



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

تأثير فرط الاكسدة في بعض المؤشرات الحيوية لدى مرضى السكري النوع الثاني

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

علم الحيوان / الفلسفة الحيوانية

من قبل

جنان خليل ابراهيم الدهلكي

بكالوريوس علوم حياة

ياشرف

أ.م.د حميد محمود مجيد

كانون الثاني 2013 م

ربيع الاول 1434 هـ

Ministry of Higher Education and Scientific Research
Diyala University
College of Education for Pure Science
Department of Biology



Effect of oxidative stress on the some biomarkers in diabetes mellitus type II

A thesis submitted the
College of Education for pure Science as a Partial Fulfillment of
the Requirements for the Degree of
M.Sc.in Biology
(Zoology / Animal Physiology)

By

Jinan Khaleel Ibrahim AL-Dahlaki

B.Sc. Biology

Supervised by

Assis . Prof . Dr . Hameed M. Majeed

January 2013 A.D

Rabi Al-Awwal 1434 A.D.



﴿وَلْيَعْلَمَ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّكَ﴾

صدق الله العظيم

الحج: 54

الفصل الأول

المقدمة

الفصل الثاني

الأشياء وطرائق العمل

الفصل الثالث

الاستاذ

الفصل الرابع

المناقشة

المطارد

المملكة

الاستجابات

والتوقيعات

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار لجنة المناقشة

نشهد أننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة بـ (تأثير فرط الاكسدة في بعض المؤشرات الحيوية لدى مرضى السكري النوع الثاني) وقد ناقشنا الطالبة (جنان خليل ابراهيم الدهلكي) في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونعتقد بأنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / علم الحيوان بتقدير (جيد جداً) .

عضو اللجنة

التوقيع
أ.م.د. زهير معروف حسين
2013 / 3 / 14

عضو اللجنة

التوقيع
أ.م.د. نغم ياسين كاظم
2013 / 3 / 14

رئيس اللجنة

التوقيع
أ.د. غازي منعم عزيز
2013 / 3 / 31

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع
أ.م.د. حميد محمود مجيد
2013 / 3 / 13

مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة
اصداق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع
أ.د. عباس عبود فرحان
2013 / 4 / 1

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار لجنة المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بان إعداد هذه الرسالة الموسومة بـ (تأثير فرط الأكسدة في بعض المؤشرات الحيوية لدى مرضى السكري النوع الثاني) التي قدمتها طالبة الماجستير (جنان خليل ابراهيم الدهلجي) جرى تحت إشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات درجة الماجستير في علوم الحياة / فرع الحيوان .

التوقيع

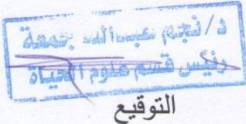
المشرف : أ.م.د. حميد محمود مجيد

كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2013/١/٢١

((توصية رئيس قسم علوم الحياة))

بناء على التوصيات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة :



التوقيع

أ.م.د. نجم عبدالله جمعة

رئيس لجنة الدراسات العليا

رئيس قسم علوم الحياة

2013/١/٢١

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار الخبير العلمي

اشهد ان هذه الرسالة الموسومة بـ (تأثير فرط الاكسدة في بعض المؤشرات الحيوية لدى مرضى السكري النوع الثاني) التي قدمتها طالبة الماجستير (جنان خليل ابراهيم الدهلبي) في قسم علوم الحياة / فرع الحيوان قد تم مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك اصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

دائرة صحة ديالى / مستشفى بعقوبة التعليمي
في صدارة زرقا قسيه محمد
طبيب اختصاص امراض الدم

التوقيع

الاسم: د. ماريه زرقا قسيه محمد
المرتبة العلمية: صيد اعطاء (قد)

2013/9/2

الخلاصة

المقدمة:

تُشير الدراسات الى ان مرضى السكري هم الاكثر تعرضاً لفرط الاكسدة الناتج عن فرط السكرية. ان زيادة انتاج الجذور الحرة بسبب فرط السكرية ولربما يساهم في مضاعفات القلب والاعوية الدموية لدى مرضى السكري.

الهدف من الدراسة:

الهدف من هذه الدراسة هو للبحث عن العلاقة بين فرط الاكسدة ومؤشرات مصل الدم لدى مرضى السكري من النوع الثاني، وتتم المقارنة بين قيم متوسطات MDA، والكلوكوز، والفيتامينين المضادين للتأكسد A و E، والنمط الدهني ومجموعة الاصحاء، لتحديد قدرة فرط الاكسدة على احداث الضرر في هذا النوع من السكري.

الاشخاص والطرائق:

شملت الدراسة 200 شخص مصاب بداء السكري النوع الثاني (100 أناث، 100 ذكور) تراوحت اعمارهم بين 40-80 سنة، قسمت الى مجموعتين تبعاً للجنس و قورنت كلا المجموعتين بمجموعة مؤلفة من 100 شخص سليم من كلا الجنسين.

جُمعت العينات بعد 12 ساعة صيام بواقع 5 مل دم وريدي في انابيب تُركت لمدة نصف ساعة لغرض التخثر ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي 3000 دورة/ دقيقة لمدة عشر دقائق. وتم حفظ المصل مباشرة عند درجة -20 م ° لحين اجراء التحليلات.

تم قياس فيتامينات A و E بجهاز HPLC واستخدمت عدة القياس لقياس النمط الدهني المكون من TC و TG و HDL -C و ldl-c و VLDL-C.

النتائج:

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي توافر ارتفاع معنوي في قيم متوسطات النمط الدهني في الذكور TC و LDL-C وانخفاض معنوي في قيم متوسطات HDL-C بينما لم تظهر قيم متوسطات TG و VLDL-C اية فروق معنوية على الرغم من ارتفاع مستوياتها لدى المرضى. كما اظهرت قيم متوسطات فيتامينات A و E انخفاضاً معنوياً لدى مرضى السكري مقارنة بالأصحاء.

اما قيم متوسطات مجموعة المرضى الاناث فقد اظهرت جميع مكونات النمط الدهني ارتفاعاً معنوياً ماعدا قيم HDL-C التي اظهرت انخفاضاً معنوياً مقارنة بالأصحاء.

وعند دمج مجاميع المرضى الذكور والاناث ومقارنتها بمجاميع الاصحاء الذكور والاناث وجدت فروقات معنوية مرتفعة في مقياس النمط الدهني ماعدا HDL الذي اظهر انخفاضاً معنوياً، وكذا الحال بالنسبة لفيتامين E دون فيتامين A الذي لم يظهر فروقات معنوية لدى مرضى السكري مقارنة بالأصحاء.

وعلى الرغم من توافر انخفاض معنوي في مستويات السكر في الدم عند الاناث إلا ان قيم متوسطات TG و VLDL-C كانت مرتفعة معنوياً عند الاناث مقارنة بالذكور في حين اشارت قيم LDL-C الى ارتفاع مستوياتها عند الذكور مقارنة بالاناث، كما أظهرت قيم فيتامين E ارتفاعاً معنوياً لدى الاناث مقارنة بالذكور ولم تظهر فيتامين A اي فروق معنوية.

وعند ايجاد النسبة بين الكوليسترول : HDL وجد بأنهما يقعان ضمن معدل الخطورة الذي يتراوح بين (3.4- 5.0) في الذكور و(3.3- 9.9) في الاناث حيث بلغت 9.967 و 4.363 في كل من الذكور والاناث على التوالي وتعد هذه النسبة بوصفه دليلاً رئيسياً على تصلب الشرايين Atherosclerosis.

كما تم ايجاد النسبة بين HDL:LDL والتي تعد ايضا دليل على خطورة امراض القلب والتي كانت ضمن معدل الخطورة الذي يتراوح بين (1.0- 3.6) في الذكور و(1.5- 3.2) في الاناث إذ بلغت 2.599 و 2.158 في كل من الذكور والاناث على التوالي علما بأن مجاميع المرضى كافة اظهرت ارتفاعا معنوياً في سكر الدم مقارنة بالأصحاء.

وكانت مستويات الـ MDA مرتفعة معنوياً لدى مجاميع مرضى داء السكري مقارنة مع مجموعة الأصحاء.

الاستنتاجات:

وجود علاقة ائزان بين الجذور الحرة الاوكسجينية وانظمة الدفاع المضادة للتأكسد، واختلال هذا التوازن يسبب العديد من الامراض. وان هناك تأثير على مستوى فيتامين E المتوافر بشكل رئيس في جسيمات LDL.

ويرافق نقص الـ HDL حدوث مضاعفات للسكري من امراض القلب والاعوية الدموية مثل تصلب الشرايين.

قائمة المختصرات

List of abbreviation

4-AP	4-Aminophennazone
ATP	Adenosine triphosphate
AGEs	Advanced glycation end products
CHE	Cholesterol esterase
CHOD	Cholesterol oxidase
Conc	Concentration
CHD	Coronary heart disease
DNA	Deoxyribose nucleic acid
DAG	Di acyl glycerol
D.W	Distal water
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
FBS	Fasting blood suger
FPG	Fasting plasma glucose
F.A	Fatty acid
GOD	Glucose oxidase
GPX	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathion-SH
GADPH	Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase
GPO	Glycerol -3- oxidase
GK	Glycerol kinase
HDL	High density lipoprotein
HPLC	High-performance liquid chromatography
Km	Michaelis constant
LPL	Lipoprotein lipase
LDL	Low density lipoprotein
MDA	Malondaialdehyde
MAPK	Mitogen activated protein kinase
NOS	Nitric oxide synthases
NF	Nuclear factor
PON1	Para oxonase 1
PON2	Para oxonase 2

POD	Peroxidase
PK	Protein kinase
ROS	Reactive oxygen species
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NIDDM	Noninsulin-dependent diabetes mellitus
STZ	Streptozotocin
SOD	Super oxide dismutase
TBA	Thiobarbituric
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances
TCA	Trichloro acetic acid
TC	Total cholesterol
TG	Triglyceride
VLDL	Very low density lipoprotein
V.A	Vitamin A
V.E	Vitamin E
XO	Xanthine oxidases

