مقاله پژوهشی

سنجش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و استرس اکسیداتیو در بیماران دیابت تیپ ۲ و ارتباط آن‌ها با سطح سرمی گلوکز و پارامترهای لیپیدی خون (مطالعه‌ی مورد-شاهدی)

فاطمه ازلگینی[۱]، امیرحسین افتخاری[۲]، محسن فیروزرای[۳*]

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۰۱/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۴۰۱/۰۸/۱۴

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دیابت به‌عنوان شایع‌ترین اختلال متابولیت شیوع گسترده‌ای را در چند دهه اخیر داشته است. استرس اکسیداتیو و عوامل مربوط به آن نقش مهمی در شروع و ایجاد عوارض دیابتی دارند. در این مطالعه فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و میزان شاخص‌های استرس اکسیداتیو در پلاسمای بیماران دیابت تیپ ۲ و همبستگی آن‌ها با سطح خونی گلوکز و پارامترهای لیپیدی ارزیابی شد.

مواد و روش کار: این مطالعه از نوع موردی- شاهدی بود. ۵۰ فرد سالم (نفر (۲۴ مرد و ۲۶ زن) و ۵۰ فرد دیابتی (نفر (۲۵ مرد و ۲۵ زن) به‌طور تصادفی انتخاب شدند. پس از ۱۲ ساعت ناشتا، نمونه‌های خون گرفته شد و سرم جدا شد. میزان سطح سرمی قند ناشتا، پروفایل لیپیدی، پراکسیداسیون لیپیدی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز توسط پروتکل‌های مربوطه اندازه‌گیری شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ تمام اطلاعات تجزیه‌وتحلیل شد. سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: فعالیت سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در گروه بیمار کاهش معناداری در مقایسه با گروه شاهد داشت. سطح سرمی مالون دآلدهید، FBS، TG، VLDL-C و HbA1c در گروه بیمار افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت. آنـالیز آماری ارتباط معنادار و مستقیمی بین فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز و سطوح TAC و HDL-C و ارتباط معکوس و معناداری بین فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز با میزان سرمی MDA، HbA1C و FBS را نشان داد. همچنین نشان داده شد که ارتباط معنادار و مستقیمی بین غلظت سرمی MDA و سطوح HbA1C، TG، FBS و VLDL-C وجود داشت. این در حالی بود که ارتباط معنادار و معکوسی بین غلظت سرمی TAC و سطوح HbA1C، TG، FBS و VLDL-C مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: استرس اکسیداتیو عامل مهمی در ایجاد دیابت و پیشرفت عوارض آن است، به‌طوری‌که کاهش سطح عوامل آنتی‌اکسیدانی و افزایش سطح اکسیدان‌ها رابطه بسیار نزدیکی با اختلالت متابولیسمی کربوهیدرات‌ها و لیپیدها دارد.

کلیدواژه‌ها: دیابت نوع ۲، استرس اکسیداتیو، گلوتاتیون پراکسیداز، پارامترهای لیپیدی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و سوم، شماره چهارم، ص ۲۴۳-۲۳۴، تیر ۱۴۰۱

آدرس مکاتبه: دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران، تلفن: ۰۹۱۲۱۹۹۶۹۷۶

Email: firoozraim@yahoo.com

مقدمه

دیابت ملیتوس (DM) گروهی از بیماری‌های متابولیک است که مشخصه آن هایپرگلایسمی ناشی از مقاومت به انسولین، نقص در ترشح انسولین یا هر دوی آن‌هاست. هیپرگلیسمی مزمن در ارتباط با نقص در عملکرد به افت‌هایی مانند کبد، چشم، کلیه، اعصاب، قلب و رگ‌ها است. در این بیماری تغییر چشمگیر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها دیده می‌شود که ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را بالا می‌برد(۱). دیابت به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در جهان به رسمیت شناخته شده است و برآوردهای جهانی پیش‌بینی می‌کند که جمعیت بالغ مبتلا به دیابت در سال ۲۰۳۰حدوداً ۶۹درصد افزایش یابد(۲). این بیماری علاوه بر افزایش قند خون و تغییرات بیوشیمیایی ماکرو مولکول‌ها موجب اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد-۷ به‌طوری‌که افزایش گلوکز در خارج و

[۱] دانشجوی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران

[۲] دانشجوی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران

[۳] استاد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران (نویسنده مسئول)

داخل سلول می‌تواند موجب افزایش میتوکندریایی آنیون سوپراکسید (-O2)(۳)، فعال شدن مسیر پیام‌رسانی NF- κB درنتیجه ترشح فاکتورهای التهابی، افزایش تولید ROS در فاگوسیت‌ها، افزایش جریان گلوکز در مسیر پلی اول (polyol pathway)(۴) و افزایش تولید محصولات نهایی گلیکاسیون advanced glycation end products, AGEs) گردد (۵)؛ درنتیجه با ایجاد رادیکال‌های آزاد و سایر اکسیدان‌ها و کاهش یا عدم فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها این تعال برهم‌خورده و استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود.

مطالعات نشان داده‌اند که بر هم خوردن تعادل اکسیدان-آنتی‌اکسیدانی و بروز استرس اکسیداتیو مدت‌ها قبل از بروز علائم دیابت در بدن افزایش می‌یابد که می‌توان برآورد کرد که استرس اکسیداتیو علاوه بر موارد ذکرشده نقش پاتوزنز را می‌تواند داشته باشد، درنتیجه این اثر فیدبک مثبت بین دو عامل هایپر گلیسمی و استرس اکسیداتیو در صورت عدم کنترل می‌تواند موجب آسیب‌های غیرقابل‌جبران در این بیماری شود.

سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی همواره یکی از راه‌های پیشنهادی برای کنترل و کاهش عوارض در بیماری‌های است. این سیستم متشکل از آنزیم‌ها خاص، پروتئین‌های متصل شونده به فلز و تعدادی از آنتی‌اکسیدان‌ها با وزن مولکولی کم مانند آسکوربات، سیستئین، گلوتاتیون و اورات هستند. ازجمله مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی، سلنوآنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بوده که غشاهای زیستی و سایر اجزای سلول را در برابر تخریب اکسیداتیو محافظت می‌کند(۶). گلوتاتیون پراکسیداز تترامر که در بیشتر به افت‌های پستانداران یافت شده و به نظر می‌رسد که مهم‌ترین جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن (H2O2) در به افت‌ها است. این آنزیم، احیاء پراکسید هیدروژن و تعدادی از هیدروپراکسیدهای آلی را با استفاده از گلوتاتیون به‌عنوان ماده احیاء کننده کاتالیز می‌کند؛ لذا ازجمله مکانیسم‌های تأثیرگذار بر بالانس استرس اکسیداتیو دیابت است، و نقص در آن با گرفتاری‌های ناشی از دیابت در ارتباط است (۷). ایجاد استرس اکسیداتیو ناشی از نقص در سیستم آنتی‌اکسیدانی و یا افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث آسیب به DNA ، پروتئین‌ها، لیپیدها می‌شود(۸). امروزه مطالعات گسترده‌ای به نفع آنتی‌اکسیدان‌ها در ارتباط با تسهیل بهبود و کنترل بیماری‌ها انجام شده است. باوجود مطالعات متعدد حیوانی و انسانی در ارتباط با اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در جلوگیری از بروز یا تشدید بیماری‌ها ازجمله دیابت، نقاط ابهام و نتایج ضدونقیضی در اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها وجود دارد . بنابراین مطالعه‌ی حاضر به بررسی میزان بررسی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و میزان استرس اکسیداتیو در پلاسمای بیماران دیابت تیپ ۲ و تعیین میزان همبستگی آن‌ها با سطح خونی گلوکز و پارامترهای لیپیدی پرداخته شد.

مواد و روش کار

در این مطالعه که به‌صورت مقطعی مورد ـ شاهدی انجام شده است، تعداد ۵۰ نفر (۲۵ مرد و ۲۵ زن) از بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع دو معرفی‌شده از سوی کلینیک‌های دیابت شهر تاکستان با میانگین سنی ۵۲/۳۶±۵/۲۹ سال به‌عنوان گروه مورد انتخاب گردیدند. همچنین تعداد ۵۰ نفر (۲۴ مرد و ۲۶ زن) از افراد سالم با میانگین سنی ۵۰/۶۶±۴/۸۸ سال به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شدند که تعیین حجم نمونه بر اساس مطالعه Omid Sedighi و همکاران، میزان حجم نمونه با در نظر گرفتن توان آماری ۸۰ درصد و سطح اطمینان ۹۵ درصد محاسبه شد و بر این اساس تعداد ۵۰ نفر برای هر گروه برآورد گردید.

تعریف گروه بیمار بر اساس معیارهای انجمن دیابت آمریکا و به شرح ذیل انجام شد؛ افرادی دارای گلوکز ناشتای بالای ۱۲۶ mg/dl و HbA1c بالای ۶/۵ درصد بودند به‌عنوان فرد مبتلا به بیماری دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شدند(۹). معیارهای ورود افراد بیمار در این مطالعه عبارت بودند از: مدت ابتلا به بیماری بیش از ۵ تا ۱۰، افراد بین ۴۰ تا ۶۰ سال، عدم سابقه بیماری‌های اندوکرین از قبیل پرکاری یا کم‌کاری تیروئید، عدم سابقه بیماری‌های کبدی از قبیل هپاتیت، عدم دریافت انسولین، عدم ابتلا به دیابت نوع ۱، مدت دارا بودن دیابت کمتر از ده سال، عدم ابتلا به بیماری‌های عفونی و التهابی، عدم ابتلا به دیابت حاملگی و عدم استفاده از هر دارویی بیشتر از ۶۰ روز . معیارهای خروج از مطالعه برای افراد سالم به شرح زیر بود (۲۹): گلوکز ناشتا و میزان HbA1c غیرطبیعی، افراد با سابقه ابتلا به بیماری‌های اندوکرین از قبیل پرکاری یا کم‌کاری تیروئید، افراد با سابقه ابتلا به بیماری‌های کبدی از قبیل هپاتیت، دارا بودن سن کمتر از ۴۰ سال، افراد با سابقه ابتلا یا مبتلا به بیماری‌های عفونی و التهابی (مثل آرتریت روماتوئید، لوپوس و غیره) و داشتن سابقه فامیلی دیابت در بستگان درجه یک.

