پروتئین، DNA و کربوهیدرات سلول ها تاثیر می‌گذارند که از بین این مواد چربی ها نسبت به رادیکال های آزاد دارای بیشترین حساسیت می باشند که منجر به ضایعه اکسیداتیو می شوند و تاثیر این رادیکال ها توسط سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی به طور طبیعی خنثی می گردد. اثر دفاعی اکسیداتیو توسط یک سری آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی ویتامین E، C و گلوتاتیون ایجاد می شود [٤-۲]. افزایش تولید رادیکال های آزاد و یا کاهش سطح آنتی اکسیدان ها ممکن است باعث تخریب اکسیداسیونی سلولی اسید های چرب با چند پیوند دوگانه موجود در ساختمان غشای سلولی شده و به عنوان پراکسیداسیون لیپید شناخته می‌شود در صورتی که این تخریب اکسیداسیونی شروع شود به طور زنجیر وار ادامه یافته و مالون دی آلدئید تولید می شود. این وضعیت در نهایت ممکن است باعث مرگ سلولی همراه با علایم گسترده بیماری شود[۵]. عدم تعادل بین اثر دفاعی آنتی اکسیدان ها و افزایش تولید رادیکال های آزاد باعث حالاتی می شود که به آن استرس اکسیداتیو می گویند. استرس اکسیداتیو در نتیجه افزایش تولید اکسیدان هایی مثل اکسیژن های فعال بوجود می آید که این وضعیت ممکن است باعث آسیب سلولی شده و در بروز بعضی از بیماری ها نقش داشته باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که عوارض بیماری دیابت ممکن است تا حدودی با استرس اکسیداتیو ارتباط داشته باشد [۸-۶]. بیماری دیابت یکی از بیماری های اصلی در کشور های پیشرفته می باشد. میزان مرگ و میر بیماران دیابتی نوع II نسبت به افراد سالم به خصوص در رابطه با بیماری قلبی و عروقی افزایش نشان می دهد. دلایل احتمالی این وضعیت وجود استرس اکسیداتیو در این بیماران می باشد که به عنوان یک عامل کمک کننده در بروز بیماری قلبی- عروقی، کلیوی و چشمی نقش دارد. در رابطه با تغییرات سطح پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان گلبول قرمز (سوپر اکسید دسموتاز) بیماران دیابتی نوع II یافته های متناقصی موجود می باشد. به طوری که بعضی از آن ها افزایش [۹] و بعضی دیگر کاهش [۱۱-۱۰] را نشان داده اند. مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات سطح پلاسمایی پراکسیداسیون لیپید (که به صورت مالون دی آلدئید بیان می شود) و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان گلبول قرمز (سوپر اکسید دسموتاز) بیماران دیابتی نوع II مراجعه کننده به درمانگاه دیابت شهر گرگان و مقایسه آن با گروه کنترل انجام شد تا این تغییرات در بیماران دیابتی نوع II بررسی گردد.

روش کار

این مطالعه موردی-شاهدی با روش نمونه گیری تصادفی در طی سال ۱۳۸٤ در شهر گرگان انجام شد. ۳۸ بیمار دیابتی نوع II مراجعه کننده به درمانگاه دیابت مراکز آموزشی درمانی پنج آذر و ۱۹ فرد سالم که از لحاظ جنس و سن با بیماران دیابتی همسان شده بودند برای مطالعه انتخاب گردیدند. بیماران دیابتی نوع II در صورت داشتن بیماری ثانویه شامل فشار خون، بیماری قلبی و عروقی، عدم استفاده از داروی ضد دیابت مشابه و تفاوت زیاد مدت ابتلای به بیماری دیابت از مطالعه حذف گردیدند. از بیماران نمونه های خون هپارینه تهیه گردید. از نمونه های خون تهیه شده پلاسما از گلبول های قرمز با کمک دستگاه سانتریفوژ (با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جدا گردید. بیماران دیابتی و افراد سالم در صورتی که در طی مطالعه داروهای ویتامین E و C مصرف کرده بودند از مطالعه خارج گردیدند. پلاسمای جدا شده جهت انجام آزمایش های قند خون ناشتا و پراکسیداسیون لیپید (که به صورت مالون دی آلدئید بیان می شود) وگلبول‌های قرمز جهت انجام آزمایش های هموگلوبین گلیکوزیله و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز استفاده شد. اندازه گیری قند خون ناشتا، هموگلوبین گلیکوزیله و مالون دی آلدئید به ترتیب با استفاده از روش گلوکز اکسیداز[۱۲]، بور [۱۳] و ساتوه [۱٤] با دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Jenway 6105 UV/ VIS در آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پزشکی گرگان انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

طبق روش ساتوه مالون دی آلدئید حاصل با اسید تیوباربیتوریک ترکیب شده و در طول موج ۵۳۰ نانومتر جذب نوری ترکیب حاصل اندازه‌گیری شد.