قائمة المحتويات

Table of Contents

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة.	
IV	قائمة المختصرات.	
VI	قائمة المحتويات.	
IX	قائمة الجداول.	
X	قائمة الاشكال.	
الفصل الأول/ المقدمة		
1	المقدمة.	1
1	العلاقة بين فرط الأكسدة وداء السكري.	1-1
5	آليات فرط السكرية المحدثة للضرر الوعائي.	2-1
6	زيادة تدفق مسار Polyol.	1-2-1
8	زيادة انتاج AGE داخل الخلية.	2-2-1
9	زيادة تنشيط بروتين كايينيز.	3-2-1
11	زيادة تدفق مسار Hexosamine.	4-2-1
13	مصادر الجذور الحرة.	3-1
14	أكسدة الشحوم.	4-1
16	النمط الدهني.	5-1
16	الكولسترول الكلي.	1-5-1
16	الكليسيريدات الثلاثية.	2-5-1
17	البروتين الشحمي عالي الكثافة.	3-5-1
17	البروتين الشحمي منخفض الكثافة.	4-5-1
17	البروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً.	5-5-1

18	العلاقة بين السكري والبروتينات الشحمية.	6-1
20	الفيتامينات.	7-1
22	الهدف من الدراسة.	8-1
الفصل الثاني/ المواد وطرائق العمل		
22	المواد وطرائق العمل.	2
22	المواد الكيميائية.	1-2
23	الاجهزة المستخدمة والشركات المصنعة.	2-2
24	عينات الدم.	3-2
24	عينات السيطرة.	1-3-2
24	عينات المرضى.	2-3-2
24	المعاملة الأولية لعينات الدم.	4-2
25	طرائق القياس.	5-2
25	قياس مستوى الكلوكوز في مصل الدم.	1-5-2
27	قياس مستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم.	2-5-2
29	قياس مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم.	3-5-2
32	قياس مستوى البروتينات عالية الكثافة في مصل الدم.	4-5-2
34	حساب البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة جداً في مصل الدم.	5-5-2
34	حساب البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة في مصل الدم.	6-5-2
35	قياس مستوى المألون داي الديهايد في مصل الدم.	7-5-2
37	قياس تركيز فيتامين A و E في مصل الدم.	8-5-2
40	التحليل الاحصائي.	6-2
الفصل الثالث / النتائج		
40	النتائج.	3
54	العلاقات الترابطية.	2-3
الفصل الرابع / المناقشة		
59	المناقشة.	4

VIII

59	العلاقة بين فرط الأكسدة وداء السكري.	1-4
61	العلاقة بين فرط الاكسدة والفيتامينات المضادة للتأكسد.	2-4
64	فرط الاكسدة والنمط الدهني.	3-4
69	الاستنتاجات.	
70	التوصيات.	
71	المصادر.	

قائمة الجداول

List of the Tables

الصفحة	عنوانه	رقم الجدول
22	المواد الكيماوية.	1-2
23	الاجهزة المستخدمة والشركات المصنعة.	2-2
42	متوسطات الكلوكوز، MDA، والنمط الدهني وفيتاميني A و E في مصل دم مرضى السكري النوع الثاني الذكور مقارنة بالأصحاء.	1-3
44	متوسطات الكلوكوز، MDA، والنمط الدهني وفيتاميني A و E في مصل دم مرضى السكري النوع الثاني الإناث مقارنة بالأصحاء.	2-3
46	متوسطات الكلوكوز، MDA، والنمط الدهني وفيتاميني A و E في مصل دم مرضى السكري النوع الثاني الذكور والاناث مقارنة بالأصحاء.	3-3
47	متوسطات الكلوكوز، MDA، والنمط الدهني وفيتاميني A و E في مصل دم مرضى السكري النوع الثاني الذكور مقارنة بالإناث.	4-3
50	العلاقات الترابطية بين مستوى MDA و FBS و TC و TG و HDL و VLDL و LDL وفيتاميني A و E.	5-3

قائمة الأشكال

List of the Figures

الصفحة	عنوانه	رقم الشكل
6	مسار Polyol.	1-1
9	إنتاج AGE داخل الخلية.	2-1
10	تنشيط بروتين كايينيز.	3-1
12	مسار Hexosamine.	4-1
38	جهاز HPLC.	1-2
38	جهاز Nitrogen-Evaporator.	2-2
51	العلاقة الترابطية بين MDA و FBS في مصل الدم.	10-3
51	العلاقة الترابطية بين MDA و TC في مصل الدم.	11-3
52	العلاقة الترابطية بين MDA و TG في مصل الدم.	12-3
52	العلاقة الترابطية بين MDA و HDL في مصل الدم.	13-3
53	العلاقة الترابطية بين MDA و VLDL في مصل الدم.	14-3
53	العلاقة الترابطية بين MDA و LDL في مصل الدم.	15-3
54	العلاقة الترابطية بين MDA و V.A في مصل الدم.	16-3
54	العلاقة الترابطية بين MDA و V.E في مصل الدم.	17-3

1. المقدمة Introduction

(1-1) العلاقة بين فرط الاكسدة وداء السكري

Relationship between oxidative stress and diabetes mellitus

تُعرف منظمة السكر الامريكية السكري بأنه مجموعة أمراض أيضية تتسبب في فرط سكرية الدم Hyperglycemia والناجمة عن نقص إفراز الانسولين أو ضعف فعل الانسولين او كليهما (Diabetes care, 2012).

تمتاز انواع مرض السكري كلها بـ:

بارتفاع مستوى السكر في الدم (فرط السكرية)، والنقص النسبي أو المطلق لفعل الانسولين، ومقاومة الانسولين في المسارات الأيضية فضلاً عن إن تطور هذا المرض يؤدي الى مضاعفات تتمثل في تأثيره في شبكية العين، والكبيبات الكلوية، والاعصاب المحيطية، وتصلب الشرايين Atherosclerosis المؤثر على الشرايين المجهزة للدم لكل من القلب والدماغ، وتسببه في شلل العضلة القلبية (Ferdinand & Michael, 2010).

تتعرض كل خلية في جسم الانسان عند مرضى السكري الى تراكيز عالية من الجلوكوز، وتُحدث فرط السكرية Hyperglycemia ضرراً في خلايا معينة دون الاخرى.

إذ أن استهداف تلك الخلايا بوساطة فرط السكرية يعكس قصورها في تنظيم دخول الجلوكوز عند ارتفاع تركيزه خارج الخلايا، وان عدم قدرة الخلايا على تحسس الضرر الذي تُحدثه فرط السكرية بشكل مباشر يُشير الى توافر علاقة عكسية بين تراكيز الجلوكوز خارج الخلايا والجلوكوز المنتقل. وعلى العكس من ذلك فان الخلايا الطلائية الوعائية والتي تُعد أهدافاً رئيسة

للضرر الذي تُحدثه فرط السكرية لم تُظهر أية تغيرات في معدل الكلوكوز المنتقل عندما يرتفع تركيزه متسببة بفرط السكرية داخل الخلايا (Kaiser et al, 1993).

وُسبب فرط السكرية في احداث الضرر النسيجي من خلال الخمس آليات رئيسة هي:

1. زيادة تدفق الكلوكوز والسكريات الاخرى من خلال مسار Polyol.

2. زيادة تكوين Advanced glycation end products (AGEs) داخل الخلايا.

3. زيادة تعابير مستقبلات (AGEs) وتنشيطها للـ Ligands.

4. تنشيط البروتين كابينيز (PKC).

5. فرط نشاط مسار Hexosamine.

تُشير العديد من الدراسات الى ان هذه الآليات الخمسة يجري تنشيطها بواسطة مصدر واحد هو فرط انتاج المايثوكوندريا من الانواع الأوكسجينية الفعالة Reactive oxygen species (ROS) (Barwnlee,2005).

ان عدم التوازن بين أنتاج الانواع الأوكسجينية الفعالة ومضادات الاكسدة ينتج عنه فرط الاكسدة الذي تتمثل عواقبه في: (Halliwell & Whiteman, 2004)

1. التكيف الخلوي نتيجة زيادة فعالية الانظمة الدفاعية.

2. الجرح الخلوي الناتج عن استهداف الجزيئات الحيوية مثل الشحوم و DNA والبروتينات والكربوهيدرات.

3. موت الخلايا نتيجة الضرر التأكسدي خاصة للـ DNA بواسطة موت الخلايا

المبرمج Apoptosis او النخر Necrosis.

وهناك انواع مختلفة من الجذور الفعالة ولكن اغلب الجذور المتولدة في جسم الانسان هي جذور أوكسجينية ROS ذات فاعلية عالية في الانسجة والخلايا. وفي الحالات الطبيعية يُعدّ تواجد تراكيز قليلة من هذه الجذور ضرورياً للأداء الوظيفي الخلوي والاشارات الخلوية (Droge, 2002)، أما في الحالات المرضية فان زيادة انتاج هذه الجذور يتسبب بأضرار في الـ DNA والبروتينات والكربوهيدرات والدهون وخافضه للأداء الوظيفي الخلوي المؤدي لنشوء الامراض كالسكري، وتصلب الشرايين ، والسمنة، والتهاب المفاصل وامراض اخرى عديدة.

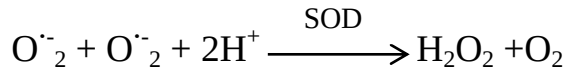
تشمل الجذور الاوكسجينية الفعالة ROS المتولدة في جسم الانسان جذر Superoxide ($O_2^{\cdot-}$) و Hydrogen peroxide (H_2O_2) وجذر الهيدروكسيل ($HO^{\cdot}$) و Nitric oxide ($NO^{\cdot}$). وفي خلايا الثدييات يُعدّ انزيم NADPH oxidase هو المسؤول عن تولد الجذور الاوكسجينية الفعالة والذي يقع على الغشاء الخلوي لخلايا Polymorphonuclear cells، Macrophages والخلايا الطلائية الوعائية (Bablor et al, 2002)، والانزيمات الاخرى القادرة على نقل الالكترونات الى الاوكسجين الجزيئي لإنتاج Superoxide ولتخليق Nitric oxide synthases (NOS)، Cyclooxygenases، Lipoxigenases، Cytochrome P450 reductases، Xanthine oxidases (XO) (Selemidis et al, 2005).

ومن خلال تحولات الطاقة داخل المايوتوكندريا وعبر سلاسل النقل الالكتروني فإن أعداداً قليلة من الالكترونات تتسرب لتكوين جذر Superoxide (Kovacic et al, 2005).

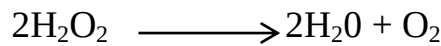
وعلى الرغم من ان هذه الجذور ذات فعالية عالية الا ان مدّة بقائها قصيرة ويكون تأثيرها ضمن محيط مواقع انتاجها. وعلى هذا الاساس من الممكن ان نتصور ان مكونات غشاء المايوتوكندريا الحاوي على معقدات السلاسل التنفسية والفوسفوليبيد ليس فقط مصدراً لإنتاج الجذور الحرة الاوكسجينية بل يُعدّ ايضاً هدفاً رئيساً لهجوم ROS (Fortuno et al, 2004).