پس از اخذ رضایت از افراد، و با رعایت شرایط ناشتای ۱۲ ساعته، میزان ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی از آن‌ها گرفته شد که مقداری از آن (حدود ۳ میلی‌لیتر) در لوله فالکون حاوی EDTA برای اندازه‌گیری HbA1c ریخته شد و باقیمانده برای جدا کردن سرم (سنجش سایر فاکتورها) در لوله‌آزمایش فاقد ضد انعقاد ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰g× سانتریفیوژ شد. نمونه سرم جداشده و تا هنگام انجام آزمایشات مربوطه در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بر روی بخشی از سرم جداشده میزان قند خون ناشتا، تری‌گلیسرید، کلسترول، و HDL-C با استفاده از

دستگاه اتوآنالایزر (Selectra Autoanalyser) اندازه‌گیری شد و سطح LDL-C با استفاده از فرمول فرید والد محاسبه گردید. HbA1c با دستگاه آدیکوم به روش Ion Exchange Chromatogaphy اندازه‌گیری شد و به‌صورت درصد گزارش گردید. جهت سنجش فعالیت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز از کیت کالریمتری ZellBio GmbH که روش ساده و استاندارد شده‌ای برای فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در نمونه‌های بیولوژیک مانند پلاسما، سرم، بزاق، ادرار، لیزات سلولی و بافت هموژن در طول‌موج ۴۱۲ nm استفاده می‌شود. میزان مالون دی‌آلدهید که نشان‌دهنده پراکسیداسیون لیپیدی است، با استفاده از معرف TBA با فلوریمتر در طول‌موج تحریکی ۵۱۵ نانومتر و طول‌موج نشری ۵۵۳ نانومتر شدت فلورسانس اندازه‌گیری و ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما را با معرف TPTZ در طول‌موج nm ۵۹۳، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی گردید (۱۲، ۱۳).

تحلیل نتایج با استفاده از آزمون پیرسون و از مقایسه میانگین‌ها آزمون t-student و رسم نمودارها از نرم‌افزار spss نسخه ۱۶ استفاده خواهد شد و استفاده از برنامه اکسل-درمقایسه میانگین‌ها ارزش‌های P(P-value) کمتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به شاخص‌های دموگرافیک در دو گروه بیماران مبتلا به دیابت و افراد شاهد در جدول (۱) نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد در گروه بیماران دیابتی نسبت زن به مرد ۲۵ به ۲۵ (۵۰ درصد) و در گروه شاهد این نسبت به‌صورت ۲۶ به ۲۴ (۲۵ درصد) است. همچنین شاخص توده بدنی (BMI) نیز در جدول ۱ مشاهده می‌شود. لازم به ذکر است که در هر دو گروه تفاوت معناداری ازلحاظ جنس و BMI مشاهده نشد.

جدول (۱): مقایسه سن، جنسیت و BMI. در افراد بیمار و سالم

متغیر		Mean±SD		p-value
		بیمار (۵۰ نفر)	شاهد (۵۰ نفر)	
سن		۵۲/۵±۳۶/۲۹	۵۰/۴±۶۶/۸۸	۰/۰۹۸
BMI (kg/m2)		۲۶/۱±۹۸/۴۸	۲۶/۱±۸۴/۵۰	۰/۶۴۰
جنسیت	مرد	۲۵(۵۰٪)	۲۴(۴۸/۰۰٪)	
	زن	۲۵(۵۰٪)	۲۶(۵۲٪)	

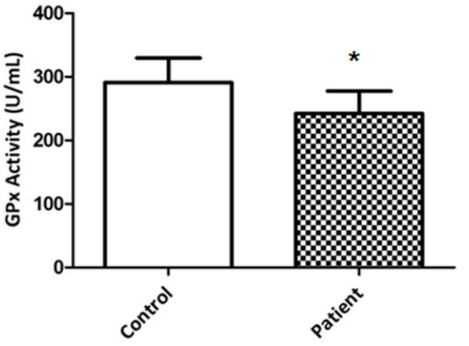
اطلاعات مربوط به داده‌های آزمایشگاهی شامل: FBS،TG، TC، LDL-C، VLDL-C و HDL-C (برحسب mg/dl) و HbA1c (درصد) اندازه‌گیری شد و نتایج آن در جدول ۲ قابل‌مشاهده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که غلظت سرمی FBS (p<۰/۰۰۱)، TG (p<۰/۰۰۱)، VLDL-C (p<۰/۰۰۱) و HbA1c (p<۰/۰۰۱) در گروه بیمار افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت (جدول ۲).

جدول ۲. سطح گلوکز، پارامترهای لیپیدی و HbA1c در دو گروه بیمار و سالم

داده‌های آزمایشگاهی (پارامترهای بیوشیمیایی)	Mean±SD		p-value
	بیمار (۵۰ نفر)	شاهد (۵۰ نفر)	
FBS (mg/dL)	۲۱۵/۵۱±۹۸/۰۴	۸۲/۷±۸۰/۴۲	<۰/۰۰۱
TG (mg/dL)	۱۴۷/۴۰±۸۰/۶۲	۱۱۵/۴۲±۳۸/۸۶	<۰/۰۰۱
TC (mg/dL)	۱۶۱/۲۳±۷۶/۶۱	۱۵۷/۱۵±۶۲/۷۳	۰/۳۰۵
LDL-C (mg/dL)	۸۱/۱۷±۶۴/۸۰	۸۰/۱۲±۶۹/۵۱	۰/۷۵۷
HDL-C (mg/dL)	۴۵/۶±۵۸/۸۹	۴۸/۸±۴۰/۷۹	۰/۰۷۷
VLDL-C (mg/dL)	۳۶/۹±۲۰/۱۴	۲۸/۱۰±۷۵/۶۶	<۰/۰۰۱
HbA1c (%)	۱۰/۱±۱۹/۸۳	۴/۰±۴۸/۵۲	۰/۰۴۷

فعالیت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز:

سطح فعالیت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های جاروبگر (scavenger) رادیکال‌های آزاد کاهش معناداری (۰/۰۵ >p) در سرم افراد بیمار دیابتی نوع ۲ نسبت به افراد سالم را نشان داد (نمودار ۱).