آزمایش سوپر اکسید دسموتاز با کمک کیت تخصصی راندوکس و دستگاه اسپکتروفتومتری فوق اندازه گیری شد[۱۵]. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز از گزانتین و گزانتین اکسیداز برای تولید رادیکال های سوپراکسید استفاده شد. این رادیکال ها با ۲-یودوفنیل -۳- نیتروفنل -۵-فنیل تترازولیم واکنش داده و کمپلکس رنگی فورمازان تشکیل می شد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از طریق مهار کردن واکنش فوق در طول موج ۵۰۵ نانومتر جذب نوری آن اندازه گیری گردید. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ده و با آزمون آماری تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

در مطالعه حاضر ۳۸ بیمار دیابتی نوع II مراجعه کننده به درمانگاه دیابت مرکز آموزشی درمانی و ۱۹ مورد به عنوان گروه کنترل انتخاب شد (جدول ۱). از ۳۸ بیمار دیابتی نوع II، ۱۵ نفر (۳۹/۵٪) مذکر و ۲۳ نفر (۶۰/۵٪) مونث بودند از ۱۹ مورد گروه کنترل ۸ نفر (۴۲/۱٪) مذکر و ۱۱ نفر (۵۷/۹٪) مونث بودند. در این مطالعه سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی نوع II در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد ($p<۰/۰۵$)، همچنین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز بیماران دیابتی نوع II در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($p<۰/۰۵$)(جدول۲).

بحث

مطالعه حاضر به منظور بررسی تغییرات سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان (سوپر اکسید دسموتاز) گلبول قرمز بیماران دیابتی نوع II درمانگاه دیابت شهر گرگان انجام شده است.

در رابطه با تغییرات پراکسیداسیون لیپید پلاسما و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان گلبول قرمز بیماران دیابتی نوع II گزارش های متناقضی مطرح می باشد. نتایج بعضی از مطالعات حاکی از افزایش [۹]، کاهش [۱۰-۱۱] و غیرقابل تغییر بودن [۱۶] موارد فوق را نشان داده است.

جدول ۱. مشخصات بیماران دیابتی نوع دو و گروه کنترل

مشخصات	بیماران دیابتی نوع II	گروه کنترل
تعداد نمونه ها	۳۸	۱۹
سن (سال)	۴۸/ ۷۱ ± ۶/ ۶۲	۴۷/ ۴۲ ± ۵ / ۶
قند خون ناشتا (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۰۹/ ۲۹ ± ۱۰/ ۷۵	۸۵/ ۲۹ ± ۸ / ۶۵
هموگلوبین گلیکوزیله (درصد)	۱۰ / ۷۸ ± ۱ / ۰۳	۶ / ۲۶ ± ۰ / ۸۷
مدت ابتلا به دیابت (سال)	۲/ ۷۱ ± ۰/ ۷۴	

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار مالون دی آلدئید پلاسما و سوپر اکسید دسموتاز گلبول قرمز بیماران دیابتی نوع II و گروه کنترل

گروه مطالعه نوع آنزیم	بیمارات دیابتی تیپ II	گروه کنترل	سطح معنی داری
مالون دی آلدئید (نانومول در میلی لیتر)	۶/ ۲۷ ± ۰ / ۸۰	۳ /۵۶ ± ۰/۹۸	< ۰ / ۰۵
سوپراکسیددسموتاز (واحد در گرم هموگلوبین)	۶۷۸/۷۸ ± ۵۹ / ۳۶	۱۰۵۶/۴۷ ± ۵۹/۹۸	< ۰ / ۰۵