وقد أشارت دراسات عديدة الى ان انتاج المايوتوكندريا من ROS يزداد الى حد ما في حالات نقص الاوكسجينية (Prabhakar et al,2007). وذلك يعود الى أن الاوكسجين هو المادة الاساس للتفاعل المولد للـ ROS، ومن الطريف بان الكائنات الحية عديمة السلسلة التنفسية لم تظهر هذه الزيادة في ROS. وكذلك الحال في حالات نقص الاوكسجينية الحاد (Turrens,2003).

وتُعرف مضادات الاكسدة بانها اي مادة عند توافرها باقل تركيز مقارنة بالمادة المؤكسدة تستطيع ان تؤخر او تثبط اكسدة تلك المادة (Halliwell & Gutteridge,1990) ويشمل الدفاع المضاد للتأكسد كل من الانظمة الانزيمية وغير الانزيمية. فالأنزيمات المضادة للتأكسد هي (SOD) Superoxide dismutase الذي يعمل على تحويل الـ Superoxide الى H_2O_2 الاقل فعالية



والذي يبقى بالقرب من موقع إنتاجه، كما انه يستطيع ان ينفذ عبر الاغشية الى الساييتوسول وبهذا يصبح عاملاً مؤكسداً. كما ان الخلايا تحتوي على انزيم الـ Catalase و Glutathione peroxidase (GPX) و Thioredoxin التي تحول H_2O_2 الى ماء واوكسجين جزيئي



لقد حظي البروتين الشحمي عالي الكثافة HDL-C في مصل الدم والذي له علاقة بـ Para oxonase1 (PoN1) بعناية كبيرة خلال السنوات الاخيرة لما له من دور في خفض تأثير فرط الاكسدة على البروتينات الشحمية، وعلى الـ Macrophages واضرار تصلب الشرايين

إذ Para oxonase2 (PoN2) والمتوافر في الانسجة وليس في المصل، يعمل كمضاد تأكسدي على المستوى الخلوي. وكلا الـ PoN1 و PoN2 لهما دور الحماية من تطور تصلب الشرايين بوصفه مضاداً تأكسدياً (Rosenblat & Aviram,2009).

اما مضادات الاكسدة غير الانزيمية فتشمل الفيتامينات مثل فيتامين A و E و C و β -carotene. والمعادن مثل السليسيوم والنحاس والزنك، والكلوتاثيون المختزل والعديد من الـ Phytochemicals التي تعمل ضد الجذور الحرة.

وفضلاً عن مضادات الاكسدة الانزيمية وغير الانزيمية فإن هناك مركبات ذات فعالية مضادة للأكسدة غير انها قليلة نسبياً، لكن توافرها بتركيز يساهم في ازالة فعالية ROS ومن امثلة ذلك الاحماض الامينية الحرة والبروتينات (Zulet et al,2009).

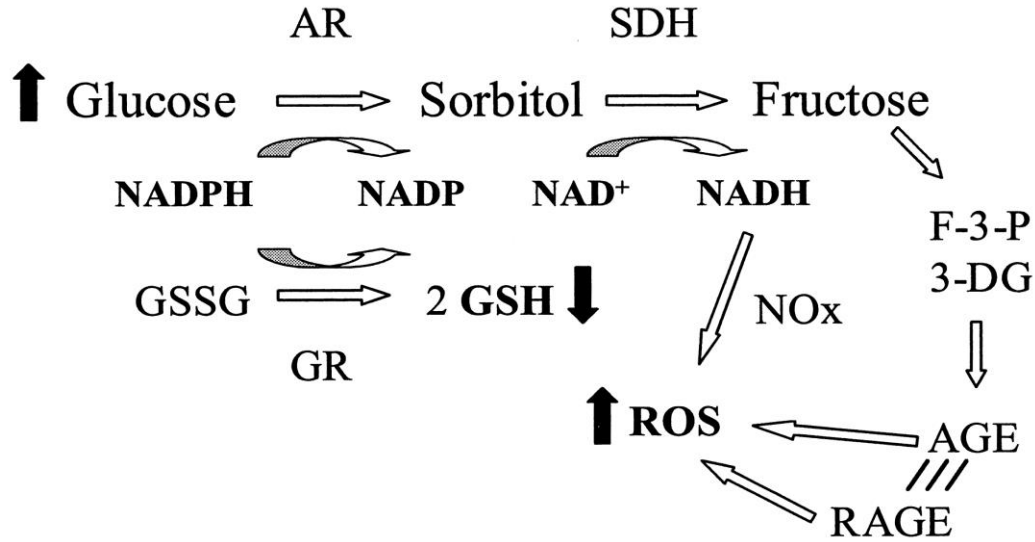
(2-1) آليات فرط السكرية المُحدثة للضرر الوعائي

Mechanism of hyperglycemia induced damage

تشير معظم الدراسات الى ان الضرر الوعائي لدى مرضى السكري والذي يحدث بوساطة فرط السكرية يجري بوساطة الآليات الخمس الرئيسية المشار اليها سابقاً. وتشير نتائج الدراسات السريرية الى ان ايقاف مسار واحد فقط من المسارات الخمسة يؤدي الغرض ما يعني بان الآليات الخمس كلها تنشط بوساطة عامل واحد هو فرط انتاج المايٹوكوندريا من الانواع الاوكسجينية الفعالة ROS (Gerald & King,2010).

Increased flux polyol pathway**Polyol (1-2-1) زيادة تدفق مسار الـ Polyol**

يعتمد مسار الـ Polyol على مجموعة انزيمات Aldo-keto-reductase التي تستخدم مركبات الكربونيل واسعة الانتشار كمادة اساس للتفاعل وتختزلها بواسطة NADPH الى المركبات متعددة الهيدروكسيل Polyols، وقد كان يُعتقد في البداية بان الكلوكوز يتحول الى Sorbitol بواسطة انزيم Aldose reductase ومن ثم مع الـ Sorbitol الذي يتأكسد الى Fructose بواسطة انزيم Sorbitol dehydrogenase ومع NAD^+ بوصفه عاملاً مساعداً. الشكل (1-1) (Stephen *et al*,2003)



Figure(1-1) Polyol pathway–induced oxidative stress. AR competes with glutathione reductase (GR) for their co-factor NADPH, leading to a decrease in GSH. Increased NADH causes NADH oxidase (NOx) to produce ROS. Fructose-3-phosphate (F-3-P) and 3-deoxyglucosone (3-DG), metabolites of fructose, increase AGE formation. AGE and binding of AGE to receptor of AGE (RAGE) increase oxidative stress.

يتوافر Aldose reductase في الانسجة مثل الالياف العصبية، وشبكية العين، والعدسات العينية، والكبيبات الكلوية والخلايا الوعائية (Prabhakar *et al*,2007) في العديد من هذه الانسجة فان الكلوكوز المتنقل لا يعتمد على الانسولين ولهذا فان تراكيز الكلوكوز

داخل الخلايا يرتفع موازياً لفرط السكرية. وافترضت آليات عديدة لتوضيح الكيفية التي تحدث بها فرط السكرية زيادة تدفق مسار الـ Polyol المسبب للضرر النسيجي. والشاهد الاكبر في هذا هو الزيادة الحاصلة في Redox stress المتسببة باستهلاك NADPH. إذ أن الـ NADPH عامل مساعد يحتاج اليه لإعادة توليد الكلوتاثيون المختزل GSH، وGSH هو مزيل مهم للـ ROS وهذا سوف يحدث فرط تأكسدي داخل الخلية. او بالأحرى فرط تعابير Aldose reductase الذي يزيد من تصلب الشرايين Atherosclerosis في الفئران ويقلل التعابير الجينية المنظمة لإعادة توليد GSH. (Vikramadithyn et al,2005) المختزل ايضاً يتم استنزافه في العدسات للـ Transgenic mice التي تظهر فرط Aldose reductase وفي عدسات الفئران المصابة بالسكري مقارنة بعدسات الفئران غير المصابة بالسكري (Lee & Chung,1999; Chung et al,2003; Zhang et al,2000; Ji et al,2004).

في الخلايا الوعائية لمرضى السكري لم يظهر الكلوكوز بوصفه الـ Substrate الذي يعمل عليها Aldose reductase بسبب ان Km للـ Aldose reductase للكلوكوز هو 100mmol/L، بينما تركيز الكلوكوز داخل الخلايا في مرضى السكري للخلايا الطلائية الوعائية هو 30 nmol/mg protein (Zhang et al,2003).

(2-2-1) زيادة انتاج AGE داخل الخلية

Increased intracellular AGE formation

تتكون AGE بواسطة التفاعلات غير الانزيمية للكلوكوز وبقية مركبات الـ Glycating المشتقة من الكلوكوز ومن زيادة اكسدة الاحماض الدهنية في الخلايا الطلائية الوعائية لاسيما القلب (مثال Dicarbonyls) مثل glyoxal, Methylglyoxal, 3-deoxyglucosone مع

البروتينات (Candido *et al*,2003; Vikramadithn *et al*,2005). في مرضى السكري،

AGEs متوافرة بكميات فائضة في الصفيحة خارج الخلايا (Nishino *et al*,1995)

انتاج طلائع AGEs داخل الخلايا يحدث الضرر بالخلايا بثلاث آليات عامة هي:

A. تحويل بروتينات داخل الخلايا مما يغير من وظيفتها.

B. تحويل مكونات الصفيحة خارج الخلايا مما يجعلها تتفاعل بشكل غير طبيعي مع بقية

مكونات الصفيحة Matrix ومع مستقبلات الـ Matrix (Integrins) المتوافرة على

سطوح الخلايا.