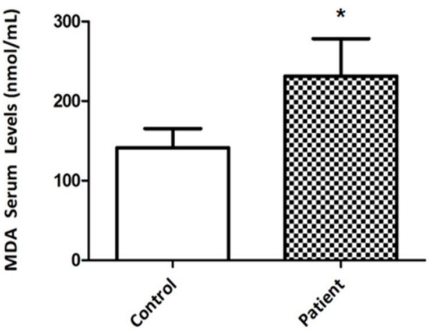


شکل (۱): فعالیت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز در افراد سالم و بیمار.

میزان فعالیت سرمی گلوتاتیون پراکسیداز در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم کاهش معناداری داشت (۰/۰۵>p).

اندازه‌گیری سطح سرمی MDA با روش فلوریمتری:

سطوح MDA به‌عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدی افزایش معناداری (۰/۰۵> p) را در سرم افراد بیمار دیابتی نوع ۲ نشان داد.



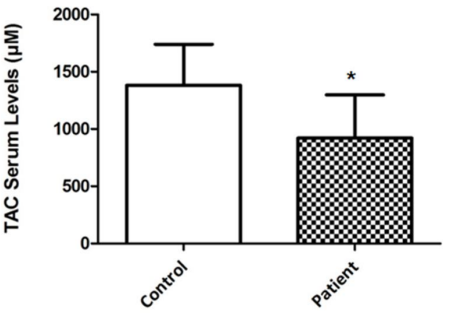
شکل (۲): اندازه‌گیری سطح سرمی MDA در افراد سالم و بیمار

سطح سرمی MDA افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم افزایش معناداری نشان داد ($p < 0.05$)

اندازه‌گیری سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC):

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی آزاد کاهش معناداری (۰/۰۵ >pدر سرم افراد بیمار دیابتی نوع ۲ نسبت به افراد سالم را نشان داد (نمودار ۳).

× مقایسه با گروه کنترل (۰/۰۵>p)

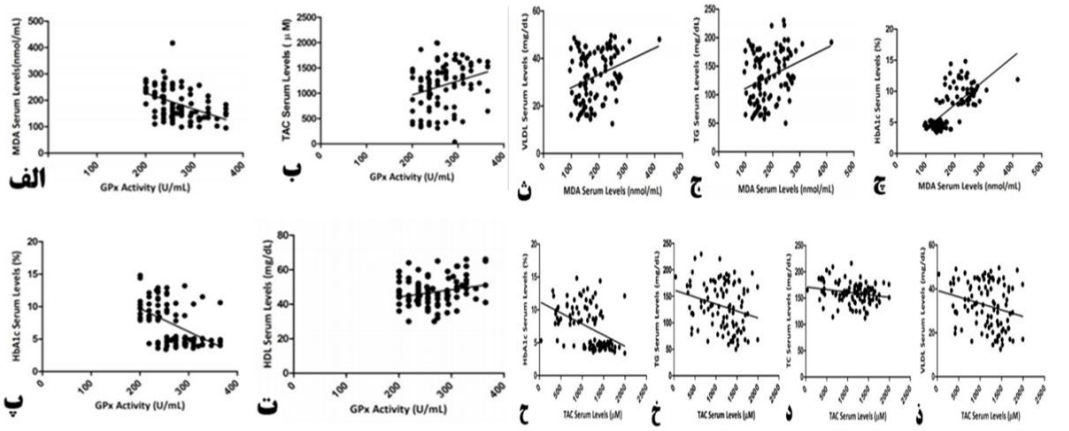


شکل (۳): سطح سرمی TAC در افراد سالم و بیمار

سطح سرمی TAC در افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم کاهش معناداری داشت (۰/۰۵>p).

بررسی همبستگی بین متغیرهای موردمطالعه:

به‌منظور بررسی ارتباط متغیرهای موردمطالعه از آزمون همبستگی و ضریب همبستگی (r) پیرسون استفاده شد. نتایج همبستگی در این مطالعه حاکی از آن بود که ارتباط معنادار و مستقیمی بین فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز و سطوح TAC (r= ۰/۲۸۳ ،p =۰/۰۰۴) و HDL-C (r= ۰/۲۸۳ ،p =۰/۰۰۴) و ارتباط معکوس و معناداری بین فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز با میزان سرمی MDA (r= -۰/۴۵۸ ،p <۰/۰۰۱)، HbA1C (r=-۰/۵۱۰ ۰p <۰/۰۰۱) و FBS (r=-۰/۴۷۹ ۰ ،p <۰/۰۰۱)) را نشان داد (شکل ۴). همچنین نشان داده شد که ارتباط معنادار و مستقیمی بین غلظت MDA و سطوح HbA1C (p <۰/۰۰۱، r=۰/۷۱۹)، TG (p =۰/۰۰۲، r=۰/۳۱۰)، FBS (p <۰/۰۰۱، r= ۰/۶۹۷) و VLDL-C(p <۰/۰۵، r= ۰/۳۰۸) وجود داشت (شکل ۴). همچنین نشان داده شد که ارتباط معنادار و معکوسی بین غلظت سرمی TAC و سطوح HbA1C (p <۰/۰۰۱، r=-۰/۴۳۶)، TG (p <۰/۰۰۱، r=- ۰/۲۵۶)، FBS (p <۰/۰۰۱، r= -۰/۴۵۹) TC،(p <۰/۰۰۱، r=- ۰/۲۱۳) و VLDL-C (p<۰/۰۵، r= ۰/۲۴۴) مشاهده شد (شکل ۴).