www.SID.ir

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می دهد که سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی نوع II در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داده است. همچنین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز بیماران دیابتی نوع II در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داده است. با توجه به یافته های سایر محققان نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر با نتایج مطالعه تعدادی از محققان که سطح پلاسمایی مالون دی آلدئید بیماران دیابتی نوع II افزایش می یابد مطابقت نشان می دهد [۲۰-۱۷]. دلایل احتمالی افزایش رادیکال های آزاد در بیماران دیابتی نوع II به دلیل افزایش تولید اکسیژن های فعال در نتیجه عمل گلیکوزیله شدن، پراکسیداسیون و اتواکسیداسیون گلوکز، اکسید شدن گلوکز به گلوکز اسیدی و کاهش سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی باشد [۲۱]. تنظیم قند خون احتمالا یک عامل بسیار مهم در کاهش پراکسیداسیون لیپید در بیماران دیابتی نوع II باشد. جلوگیری از تشکیل پراکسیداسیون لیپید ممکن است در به تاخیر افتادن پیشرفت عوارض دیابت کمک کننده باشد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر همچنین نشان می دهد که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز گلبول قرمز بیماران دیابتی نوع II در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داده است. نتایج مطالعه تعدادی از محققان نشان داده است که فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز گلبول قرمز بیماران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش [۱۱-۱۰]، افزایش [۹] و یا بدون تغییر [۱۶] بوده است. نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعات سایر محققان که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز گلبول قرمز بیماران دیابتی نوع II در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته است مطابقت دارد[۱۱،۱۰]، اما نتایج بدست آمده از این مطالعه با نتایج دیگر محققان که فعالیت آنزیم های فوق در بیماران دیابتی نوع II افزایش [۹] و یا تغییر نیافته است [۱۶] مطابقت ندارد. یکی از دلایل احتمالی این وضعیت می تواند تضعیف سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی یا افزایش بیش از حد مقادیر رادیکال های آزاد در بیماران دیابتی نوع II باشد که بر سیستم دفاعی در این شرایط غلبه می کند. بعلاوه کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز ممکن است یا به دلیل افزایش تولید رادیکال های آزاد باشد که باعث اکسید شدن و سپس دناتوره شدن آنزیم می شود و یا اینکه این کاهش فعالیت در نتیجه هیپرگلیسمی طولانی مدت و گلیکوزیلاسیون آنزیم اتفاق افتاده و منجر به مهار شدن فعالیت آنزیم می شود [۲۲].

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که وجود اختلاف معنی دار افزایش پراکسیداسیون لیپید و کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز گلبول قرمز ممکن است در پیشرفت عوارض ثانویه خطرناک در بیماران دیابتی نوع II یک عامل مستعد کننده باشد، بنابراین پیشنهاد می شود که بیماران دیابتی نوع II ممکن است به آنتی اکسیدان های بیشتری نیاز داشته باشند. استفاده از مکمل های دارویی و یا غیر دارویی مهار کننده رادیکال های آزاد مثل ویتامین E، C و ترکیبات حاوی ویتامین C مانند مرکبات و سیر نقش بسیار مهمی در تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی 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 molecular weight antioxidant activity of plasma in health and diseases: a new approach. Cell Pharmacol. 1996; 3: 355-9.
2- Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutrition Rev.1997; 55: S44-52.
3- Halliwell B, Gutteridge JMC (1989). Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Oxford, Oxford University Press. 737-57.
4- Sies H. Strategies of antioxidant defence. Eur J Biochem. 1993; 215: 213-9.

Archive of SID

www.SID.ir

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: 16-9.

7- Rosen P, Du X, Tschope D. Role of oxygen derived radicals for α- tocopherol? Mol Cell Biochem. 1998; 188: 103-11.

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: 13-7.

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): 117-22.

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. J. of Science. 2003; 16(2): 239-44.

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): 309-18.

12- Barnrnham D Trinder. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst. 1972; 97: 142-5.

13- Boer GS, Gaete HP. Neuroleptic malignant syndrome and diabetic keto-acidosis. Clin. Chem. 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- Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood in various breed crosses of sheep. Research in veterinery science.1983; 34:253-6.

16- Taysi S, Bakan E, Memisogullari R, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. Cell Biochem Funct.2003; 21(3): 291-6.

17-Vanizor B, Orem A, Karahan SC. 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: 33-9.

18- Cho SY, Park JY, Park EM, Choi MS, Lee MK, Jeon SM, et al. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. Clin Chim Acta. 2002 Mar; 317(1-2): 109-17.

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, Betteridge DJ. 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: 363-8.

22- Hunt J, Wolff SP. Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complications. Free Rad Res.Commun. 1991; 12-13pt1: 115-23.

Archive of SID

www.SID.ir