C. تحويل بروتينات البلازما بواسطة طلائع AGEs يربطها مع مستقبلات AGE على

سطوح الخلايا مثل Vascular smooth muscle cells و Vascular endothelial

cells و Macrophages، ان ارتباط مستقبل AGE (RAGE) يحدث انتاج ROS

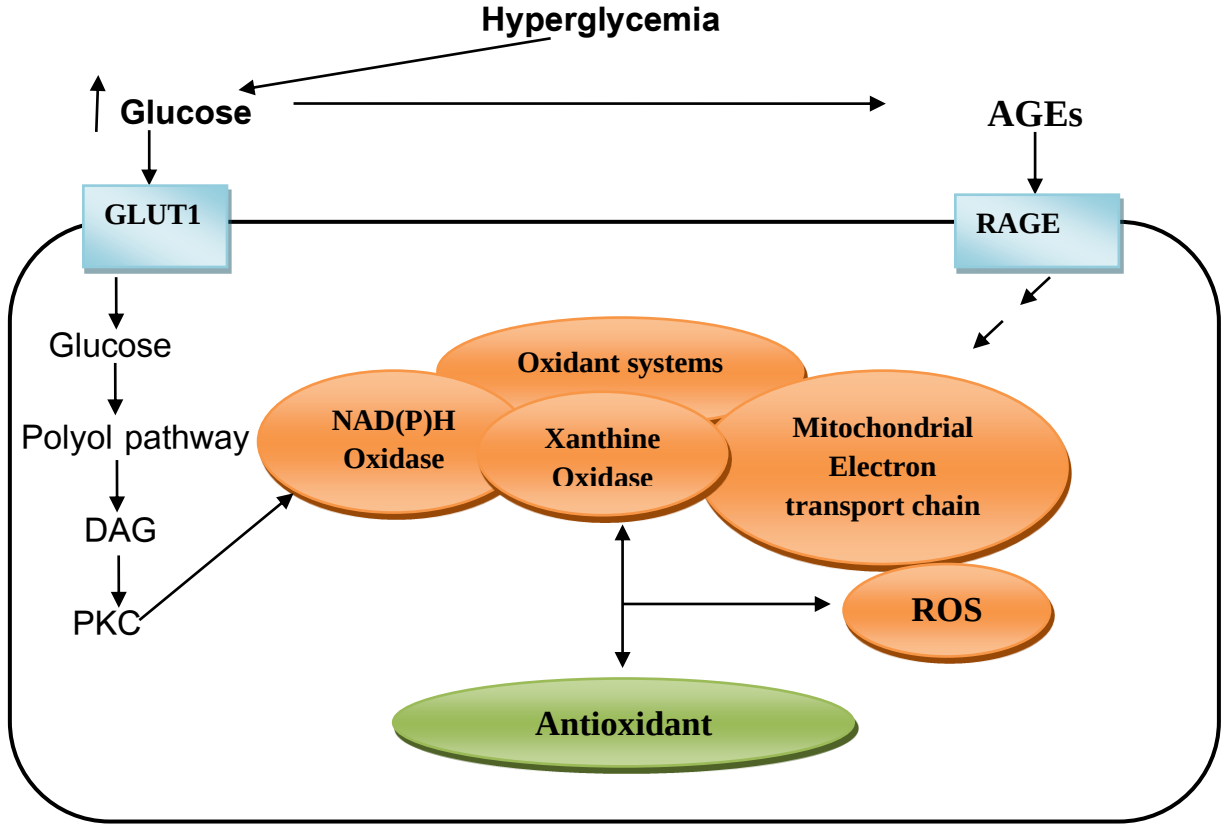
والتي تنشط NF- κ B (Pleiotropic transcription factor nuclear factor) والتي

مُحدثاً العديد من التغيرات المرضية في التعابير الجينية (Goldin *et al*,2006) فضلاً

عن زيادة متأيضات Methylglyoxal في الخلايا الطلائية الوعائية الشريانية وفي

الخلايا الطلائية الوعائية لكلى الجرذان. الشكل (1-2-1 Réjean & Jean)

(Pierre,2004)



Figure(1-2) Schematic representation of the mechanisms responsible for the formation of reactive oxygen species (ROS) in glucose sensitive cells expressing the glucose transporter GLUT1. Increase in extracellular glucose concentration is associated with increase in glucose uptake via an upregulation of the expression of GLUT1 and the formation of advanced glycation end products (AGEs). Increase in intracellular glucose activates protein kinase C (PKC) while AGEs bind to specific receptors (RAGE). Activation of PKC and RAGE synergistically stimulates oxidant systems resulting in the formation of ROS

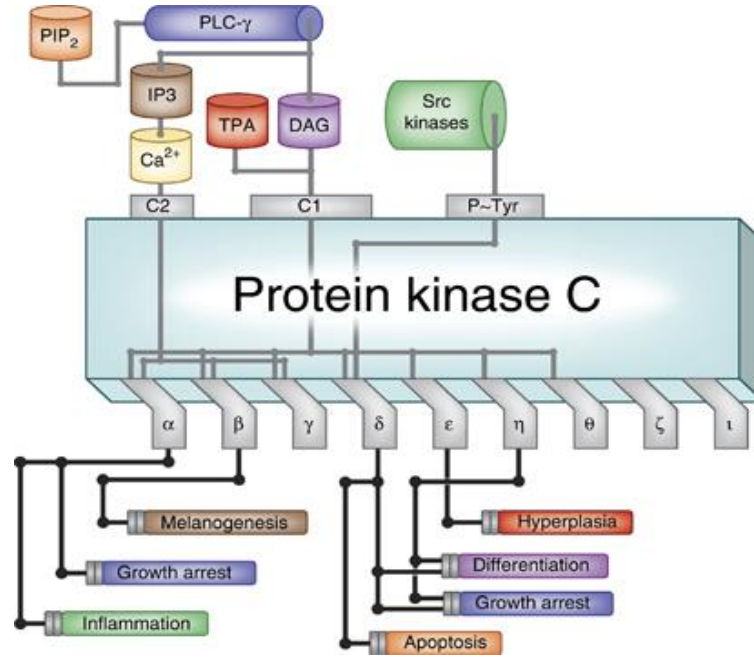
(3-2-1) زيادة تنشيط بروتين كايينز Increased protein kinase C activation

PKCs مجموعة مكونة على الاقل من 11 isoforms متوافرة بشكل واسع في انسجة

التيديات. ويستهدف الانزيم بروتينات مختلفة. وإن نشاط الـ Isoforms يعتمد بدرجة كبيرة على

ايونات Ca^{2+} و Phosphatidyl serine ويقوم بتقوية هذا النشاط (Zulet, 2009)

بوساطة Diacylglycerol (DAG). الشكل (3-1) (Francesca et al, 2012)



Figure(1-3) Integration of protein kinase C (PKC) signaling circuitry. PKC isoforms can be activated by the second messenger inputs calcium (Ca^{2+}) and diacylglycerol (DAG) generated by the activity of phospholipase C (PLC). Intracellular calcium activates PKC α , β , and γ via their C2 domains, whereas DAG and 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) activate PKC α , β , γ , δ , ϵ , η , and θ via C1 domains. Src family kinases can also tyrosine phosphorylate and alter the expression of PKC δ . The outputs of PKC signaling are isoform dependent as indicated: PKC α (differentiation-associated growth arrest and cytokine-mediated inflammation), PKC β (melanogenesis), PKC δ (squamous differentiation, growth arrest, and apoptosis), PKC η (squamous differentiation and growth arrest), and PKC ϵ (hyperplasia). PIP₂, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate.

إن زيادة استمرارية تنشيط العديد من PKC isoforms يُخلف مساراً ثالثاً يتوسطه الجرح النسيجي الذي يحدث بواسطة فرط السكرية المُنتج لـ ROS. ان زيادة تكوين DAG من الكلوکوز عن طريق Triose phosphate والذي يزداد توافرها بسبب زيادة ROS المثبط لفعالية انزيم Glycolytic (GAPDH)، رافعاً مستويات triose phosphate DAG داخل الخلايا (Inoguchi *et al*, 1992).

وتشير الدراسات الى ان تنشيط PKC isoforms ينتج ايضاً من التفاعل بين AGEs ومستقبلاتها المتوافرة على سطوح الخلايا (Derubertis & Craven,1994).

وعادة ما يقوم فرط السكرية بتنشيط β α δ isoforms of PKC في مواقع الخلايا الوعائية (Xia *et al*,1994).

(4-2-1) زيادة تدفق مسار Hexosamine Increased hexosamine pathway flux

فرط السكرية ومقاومة الانسولين تؤدي الى زيادة اكسدة الاحماض الدهنية فضلاً عن مساهمتها في نشوء مضاعفات داء السكري عن طريق زيادة تدفق Fructose 6-phosphate في مسار Hexosamine (Sayeski & Kudlow,1996).

في هذا المسار فان Fructose -6-phosphate المتكون من تحلل سكر الكلوكوز يقوم بتجهيز مادة التفاعل لمعدل انزيمي محدود في هذا المسار، -6-fructose Glutamine: phosphate amidotransferase (GFAT). الشكل (4-1) (Michael 2001)

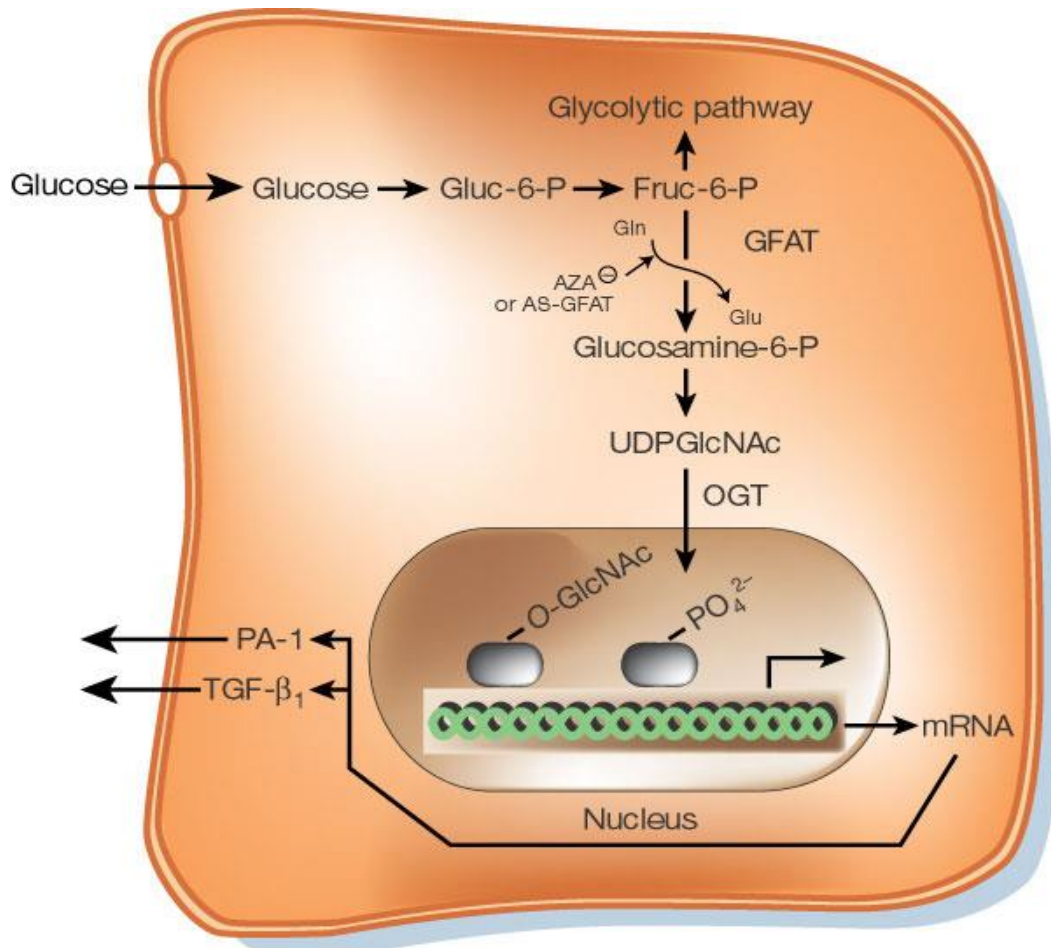
GFAT يحول Fructose 6-phosphate الى Glucosamine 6-phosphate والذي يتحول بعد ذلك الى UDP-N-Acetyl glucosamine.