شکل (۴): همبستگی بین متغیرها. فعالیت سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با الف.MDA، ب.TAC، پ. HbA1c و ت. HDL-C ارتباط معناداری دارد. سطح سرمی MDA با ث. VLDL-C، ج. TG و چ. HbA1c ارتباط معنادار دارد. سطح سرمی TAC با ح. HbA1c، خ.TG، د.TC و ذ.VLDL-C نیز ارتباط معنادار دارد.

بحث و نتیجه گیری

دیابت نوع ۲ بیماری اپیدمیک عصر حاضر بوده که بر اساس مطالعات یک بیماری ژنتیکی است که نهایتاً در اثر عوامل محیطی متعدد و تأثیرگذار ایجاد می‌گردد(۱۰). با تغییر سبک زندگی و مسن شدن بافت جمعیتی در ایران شیوع دیابت به‌صورت جد در حال پیشرفت است(۱۱، ۱۲). متابولیسم ماکرومولکول‌ها به‌ویژه کربوهیدارت‌ها و لیپیدها در دیابت دچار تغییر می‌شوند. مقاومت به انسولین موجب تداخل در جذب گلوکز و متابولیسم لیپیدها می‌شود(۱۳).

معمولاً بیماران دیابتی (نوع ۲) در ۶۰ درصد تا ۷۰درصد افراد دیابتی افزایش ملایم LDL-C، کاهش ملایم HDL-C و افزایش TC و TG دیده می‌شود. (۱۴). در مطالعه حاضر نیز تغییرات متابولیسم لیپیدها به‌وضوح مشاهده شد (جدول ۲). به‌طوری‌که افزایش معناداری در سطح TG و VLDL-C در بیماران نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. این در حالی بود که نتایج ما نشانگر کاهش قابل‌توجه میزان HDL-C در بیماران بود هرچند این کاهش معنادار نبود. هیپرگلیسمی ناشی از دیابت از طریق مسیرهای مختلفی باعث شروع و پیشرفت عوارض دیابتی می‌شود(۱۵). به نظر می‌رسد که استرس اکسیداتیو یکی از مهم‌ترین مسیرها برای ایجاد و پیشرفت این عوارض باشد(۱۵). در بدن انسان رادیکال‌های آزاد به مقدار تنظیم‌شده تولیدشده و با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی از تخریب عملکردهای سلولی جلوگیری می‌شود (۸). تولید رادیکال‌های آزاد به‌وسیله هایپرگلیسمی کنترل نشده از طریق: افزایش مسیر گلیکولیز، فعال‌سازی مسیر پلی اول، اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوگز، فعال‌سازی پروتئین کیناز C (PKC) مستقل از NAD(P)H اکسیداز، افزایش مسیر هگزوزآمین، افزایش تولید داخل سلولی محصولات نهایی گلایکشن (AGEs) و رسپتورهای آن‌ها و گلایکیشن غیرآنزیمی پروتئین‌ها صورت می‌گیرد(۱۶).

انواع مختلفی از آنتی‌اکسیدان‌ها ازجمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با وزن مولکولی زیاد، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با وزن مولکولی کم، آنتی‌اکسیدان‌های ویتامینی و آنتی‌اکسیدان‌های معدنی در بدن وجود دارند. از مهم‌ترین این عوامل می‌توان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را نام برد(۱۷). این آنزیم در بیشتر به افت‌های پستانداران یافت می‌شود، و به نظر می‌رسد که مهم‌ترین جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و هیدروپراکسیدهای آلی با استفاده از گلوتاتیون احیاء در این به افت‌ها باشد. بنابراین نقص در آن با گرفتاری‌های ناشی از دیابت در ارتباط است (۷). نتایج ما نشان داد که فعالیت سرمی آنزیم GPx در گروه بیمار به‌صورت معناداری کمتر از گروه کنترل بود. همچنین ارتباط مستقیم و معناداری بین فعالیت این آنزیم با سطوح TAC و HDL-C و ارتباط معکوس و معناداری با MDA، HbA1C و FBS مشاهده شد.

در سال ۲۰۱۱ Goyal و همکاران با مطالعه بر روی افراد سالم، دیابتی چاق و دیابتی غیر چاق نشان دادند که میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در افراد دیابتی (چاق و غیر چاق) کمتر از افراد سالم بوده

همچنین کاهش این آنزیم در افراد چاق دیابتی بیشتر از افراد غیر چاق دیابتی بود. آن‌ها همچنین نشان دادند که بین FBS و میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ارتباط معکوس و معناداری مشاهده می‌گردد(۱۸) که همسو با نتایج مطالعه حاضر بود. در سال ۲۰۱۳ Said و همکاران نشان دادند که فعالیت سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در افراد دیابتی به‌طور معناداری کاهش می‌یابد. همچنین فعالیت سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و FBS، LDL-C و TG رابطه معکوس و معناداری مشاهده شد این در حالی بود که این رابطه با HDL-C مستقیم و معنادار گزارش شد(۱۹). نتایج این مطالعه به استثنا ارتباط فعالیت سرمی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با TG مشابه مطالعه حاضر بود که این تفاوت هم احتمالاً ناشی از مدت‌زمان ابتلای بسیار بیشتر افراد دیابتی شرکت‌کننده در مطالعه مذکور بوده به‌طوری‌که بیش از ۷۰درصد افراد دیابتی حاضر در این مطالعه گرفتار رتینوپاتی ناشی از دیابت بودند. در مطالعات دیگر ارتباط معکوس بین آنزیم گلوتلتیون پراکسیداز با سطح سرمی MDA (۲۰)، HbA1c (۲۱) و ارتباط متناسب با TAC (۲۴-۲۲) گزارش‌شده که تأییدکننده نتایج مطالعه حاضر است.

ماکرومولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کربوهیدرات‌ها بر اثر رادیکال‌های آزاد حاصل از دیابت آسیب می‌بینند. بر همین اساس با شناسایی و اندازه‌گیری برخی از مارکرها می‌توان این اثرات مضر را شناسایی کرد (۲۵). MDA و F2 ایزوپروستان، به‌عنوان بیومارکرهای اکسیداسیون لیپیدها را می‌توان اندازه‌گیری کرد(26). یکی از تست‌های محبوب برای ارزیابی اثرات زیان‌بار رادیکال هیدروکسیل در سلول‌ها تست تیوباربیتوریک اسید است که از آن برای اندازه‌گیری MDA استفاده می‌شود(۲۵) . پراکسیداسیون لیپیدی نقش مهمی در پاتوژنز بسیاری از اختلالات پیش‌رونده مانند دیابت را ایفا می‌کنند(۱۶). Sato و همکاران اولین گزارش را درباره افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در افراد دیابتی نسبت به افراد سالم گزارش کردند(۲۷). در مطالعه صورت گرفته بر روی ۶۰ بیمار دیابتی نوع۲ مشخص شد میزان MDA در این افراد افزایش داشته درحالی‌که میزان TAC در این افراد کاهش نشان داده است که نشان‌دهنده افزایش میزان استرس اکسیداتیو در افراد دیابتی است(۲۸). در مطالعات متعددی ثابت‌شده که سطح افزایش یافته MDA سرمی در افراد دیابتی ارتباط مستقیم و معناداری با HbA1c ۲۱ (۲۰، ۲۱). ، FBS (۲۹، ۳۰) و TG و VLDL-C (۳۱) وجود دارد.. هم‌راستا با مطالعات ذکرشده در فوق نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که میزان سطح MDA در افراد دیابتی به‌صورت معناداری بیشتر از افراد سالم بود. همچنین ارتباط معنادار و مستقیمی بین غلظت سرمی MDA با سطوح HbA1C، TG، FBS و VLDL-C را نشان داد.

متدهای مختلی برای برآورد وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در مایعات و به افت‌های بیولوژیک وجود دارد. مزیت اصلی این روش‌ها اندازه‌گیری تمام آنتی‌اکسیدان‌ها به‌صورت هم‌زمان به‌جای اندازه‌گیری تنها یک آنتی‌اکسیدان است. بنابراین TAC به‌عنوان یک بیومارکر برای تشخیص و پیش‌بینی، نشانگری از وضعیت از عوامل اکسیدانی و دفاع آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از بیماری‌های متابولیک ازجمله دیابت اندازه‌گیری می‌شود(۲۴). بر همین اساس در مطالعه پیش رو برای ارزیابی وضعیت آنتی‌اکسیدانی تام در سرم بیماران دیابتی و افراد سالم از تست FRAP استفاده شد. نتایج مربوط به اندازه‌گیری TAC در این تحقیق نشان داد که این میزان در بیماران دیابتی کاهش معناداری نسبت به افراد سالم دارد. همچنین ثابت شد که سطح TAC با سطوح FBS، HbA1C، TC، TG و VLDL-C ارتباط معکوس و معناداری داشت. همسو با نتایج ما زارع‌میرزایی و همکاران در مطالعه‌ای بر روی بیماران نشان دادند که TAC در این بیماران به‌طور معناداری کمتر از افراد سالم است. آن‌ها همچنین ثابت کردند که ارتباط معکوس و معناداری بین سطح TAC با سطوح FBS، HbA1C و طول مدت بیماری دیابت وجود دارد این در حالی بود که ارتباط معنادار و مستقیمی بین سطح TAC با سطح ویتامینD (یک ویتامین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی) در این مطالعه مشاهده شد(۳۲). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ نشان داد که میزان TAC در افراد دیابتی نسبت به افراد سالم کاهش معناداری دارد. در تأیید نتایج ما آن‌ها همچنین ارتباط معنادار و معکوسی بین سطح TAC با سطوح FBS و HbA1C مشاهده کردند(۳۳). همان‌گونه که قبلاً هم ذکرشده از تست FRAP با توان احیاکنندگی آهن پلاسما که قادر است تمام آنتی‌اکسیدان‌ها _ سیستم‌های آنزیمی مانند کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردکتاز، سوپر اکسید دیسموتاز و سرولوپلاسمین، مولکول‌های کوچک مانند آسکوربات، اسیداوریک، گلوتاتیون و ویتامین و پروتئین‌ها مانند آلبومین، ترانسفرین و متالوتیونین‌ها_ را هم‌زمان اندازه‌گیری کند استفاده شد. تغییر در متابولیسم لیپیدها در ارتباط با تغیرات اکسیداتیو LDL-C، گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها و اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوکز بوده که خود ناشی از استرس اکسیداتیو به وجود آمده ناشی از رادیکال‌های آزاد است(۳۴). در مطالعه حاضر برای اولین بار ارتباط TAC با پروفایل لیپیدی مورد بررسی قرار گرفت.