Specific O-GlcNAc transferases يستعمل هذا for post translational modification of specific serine & threonine residues on cytoplasmic & nuclear protein by O- Gicnac.

إن تثبيط GFAT يمنع فرط السكرية من احداث زيادة استتساخ كل من α -TGF و β_1 -TGF (Kolm *et al*, 1998).

وعلى الرغم من عدم وضوح كيفية زيادة التدفق من خلال مسار Hexosamine والذي يتوسط فرط السكرية المؤدية الى الزيادة في الاستتساخ الجيني للجينات مثل α -TGF و β_1 -TGF، PA1-I، الا انه اتضح بان فرط السكرية تتسبب في زيادة مقدارها اربعة اضعاف

في O-GlcNac acylation لعامل استنساخ SP1 المنظم للخلايا العضلية الملساء الوعائية (Chen *et al*, 1998) و TGF- β 1 و PAI-1 في الخلايا البطانية الوعائية الشريانية (Du *et al*, 2000).



Figure(1-4) The glycolytic intermediate fructose-6-phosphate (Fru-6-P) is converted to glucosamine-6-phosphate by the enzyme glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT). Intracellular glycosylation by the addition of *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) to serine and threonine is catalysed by the enzyme *O*-GlcNAc transferase (OGT). Increased donation of GlcNAc moieties to serine and threonine residues of transcription factors such as Sp1, often at phosphorylation sites, increases the production of factors as PAI-1 and TGF- β 1. AZA, azaserine; AS-GFAT, antisense to GFAT

(3-1) مصادر الجذور الحرة Resource of free radicals

يُعرف الجذر الحر بأنه أي ذرة أو جزيئة تحتوي في غلافها الخارجي على واحد أو أكثر من الإلكترونات غير المقترنة. هذه الإلكترونات غير المقترنة تغير من الفاعلية الكيميائية للذرة أو الجزيئة بحيث تصبح أكثر فاعلية من نظيرتها غير الجذرية (Vartanian *et al*,2003).

الفاعلية الكيميائية الحقيقية للجذور الحرة تختلف فيما بينها إلى حد كبير، فعلى سبيل المثال فإن جذر الهيدروجين $H^{\cdot}$ الحاوي على بروتون واحد هو أبسط أنواع الجذور الحرة، وتبدأ تفاعل جذور السلاسل الحرة غالباً بإزالة $H^{\cdot}$ من جزيئات أخرى (مثل ذلك، أكسدة الشحوم (Lipid peroxidation) الناتجة من مهاجمة الجذور الحرة للأغشية الخلوية محدثة للضرر الغشائي ومتلفة للأنزيمات والمادة الوراثية DNA).

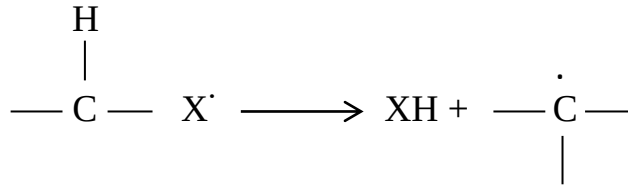
وتتولد بعض الجذور الحرة بشكل طبيعي، كما هو الحال في الأكسدة الخلوية لتحرير طاقة الغذاء، وتأتي بقية الجذور الحرة من التعرض للأشعة فوق البنفسجية، والأشعة الكونية، وأشعة أكس، والملوثات، والإضافات الغذائية، والكحول، والتدخين، والأدوية وبقية Xenobiotics (Akcha *et al*,2003).

ولإعطاء فكرة عن مقدار الضرر الذي تحدثه الجذور الحرة، نفترض بأن هذه الجزيئات الفاعلة تهاجم وتكسر خيوط الـ DNA المنفردة 10000 مرة باليوم، وإن حوالي 9900 منها يُعاد إصلاحها بواسطة نظام إعادة إصلاح الـ DNA. أما البقية فتتجمع بمرور الوقت وتحدث أضراراً خلوية مختلفة ينتج عنها نشوء السرطان والأمراض الأخرى (Current Diabetes Scenario in india,2007).

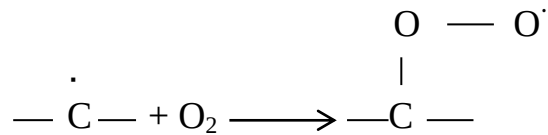
إن معظم الجزيئات في النظام الحيوي ليست جذرية، لذا فإن نشوء اي جذر حر فعال يتفاعل مع الجزيئات غير الجذرية، وينتج عن سلسلة التفاعلات هذه تكوين جذور حرة جديدة Radicals beget radicals ويتولد عن تفاعلات الجذور الفاعلة مع الاغشية الحيوية او البروتينات الشحمية اكسدة الشحوم Lipid peroxidation، التي تعد في الوقت الحاضر الاساس الكيموحيوي لأنواع كثيرة من الامراض والمشاكل الصحية. على سبيل المثال فيما اذا كانت جذور الهيدروكسيل تولدت بالقرب من الـ DNA، فإنها تهاجم قواعد الـ Purine & pyrimidine مسببة للطفرات (Kumawat et al,2012).

(4-1) اكسدة الشحوم Lipid peroxidation

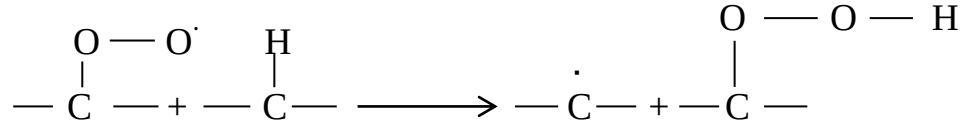
تقوم الجذور الحرة ($\text{No}^\cdot$, $\text{O}^\cdot$, $\text{OH}^\cdot$) باختزال ذرة هيدروجين من السلاسل الجانبية للأحماض الدهنية غير المشبعة Polyunsaturated fatty acids للخلية تاركة الكترون غير مقترن على ذرة الكربون



ومن ثم تتفاعل ذرة الكربون مع الاوكسجين



مكونة Peroxy radical الذي يقوم بمهاجمة السلاسل الجانبية للأحماض الدهنية مولداً جذراً كاربونياً جديداً.



ومن ثم يستمر التفاعل لحين تكسر الاحماض الدهنية. وعموماً فإن الجذر الحر الفعال يستطيع اكسدة العديد من السلاسل الجانبية للأحماض الدهنية لتكوين بيروكسيد الشحوم Lipid peroxides مما يؤدي الى احداث الضرر بالأغشية الخلوية مما يفقدها صفة النفوذية (Rosenson,2005).

فعلى سبيل المثال يستطيع جذر الـ Peroxyl ازالة ذرة الهيدروجين من السلاسل الجانبية للشحوم منتجا Hydroperoxides ومعزراً بذلك المسار الأيضي للجذور الحرة، لما له من تأثيرات سامة على الخلايا بصورة مباشرة او من خلال ضعف الاداء الوظيفي الخلوي، كما ان جذور الهيدروكسيل هذه تستطيع التفاعل مع المعادن الانتقالية مثل الحديد و النحاس لتكوين الديهايدات ثابتة مثل Malondialdehydes المتسببة في احداث الضرر بالأغشية الخلوية.

ان اعطاء Stereptozytocin (STZ) او Alloxan الى الفئران يؤدي الى نشوء داء السكري، إذ ينتج عنه زيادة في Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) وهو دليل قوي وغير مباشر على انتاج الجذور الحرة، ويمكن ايقافه بالمعالجة بكثير من المركبات المضادة للتأكسد مثل Nicotine amide، Melatonin او Aspirin. كما يمكن المعالجة بخليط من فيتامينات E، و C و β-carotene (Hunt,1990).

(5-1) النسق الدهني Lipid profile

يتكون النسق الدهني من الكولسترول الكلي (Total cholesterol (TC)، والكليسيريدات الثلاثية (Triglyrides (TG)، والبروتين الشحمي عالي الكثافة (High density lipoprotein (HDL-C)، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً (Very low- density lipoprotein (VLDL-C)، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة (Low- density lipoprotein (LDL-C).C)

(1-5-1) الكولسترول الكلي (Total cholesterol (TC

يُقدر الكولسترول الكلي لمعرفة طبيعة الشحوم بسبب القصور الايضي، والكولسترول ضروري للحياة حيث ان زيادة نسبته يسبب تصلب الشرايين Atherosclerosis ويستفاد منه الجنس في صنع الهرمونات الجنسية، فيتامين D والاعشبة الخلوية، وإن حوالي 2/3 من كولسترول الجسم يُصنَّع من قبل الكبد و1/3 الباقي يأتي من الغذاء.

يتوافر ارتفاع الكولسترول في الاغذية الغنية بالدهن، وفرط الكولسترول الاولي Primary hypercholesterolemia، والمتلازمة النفرونية Nephritic syndrome، Hypothyroidism، وتشمع الصفراء الاولي Primary biliary cirrhosis وفي بعض حالات السكري.

اما انخفاض مستوياته فتلاحظ في حالات سوء التغذية وسوء الامتصاص وامراض الكبد

الحادة، وكثرة الحمر الحقيقية Polycythemia vera (Lamarche,1996).

(2-5-1) الكليسيريدات الثلاثية (Triglycerides (TG)

يُستعمل لقياس حالة الشحوم والقصور الايضي كما هو الحال في الكولسترول. وإن الكليسيريدات الثلاثية هي المكون الرئيس لـ Chylomicrons و VLDL-C، وترتفع مستوياتها في حالات القصور الدرقي Hypothyroidism والسكري والتهاب الكبد المزمن وامراض الكلية والتهاب البنكرياس وبعض الامراض الوراثية (Yoshino,1996).

(3-5-1) البروتين الشحمي عالي الكثافة (High density lipoprotein (HDL-C)

تشير الدراسات الى ان HDL-C مُنبئ قوي للداء القلبي القفاري Ischemic heart disease، ان التأثيرات الوقائية لـ HDL-C لأمراض القلب والاعوية الدموية تتمثل بدوره في النقل العكسي للكولسترول مثال ذلك نقل الكولستيرول الفائض من الانسجة الطرفية باتجاه الكبد لإخراجه مع الصفراء او الى الاعضاء المخلقة للهرمونات الستيرويدية بالإضافة الى ان HDL-C يُعد مضاداً تأكسدياً Anti-oxidative ومضاداً التهابياً Anti-inflammatory و Anti-apoptotic features (Thavatchi et al,2006).

(4-5-1) البروتين الشحمي منخفض الكثافة (Low- density lipoprotein (LDL-C)

يُطلق عليه الكولسترول الرديء، وهو واحد من اهم العوامل واكثرها خطورة عند مرضى تصلب الشرايين Atherosclerosis. LDL-C وهو من مكونات الكولسترول التي ترتبط مع مستقبلات الكبد و تسيطر على تكوين الكولسترول (Ramchandra et al,2012).

(5-5-1) البروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً

Very low- density lipoprotein (VLDL-C)

يساعد في حمل الكليسيريدات الثلاثية الى الكبد وبقيّة انحاء الجسم (Suryawanshi *et al*,2006).

(6-1) العلاقة بين السكري والبروتينات الشحمية

Relation between diabetes mellitus and lipoprotein

ان ارتفاع مستويات البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة Low-density lipoprotein (LDL) cholesterol والكليسيريدات الثلاثية Triglycerides (TG) والذي يرافقها انخفاض في مستويات البروتينات الشحمية عالية الكثافة High-density lipoprotein (HDL) لدى مرضى السكري يُنبئ عن حدوث امراض القلب الوعائية خاصة المرضى المعالجين بعقاقير الستاتين من ذوي المستويات المنخفضة لـ LDL-C (Georg & Ludvik,2000).

لان HDL-C يعد مضاد التهابي Anti-inflammatory او مضاد لتصلب الشرايين Anti-atherosclerosis particle او يتحول من مضاد التهابي الى مضاد لتصلب الشرايين Apro-inflammatory particle لاسيما في الحالات الالتهابية لمرضى داء السكري.

وتكمن اهميته ليس فقط في رفع كميته فحسب، وانما بدرجة اكثر اهمية بمقدار التأثير الذي يحدثه الـ HDL-C وظيفياً (Ishfaq *et al*,2012).

إنّ HDL-C هو البروتينات الشحمية الاصغر والاكثر كثافة من بين البروتينات الشحمية في البلازما ($d=1.063-1.21$ g/ml)، فالجزء الشحمي من الـ HDL-C يتألف من مركبات

Sphingosine-1-phosphate و ceramides Sphinogolipid المكونة بشكل خاص من (S1P) (Yoshino *et al*,1996) والذي اظهر حديثاً بأنه عامل قوي مضاد للالتهاب. (Ishfaq *et al*,2012)

ويبدو HDL-c في البلازما على صورة جسيمات اوليه Precursor particles وليس على صورة بروتينات شحمية، كما هو الحال في بنية Lipoprotein، وهذه الجسيمات مكونة من طبقتين من Phospholipids و Unesterified cholesterol المتوازنة بوساطة apo of HDL.

ويتوافر HDL-C بصور متعددة تختلف في الحجم Size والكثافة والشحنة فضلاً عن اختلافها في سعة تقبلها للكولسترول الخلوي (Kangralkar *et al*,2010).

ان احدى مميزات داء السكري هو فرط السكرية التي تؤدي دوراً مهماً في اكسدة LDL-C، إذ تتوافر علاقة ارتباط عالية بين فرط السكرية الحاد والمزمن ودرجة اكسدة LDL- C، وان زيادة اكسدة LDL-C في البلازما يُنبأ بالخطر الرئيس لأمراض القلب والاعوية الدموية (Nakhjavani *et al*,2006).

ان الفراغ المتوافر تحت الخلايا الطلائية الوعائية Sub endothelial space للجدار الشرياني يولد العديد من المسارات التي تأخذ LDL-C عن طريق مستقبلات الخلايا الاتهامية Macrophages والخلايا العضلية الملساء وخلايا الطبقة الطلائية الوعائية وبالتالي تكوين خلايا رغوة Foam cell. كما ان اكسدة LDL-C تزيد كثيراً من تحول Monocyte او Macrophages في الجدار الشرياني الى خلايا رغوة مثقلة بالكولسترول والذي يعد مكوناً اساساً لتصلب الشرايين Atherosclerotic، كما يُلاحظ زيادة اكسدة LDL-C في المرضى

الخاضعين لفحص تلوين الاوعية الدموية Angiographically المُسبب لمرض الشرايين التاجية وتصلب الشرايين (Saverio *et al*,2008).

ان فرط سكرية الدم غالباً ما يرافقها انخفاض HDL-C وارتفاع مستويات الكليسيريدات الثلاثية والكوليسترول الكلي في الدم وان الالية المسؤولة عن زيادة الكليسيريدات الثلاثية ربما تعود الى زيادة افراز الكبد لـ VLDL-C وتأخير تنقية TG الغنية بالبروتينات الشحمية، كما انها تعود بشكل رئيس الى زيادة مستويات المواد المنتجة لـ TG والاحماض الدهنية الحرة والكلوكوز وهذا الاخير يخفض من فعالية (Lipoprotein lipase (LPL (Yi-Cheng & Lee- .Ming,2012).

(7-1) الفيتامينات Vitamins

تزيل الفيتامينات A, C, E الغذائية سمية الجذور الحرة بصورة مباشرة، كما انها تشترك في عمليات اعادة تكوين هذه الفيتامينات من الصيغ المختزلة، فالـ α -tocopherl يعاد تكوينه عندما يقوم حامض الاسكوريك Ascorbic acid بمعالجة جذر Dihydroascorbic acid; tocopherol بوساطة الكلوتاثيون Glutathione، وهذه الفيتامينات تزيل السمية بإنتاجها Prooxidants تحت الظروف نفسها. وفيتامين E هو جزء من النظام المضاد للتأكسد يزيل جذر الـ Peroxyl، بتفاعله مباشرة مع الـ Peroxyl وجذور الـ Superoxide والاكسجين الجزيئي ويحمي الاغشية الخلوية من الاكسدة الشحمية. وإن نقص فيتامين E يتزامن مع زيادة الـ Peroxides و Aldehydes في العديد من الانسجة (Firoozrai *et al*,2006).

تُشير العديد من التقارير المتضاربة الى دور فيتامين E في داء السكري في الانسان والحيوان (Onyesom *et al*,2011) ، فمنها ما يشير الى ارتفاعه في بلازما الدم ومنها ما يؤشر انخفاضه، والمهم هو دوره الوقائي في حماية الانسجة ضد الجذور الحرة (Hisalkar *et al*,2012).

(8-1) الهدف من الدراسة

تهدف الدراسة الى مايلي:

A. معرفة العلاقة بين فرط الاكسدة ومؤشرات الدم لدى مرضى السكري من النوع الثاني.

B. تحديد قدرة فرط الاكسدة على احداث الضرر في مرضى السكري من النوع الثاني.

2- الأشخاص وطرائق العمل Materials and methods

(1-2) المواد الكيميائية Chemicals:

جدول (1-2) المواد الكيميائية والشركات المجهزة لها Chemicals and their suppliers

ت	اسم المواد المستخدمة	الشركة المجهزة لها والمنشأ
1	عدة قياس Glucose.	Spinreact الاسبانية
2	عدة قياس Cholesterol.	Spinreact الاسبانية
3	عدة قياس Triglyceride.	Spinreact الاسبانية
4	عدة قياس HDL- Cholesterol.	Biolabo الفرنسية
5	ثلاثي كلوريد حامض الخليك (TCA) .	GCC البريطانية
6	حامض الثايو باريتيورك (TBA) .	Himedia الهندية
7	صودا كاوية.	BDH البريطانية
8	ترانس ريتنول Trans-Retinol.	Sigma Chemical Co. الالمانية
9	خلات الريتيل Retinyl Acetate.	Sigma Chemical Co. الالمانية
10	ميثانول Methanol.	BDH البريطانية
11	إيثانول Ethanol.	BDH البريطانية
12	ن - هكسان N-Hexane.	BDH البريطانية

(2-2) الأجهزة المستخدمة والشركات المصنعة

Instruments & manufactures companies

جدول (2-2) الاجهزة المستخدمة والشركات المصنعة
companies

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	المنشأ
1	جهاز الطرد المركزي Centrifuge.	Kokusan	اليابان
2	حاضنة Incubator.	JRAD	سورية
3	جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer.	CECIL CE-1011	انكلترا
4	حمام مائي Water bath.	KEDEE	الصين
5	مجدة Freezer.	Beco	تركيا
6	جهاز HPLC.	KNAUER	المانيا
7	جهاز تبخير Nitrogen evaporator /116.	N-EVAP	امريكا

(3-2) عينات الدم Blood Samples

(1-3-2) عينات السيطرة Control Samples:

تم جمع 200 عينة دم (100 ذكور + 100 أناث) لأشخاصٍ أصحاء لا يعانون من عوارض أو علامات داء السكري تراوحت اعمارهم بين (40-80) سنة.

(2-3-2) عينات المرضى Patients' Samples:

تم جمع (200) عينة (100 ذكور + 100 أناث) لأفرادٍ مصابين بداء السكري (النوع الثاني).

وكانت جميع العينات في حالة الصوم لمدة 12 ساعة قبل سحب الدم، وتم الحصول على هذه العينات من مستشفى بعقوبة التعليمي للمدة بين تشرين الثاني 2011 ولغاية شهر شباط 2012. إذ قورنت المؤشرات الكيموحيوية للمرضى الذكور بالأصحاء الذكور، والمرضى الاناث بالأصحاء الاناث ثم قورنت المرضى (الذكور + الاناث) بالأصحاء (الذكور + الاناث).