Rawi و همکاران با مطالعه بر روی افراد دیابتی نشان دادند که پروفایل لیپیدی در افراد دیابتی نسبت به افراد سالم تغیر می‌کند. آن‌ها همچنین ارتباط معناداری و معکوسی را بین SOD (یکی از مهم‌ترین اجزا TAC) با VLDL-C کردند (۳۵)که به‌نوعی هم‌راستا با نتایج ما بود. بااین‌حال مطالعات زیادی نشان داده که درمان با

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی که میزان TAC را در سرم بالا می‌برد، باعث تغییر متابولیسم لیپیدها در بیماری‌های مختلف ازجمله دیابت نوع ۲ می‌شود(۳۸-۳۵).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده و جود یک ارتباط قوی بین فاکتورهای دخیل در استرس اکسیداتیو و تغییرات متابولیسم ماکرو مولکول‌ها ازجمله تغییرات متابولیسم لیپیدها وجود دارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات اساتید گرامی آقای دکتر محسن فیروز که در این مسیر بدون هیچ‌گونه چشم‌داشتی راهنمایی و همکاری خود را از این‌جانب دریغ نکردند و همچنین از همکاری مراکز درمانی شهرستان تاکستان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تضاد منافع

این مطالعه برای نویسندگان هیچ‌گونه تضاد منافعی نداشته است.

References:

1. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2014;37(Supplement 1):S81-S90.
2. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Res Clin Prac 2010;87(1):4-14.
3. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. J physiol 2003;552(2):335-44.
4. Ding Y, Kantarci A, Hasturk H, Trackman PC, Malabanan A, Van Dyke TE. Activation of RAGE induces elevated O2− generation by mononuclear phagocytes in diabetes. J Leuk Biol 2007;81(2):520-7.
5. Negre-Salvayre A, Salvayre R, Auge N, Pamplona R, Portero-Otin M. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. Antiox Redox Sign 2009;11(12):3071-109.
6. Sunde RA, Hoekstra WG. Structure, synthesis and function of glutathione peroxidase. Nutr Rev 1980;38(8):265-73.
7. Sindhu RK, Koo JR, Roberts CK, Vaziri ND. Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapies. Clin Experim Hypertens 2004;26(1):43-53.
8. Sies H. Oxidative stress: Elsevier; 2013.
9. Ozdemır G, Ozden M, Maral H, Kuskay S, Cetınalp P, Tarkun I. Malondialdehyde, glutathione, glutathione peroxidase and homocysteine levels in type 2 diabetic patients with and without microalbuminuria. Ann Clin Biochem 2005;42(2):99-104.
10. Larejani B, Zahedi F. Epidemiology of diabetes mellitus in Iran. Iran J Diabet Metabol 2001;1(1):1-8.
11. Esteghamati A, Etemad K, Koohpayehzadeh J, Abbasi M, Meysamie A, Noshad S, et al. Trends in the prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in association with obesity in Iran: 2005–2011. Diabet Res Clin Prac 2014;103(2):319-27.
12. Sarayani A, Rashidian A, Gholami K. Low utilisation of diabetes medicines in Iran, despite their affordability (2000–2012): a time-series and benchmarking study. BMJ Open 2014;4(10):e005859.
13. LeRoith D. β-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. Am J Med 2002;113(6):3-11.
14. Parhofer KG. Interaction between glucose and lipid metabolism: more than diabetic dyslipidemia. Diabet Metabol J 2015;39(5):353-62.
15. Marcovecchio ML, Lucantoni M, Chiarelli F. Role of chronic and acute hyperglycemia in the development of diabetes complications. Diabet Tech Therapeut 2011;13(3):389-94.
16. Chikezie PC, Ojiako OA, Ogbuji AC. Oxidative stress in diabetes mellitus. Int J Biol Chem 2015;9(3):92-109.
17. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annual Rev Nutr 1996;16(1):33-50.