(4-2) عملية فصل عينات الدم:

أُخذَ 10 مل من الدم الوريدي في انبوبة اختبار ، وتُركَ لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة لغرض التخثر ثم طُرِدَت مركزياً بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق، بعدها تم فصل المصل عن بقية العينة.

Biochemical assay methods طرائق القياس (5-2)

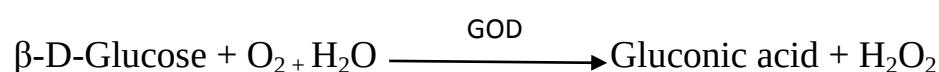
(1-5-2) قياس مستوى الكلوكوز في مصل الدم

Measurement of glucose in blood serum

تم قياس مستوى الكلوكوز في مصل الدم بواسطة استخدام عدة التحليل Kit المجهزة من قبل شركة Spinreact الاسبانية.

• مبدأ العمل Principle

يقوم انزيم أوكسيديز الكلوكوز Glucose oxidase بأكسدة الكلوكوز إلى حامض الكوكونك Gluconic acid وببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 Hydrogen peroxide الذي يتم تحلله للاوكسجين، (فينول-امينوفينوزون Phenol of aminophenazone) بواسطة انزيم البيروكسيداز Peroxidase:



وشدة اللون تتناسب مع تركيز الكلوكوز في العينة (Kaplan,1984; Trinder,1969).

• الكواشف Reagents

تحتوي عدة القياس على الكواشف الآتية:

R1 Buffer	Tris pH 7.4 Phenol	92 mmol/L 0.3 mmol/L
R2 Enzymes	Glucose oxidase (GOD) Peroxidase (POD) 4-Aminophenazone (4-AP)	15000 U/L 1000 U/L 2.6 mmol/L
GLUCOSE CAL	Glucose aqueous primary standard	100 mg/dL

تحضير محلول العمل (Working Reagent) : اذابة محتويات احد قارورات الانزيم

R2 في زجاجة واحدة من R1 (المحلول المنظم). ويغلق ويرج جيدا الى ان تذوب المحتويات

تماما. وتستمر ثبوتية المحلول لمدة شهر واحد بعد تحضيره وحفظه بدرجة حرارة (2-8 م°).

• طريقة العمل Procedures

تم قياس الكلوكوز كما موضح في الجدول ادناه :

	Blank المحلول الكفاء	Standard المحلول القياسي	Sample العينة
WR (ml)	1.0	1.0	1.0
Standard (μL)	---	10	---
Sample (μL)	---	---	10

تم قياس الكلوكوز بالعينة بالخطوات الآتية:

1. أُضيفَ 10 مايكروليتر من المحلول القياسي الى 1000 مايكروليتر من محلول العمل

وتم خلطه جيدا.

2. أُضِيفَ 10 مايكروليتر من مصل الدم الى 1000 مايكروليتر من محلول العمل وتم خلطه جيداً.

3. وضعت الانابيب في الحاضنة لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 37 °م

4. قراءة الامتصاصية A للنموذج sample والمحلول القياسي

standard مقابل المحلول الكفاء Blank عند طول موجي 505 نانوميتر.

علماً بأن اللون يبقى مستقراً لمدة 30 دقيقة على الأقل.

• الحسابات Calculation

تم حساب تركيز الكلوكوز FBS حسب المعادلة الآتية:

$$\text{Conc. of Glucose} = \frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Standard}} \times 100 (\text{Standard Conc.}) = \text{mg/dl}$$

glucose in the sample

Conversion factor: $\text{mg/dl} \times 0.0555 = \text{mmol/L}$

(2-5-2) قياس مستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم

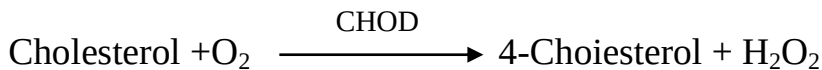
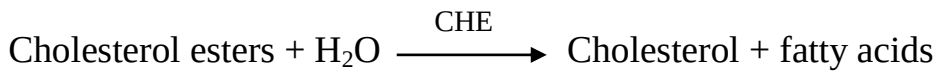
Measurement of total cholesterol in blood serum

تم قياس مستوى الكولسترول الكلي في مصل الدم عن طريق استعمال عدة التحليل Kit

المجهزة من قبل شركة Spinreact الاسبانية.

• مبدأ العمل Principle

يُكون الكولسترول المتوافر في العينة معقداً لونياً طبقاً للمعادلات الآتية:





وشدة اللون تتناسب مع تركيز الكوليسترول في العينة (Meiattini *et al*,1978; Naito *et al*,1984).

• الكواشف Reagents

تحتوي عدة القياس على الكواشف الآتية:

R1 Buffer	Phenol PIPES pH 6.9	90 mmol/L 26 mmol/L
R2 Enzymes	Cholesterol esterase (CHE) Cholesterol oxidase (CHOD) Peroxidase (POD) 4- Aminophenazone (4-AP)	300 U/L 300 U/L 1250 U/L) 0.4 mmol/L
Cholesterol CAL	Cholestrol aqueous primary standard	200 mg/dL

تحضير محلول العمل (Working Reagent) : أُضِفَتْ محتويات احد قارورات الانزيم R2 الى المحلول المنظم R1 . أُغْلِقَ الخليط وَرُجَّ جيداً الى ان ذابت المحتويات تماماً. وتستمر ثبوتية المحلول لمدة 4 اشهر بعد تحضيره في درجة حرارة (2-8 م°).

• طريقة العمل Procedures

تم قياس مستوى الكوليسترول الكلي في مصل الدم كما في الجدول:

	Blank المحلول الكفاء	Standard المحلول القياسي	Sample العينة
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard (μL)	---	10	---
Sample (μL)	---	---	10

1. تم اضافة 10 مايكروليتر من المحلول القياسي الى 1000 مايكروليتر من محلول

التفاعل وتم خلطه جيداً.

2. تم اضافة 10 مايكروليتر من مصل الدم الى 1000 مايكروليتر من محلول التفاعل

وتم خلطه جيداً.

3. وضعت الانابيب في الحاضنة لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 37 °م.

4. تم قراءة الامتصاصية لمحلول النموذج A Sample والمحلول القياسي A Standard

عند الطول الموجي 505 نانوميتر مقابل المحلول الكفاء Blank .

• الحسابات Calculation

$$\text{Conc. of Cholestrol} = \frac{\text{(A) Sample}}{\text{(B) Standard}} \times 200 \text{ (Standard Conc.)} = \text{mg/dl}$$

cholestrol in the sample

Conversion factor: $\text{mg/dl} \times 0.0258 = \text{mmol/L}$

(3-5-2) قياس مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم

Measurement of triglycerides in blood serum

تم قياس مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit المجهزة

من قبل شركة Spinreact الاسبانية.

• مبدأ العمل Principle

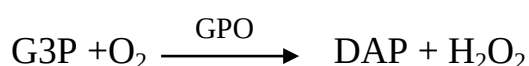
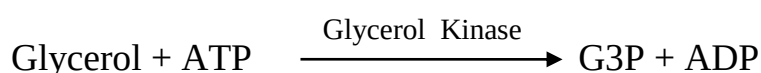
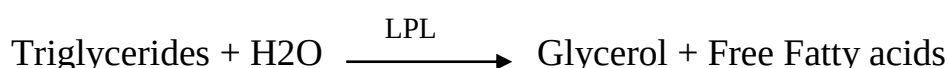
تتحلل الكليسيريدات الثلاثية بفعل انزيم الـ Lipase الى الكليسيرول Glycerol

والاحماض الدهنية الحرة Free fatty acids. ويتحول الكليسيرول Glycerol الى كليسرول

3- فوسفات Glycerol-3-phosphate وادينوسين -5- داي فوسفات -5- Adenosine

diphosphate بوساطة انزيم كليسرول كاينيز Glycerol Kinase و ATP. ويتحول G3P

بواسطة Dihydroxyactone Glycerol phosphate dehydrogenase الى
 phosphate Hydrogen peroxide H_2O_2 . في نهاية التفاعل يتفاعل بيروكسيد
 الهيدروجين H_2O_2 مع 4-Aminophenazone 4-A و P- Chlorophenol في توافر
 POD لإعطاء صبغة حمراء اللون ، كما في التفاعلات الآتية:



وشدة اللون تتناسب مع تركيز الكليسيريدات في العينة Buccolo *et al*,1973; Fossati *et*

al,1982; Kaplan *et al*,1984).

• الكواشف Reagents

تحتوي عدة القياس على الكواشف الآتية :

R1 Buffer	GOOD pH 7.5 P- Chlorophenol	50 mmol/L 2 mmol/L
R2 Enzymes	Lipoprotein lipase (LPL) Glycerol kinase (GK) Glycerol-3-oxidase (GPD) Peroxidase (POD) 4- Aminophenazone (4-AP) ATP	150000 U/L 500 U/L 2500 U/L 440 U/L 0.1mmol/L 0.1 mmol/L
TRIGLYCERIDES CAL	Triglycerides aqueous primary standard	200 mg/dL

تحضير محلول العمل (Working Reagent) : تم اذابة محتويات احد قارورات الانزيم R2 (مسحوق) في زجاجة واحدة من (الكاشف) R1. أُغْلِقَ وَرُجَّ جيداً الى ان ذابت المحتويات تماماً. وتستمر ثبوتية المحلول لمدة 6 اسابيع بعد تحضيره في درجة حرارة (2-8 م°).

• طريقة العمل Procedures

يتم قياس الكليسيريدات الثلاثية كما في الجدول :

	Blank محلول الكشف	Standard المحلول القياسي	Sample العينة
WR (mL)	1.0	1.0	1.0
Standard (μL)	---	10	---
Sample (μL)	---	---	10

1. تم اضافة 10 مايكروليتر من المحلول القياسي الى 1000 مايكروليتر من محلول التفاعل وتم خلطه جيداً.

2. تم اضافة 10 مايكروليتر من مصل الدم الى 1000 مايكروليتر من محلول التفاعل وتم خلطه جيداً.

3. وضعت الانابيب في الحاضنة لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 37 م°.

4. تم قراءة الامتصاصية لمحلول النموذج A Sample والمحلول القياسي A Standard عند

الطول الموجي 505 نانوميتر مقابل المحلول الكفاء Blank.