18. Goyal R, Singhai M, Faizy AF. Glutathione peroxidase activity in obese and nonobese diabetic patients and role of hyperglycemia in oxidative stress. J Midlife Health 2011;2(2):72.
19. Said NS, Hadhoud KM, Nada WM, El Tarhouny SA. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and vitamin E in patients with diabetic retinopathy. Life Sci J 2013;10:1851-6.
20. Kumawat M, Sharma TK, Singh I, Singh N, Ghalaut VS, Vardey SK, et al. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus patients with and without nephropathy. N Am J Med Sci 2013;5(3):213.
21. Davina Hijam SR, Th. Premchand and W.Gyaneshwar. A study on glutathione peroxidase and malondialdehyde in type 2 diabetes. 3rd World Congress on Diabetes & Metabolism; September 24-26, 2012.
22. Celik S, Akkaya H. Total antioxidant capacity, catalase and superoxide dismutase on rats before and after diabetes. J Anim Veterin Adv 2009;8(8):1503-8.
23. Capas M, Kaner G, Soylu M, Inanc N, Basmisirli E. The relationship between plasma total antioxidant capacity and dietary antioxidant status in adults with type 2 diabetes. Prog Nutr 2018;20(1):67-75.
24. Kusano C, Ferrari B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. J Cell Mol Biol 2008;7(1):1-15.
25. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabet Med 2000;17(3):171-80.
26. Esterbauer H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. Am J Clin Nutr 1993;57(5):779S-86S.
27. Sato Y, Hotta N, Sakamoto N, Matsuoka S, Ohishi N, Yagi K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. Biochem Med 1979;21(1):104-7.
28. Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamel WA, Souka S, Lowe JE, et al. Depletion of total antioxidant capacity in type 2 diabetes. Metab Clin Exp 1999;48(11):1414-7.
29. Manohar SM, Vaikasuvu SR, Deepthi K, Sachan A, Narasimha SRPVL. An association of hyperglycemia with plasma malondialdehyde and atherogenic lipid risk factors in newly diagnosed Type 2 diabetic patients. J Res Med Sci 2013;18(2):89.
30. Noberasco G, Odetti P, Boeri D, Maiello M, Adezati L. Malondialdehyde (MDA) level in diabetic subjects. Relationship with blood glucose and glycosylated hemoglobin. Biomed Pharmacother 1991;45(4-5):193-6.
31. Hamad MS, Khalaf SJ, Sarhat ER. Relationship between malondialdehyde activity (MDA) &Lipid Profile in Diabetic Patients. Tikret J Pharmaceut Sci 2009;5(1):27-32.
32. Zare-Mirzaie A, Kazeminezhad B, Akbari Ghouchani M. The Correlation Between Serum Vitamin D Level and Total Antioxidant Capacity in diabetic and Non-diabetic Subjects in Iran. Iran J Pathol 2018;13(2):212-9.
33. Pieme CA, Tatangmo JrmA, Simo G, Nya PCB, Moor VJA, Moukette BM, et al. Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. BMC Res Notes;10(1):141.
34. Yang R-L, Shi Y-H, Hao G, Li W, Le G-W. Increasing oxidative stress with progressive hyperlipidemia in human: relation between malondialdehyde and atherogenic index. J Clin Biochem Nutr 2008;43(3):154-8.
35. Kim WY, Kim MH. The change of lipid metabolism and immune function caused by antioxidant material in the hypercholesterolemic elderly women in Korea. Korean J Nutr 2005;38(1):67-75.
36. Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S. Antidiabetic effect of Punica granatum flowers:

effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. Food Chem Toxicol 2009;47(1):50-4.

37. Al-Rawi NH. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics. Diabetes and Vasc Dis Res 2011;8(1):22-8.
38. Tang L-Q, Wei W, Chen L-M, Liu S. Effects of berberine on diabetes induced by alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet in rats. J Ethnopharmacol 2006;108(1):109-15.

Original Article

EVALUATION OF GLUTATHIONE PEROXIDE ACTIVITY AND OXIDATIVE STRESS IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS AND THEIR RELATIONSHIP WITH SERUM GLUCOSE LEVEL AND BLOOD LIPID PARAMETERS IN A CASE-CONTROL STUDY

Fateme Ezlegini[1], Amir-Hossein Eftekhari[2], Mohsen Firozray[3]*

Received: 04 April, 2022; Accepted: 05 November, 2022

Abstract

Background & Aims: Diabetes has been the most common metabolic disorder in recent decades. Oxidative stress and its related factors play an important role in the onset and complications of diabetes. In this study, glutathione peroxidase activity and oxidative stress indices in serum of type 2 diabetes patients and their correlation with blood glucose and lipid parameters were evaluated.

Materials & Methods: This is a case-control study. 50 healthy people (24 men and 26 women) and 50 diabetic people (25 men and 25 women) were randomly selected. Following a 12-hour fasting condition, the blood samples were taken and the sera were isolated. Fasting blood sugar, lipid profiles, lipid peroxidation, total antioxidant status, and glutathione peroxidase activity were measured by relevant protocols. All information was analyzed using SPSS software version 16. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered.

Results: Serum glutathione peroxidase activity and total antioxidant status in the patient group had a significant decrease in comparison with the control group. Serum levels of malondialdehyde, FBS, TG, VLDL-C, and HbA1c increased significantly in the patient group than in the control group. Statistical analysis showed a significant and direct correlation between glutathione peroxidase activity and TAC and HDL-C levels, and a significant and inverse correlation between glutathione peroxidase activity and serum MDA, HbA1C, and FBS levels. It was also shown that there was a significant and direct correlation between MDA serum concentration and levels of HbA1C, TG, FBS, and VLDL-C. However, there was a significant and inverse correlation between serum TAC concentration and HbA1C, TG, FBS, TC, and VLDL-C levels.

***Conclusion*:** Oxidative stress is a major contributor in the development of diabetes and its complications, so that the decrease in the level of antioxidative factors and the increase in the level of oxidants are closely related to the metabolic disorder of carbohydrates and lipids.

Keywords: Diabetes Mellitus, Glutathione Peroxidase, MDA, TAC, Oxidative Stress, Lipid Profiles

Address: Department of Biochemistry, Islamic Azad University Shahrod Branch, Shahrod, Iran
Tel: +989121996976
Email: firoozraim@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2022: 33(4): 243 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2022 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1] *MSC Student of Biochemistry, Department of Biochemistry, Islamic Azad University Shahrod Branch, shahrod, Iran*
[2] *MSC Student of Biochemistry, Department of Biochemistry, Islamic Azad University Shahrod Branch, shahrod, Iran*
[3] *Professor, Department of Biochemistry, Islamic Azad University Shahrod Branch, shahrod, Iran (Corresponding Author)*