• الحسابات Calculation

$$\text{Conc. Of Triglycerides} = \frac{(\text{A}) \text{ Sample}}{(\text{A}) \text{ Standard}} \times 200 (\text{Standard Conc.}) = \text{mg/dl}$$

triglycerides in the sample

Conversion factor: $\text{mg/dl} \times 0.0113 = \text{mmol/L}$

(2-5-4) قياس مستوى البروتينات عالية الكثافة في مصل الدم

Measurement of high density lipoproteins (HDL-c) in blood serum

تم قياس مستوى HDL-c في مصل الدم بواسطة استخدام عدة التحليل Kit المجهزة

من قبل شركة BIOLABO الفرنسية.

• مبدأ العمل Principle

تترسب البروتينات المنخفضة الكثافة LDL-c والبروتينات المنخفضة الكثافة جداً

VLDL-c و Chylomicrons المتوافرة في العينة بواسطة Phosphotungstic acid بعد

عملية الطرد المركزي، ثم يقاس مع كاشف الكوليسترول الكلي Total Cholestrol (Tietz,1999).

• الكواشف Reagents

Reagents	Contents	Concentration of solution
R1	Phosphotungstic acid Magnesium	13.9 mmol/L 570 mmol/L
R2	Standard	100 mmol/L

• طريقة العمل Procedures

تحضير العينات والمقارنة والسيطرة:

Pipette in Centrifuge tube	Micro-Method
Sample	500 mmol/L
Precipitant	50 mmol/L

1. تم اضافة 500 مايكروليتر من المحلول الكاشف الى 50 مايكروليتر من مصل الدم
2. تم مزجها جيداً وتركت مستقرة لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة.
3. تم نيزها بجهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة في (3500-4000) دورة في الدقيقة.
4. فصل الراشح واستعمل مع الكاشف المستخدم لقياس الكوليسترول.

• الفحص Assay

ترك المحلول والراسب مستقرا في درجة حرارة الغرفة. وتم القياس مع محلول السيطرة

الموجود في عدة القياس .

	Blank محلول الكشف	Standard المحلول القياسي	Sample العينة
Cholestrol Reagent (ml)	1	1	1
D.W (ml)	25	---	---
Standard	---	25	---
Supernatant	---	---	25

مُزج وتُرك لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 37 م°.

تم قياس HDL في العينة بالخطوات الآتية :

1. تم إضافة 1000 مايكروليتر من محلول كاشف الكولسترول الى 25 مايكروليتر من المحلول القياسي و مصل الدم.
 2. مزج جيداً وترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.
 3. تم قياس الامتصاصية بطول موجي 500 نانوميتر مقابل المحلول الكفاء.
- علماً أن اللون يبقى مستقراً لمدة ساعة واحدة.

● الحسابات Calculation

$$\text{Conc. Of HDL mmol/L} = \frac{A \text{ Sample}}{A \text{ Standard}} \times \text{Conc. Of standard (2.58)} \times 1.1$$

(5-5-2) حساب البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة جداً في مصل الدم

Calculation of very low density lipoproteins (VLDL) in Blood Serum

تم استعمال طريقة (Wilson, 1998) لاستخراج قيمة VLDL بحسب المعادلة التالية:

$$\text{VLDL- Cholesterol (mmol/L)} = \text{T.G/2.2}$$

(6-5-2) حساب البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة في مصل الدم

Calculation of low density lipoproteins (LDL) in Blood Serum

تم استعمال طريقة (Wilson, 1998) لاستخراج قيمة بحسب المعادلة الآتية:

$$\text{LDL- Cholesterol (mg/dl)} = \text{Total cholesterol} - (\text{VLDL-HDL})$$

(7-5-2) قياس مستوى المالون داي الديهايد في مصل الدم

Measurement of Malondialdehyde (MDA) in Blood Serum

استخدمت طريقة تفاعل حامض Thiobarbituric (TBA) ووفقاً لهذه الطريقة، فقد تم قياس تركيز المالون داي الديهايد (MDA) الذي يمثل احد النواتج الرئيسية لعملية اكسدة الدهون ويعد مستواه مؤشراً لهذه العملية، إذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالون داي الديهايد (MDA) مع Thiobarbituric (TBA). (Muslih, et al.,2002).

• **المحاليل المستخدمة:**

1. محلول Thiobarbituric

حُضِرَ بإذابة 0.6 غرام من مادة الـ TBA في 100 ميللتر من هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز 0.05 مولاري باستخدام القليل من التسخين، ويحضر هذا المحلول عند الاستخدام.

2. محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro Acetic Acid

حُضِرَ هذا المحلول بتركيزين، التركيز الاول 17.5%، يُحضر بإذابة 17.5 غرام من مادة TCA في الماء المقطر وبحجم 100 ميللتر، والتركيز الثاني 70% المُحضر بإذابة 70 غرام من المادة نفسها في الماء المقطر وبحجم 100 ميللتر.

• **طريقة العمل Procedures**

1. أُخِذَ 150 مايكروليتر من مصل الدم واضيف اليه 11 ميللتر من محلول TCA بتركيز 17.5%، واضيف اليه 1 ميللتر من محلول TBA الى المزيج، ورُجَّ جيداً وسخن في حمام مائي بدرجة 70 م° لمدة 15 دقيقة.

2. بُرِدَت العينات واذيف اليها 1 ميللتر من محلول TCA بتركيز 70% وتُركَ المزيج

بدرجة 37 م° لمدة 20 دقيقة.

3. فُصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /الدقيقة ولمدة 5

دقائق.

4. تم قراءة الامتصاصية عند الطول الموجي 532 نانوميتر.

• الحسابات Calculation

$$\text{Conc. of MDA} = \frac{A_{\text{Sample}}}{E_o \times L} \times \text{Mitigating factor}$$

إذ أن:

L = Light path (1 cm)

E_o = Extinction coefficient (1.56 × 10⁵) mol⁻¹ / cm⁻¹

Mitigating factor = 6.7 (0.15/1 ml/ vol. Used in Ref)

(8-5-2) قياس تركيز فيتامين A و E في مصل الدم

تم استخدام جميع المواد من سيجما Sigma الألمانية، وكانت عالية النقاوة بينما

الميثانول Methanol والايثانول المطلق Absolute Ethanol و ن-هكسان N-hexane تم

الحصول عليها من شركة BDH.

• جهاز HPLC

جهاز الـ HPLC المستخدم كان من نوع Knauer مع خط ذكي لجهاز الاشعة فوق

البنفسجية UV الكاشف 2500 ومضخة 1000 والمنظم 5000 والعمود (C18) 150x 4.6

5 μ m bead size [mm (i.d.); 5 μ m bead size] وقد تم تنفيذ الفصل الكروماتوغرافي بوساطة الغسل بضغط منخفض مع خليط من الماء والميثانول (Methanol) (95:5 by volume) في معدل تدفق 2.5 مل/ دقيقة عند طول موجي 287 نانومتر.

Table 1. Chromatographic conditions	
Column	5 μ m 150 x 4.6mmID
Mobile phase	methanol/ water (95/5 by vol)
Flow rate	2.5 ml/min
Detector	287 nm
Temperature	ambient

• تحضير العينة

وضع 200 مايكروليتر من مصل الدم في انابيب Khan مع 200 مايكروليتر من الايثانول الذي يحتوي على الكمية نفسها من المحلول القياسي الداخلي Internal standard وخلط و دور جيدا لمدة 5 دقائق في خلاط .
تم استخلاص العينات مع 1000 مايكروليتر من ن-هكسان لمدة 5 دقائق في دوامة الخلط.

وبعد الطرد المركزي تم نقل 500 مايكروليتر من المحلول العالق في الانابيب الدقيقة من نوع micro centrifuge.

وقد جُفِّت العينات تحت تيار من النيتروجين باستخدام المبخر النيتروجين قبل أن يتم اعادة تشكيلها في 500 مايكروليتر من محلول الميثانول، ثم وضعت العينات في حجرة الحقن الاوتوماتيكية. وكان حجم النموذج المحقون 20 مايكروليتر.

تم حساب تركيزات مصل Tochopherol و β -carotene و Retanol في مصل دم مرضى السكري والاصحاء من خلال المنحنى المعياري باستخدام المحلول القياسي الداخلي .Internal standard



Figure (2-2) Nitrogen- evaporator



Figure (2-1). HPLC (knouer)

(6-2) التحليل الإحصائي Statistical analysis

جُمِعَت البيانات الخاصة بعينات الدراسة وتحليلها إحصائياً باستعمال نظام (SPSS) (14 للنظام الـ Windows (SPSS, Chicago, I llinois and U.S.A) إذ تم استعمال تحليل التباين ما بين المجاميع (ANOVA) analysis of variance، لمعرفة أقل الفروق المعنوية (L.S.D) Least significant differences .

لقد رُبطت بعض المتغيرات مع بعضها على شكل معامل ارتباط خطي Linear correlation coefficient وتم قياس قوة الارتباط من خلال معامل بيرسون العزومي للارتباط Person's moment correlation كما جرى التأكد من توافر الارتباط الخطي بين كل متغيرين تم ربطهما، إذ إن توافر الارتباط بين أي متغيرين لا يعني إن احدهما كان سبباً في توافر المتغير الآخر، لذلك تم اختبار دلالة معامل الارتباط Significance of correlation coefficient بمستوى دلالة $P < 0.05$ (ابو صالح وعوض، 1983).

3. النتائج Results

يُظهر الجدول رقم (3-1) توافر ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) في قيم متوسطات MDA بين مجموعة المرضى الذكور ومجموعة الاصحاء الذكور، فقد بلغت 5.142 ± 0.828 و 15.808 ± 4.433 ملي مول/لتر على التوالي رافقها ارتفاع معنوي في قيم متوسطات كلوكوز الدم 1.752 ± 0.557 و 3.091 ± 1.566 ملي مول/لتر على التوالي، مما يدل على توافر فرط سكرية الدم بسبب ارتفاع مستويات MDA في مصل الدم والتي تعد دليلاً واضحاً على تأثير الجذور الحرة الاوكسجينية على الاحماض الدهنية غير المشبعة للأغشية، ويظهر هذا التأثير بشكل اكثر وضوحاً عند ملاحظة انخفاض مستويات فيتامينات 0.988 ± 0.488 A و 1.394 ± 0.406 Vs ملي مول/لتر و 22.785 ± 7.400 E و 14.223 ± 7.322 ملي مول/لتر على التوالي ($P < 0.001$) والذين يعدان من مضادات التأكسد في مصل الدم مقارنة بمجموعة الاصحاء ، مما يعطٍ دليلاً على حدوث فرط الاكسدة.

ويُظهر الجدول ارتفاعاً معنوياً عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) في قيم متوسطات الكولسترول الكلي TC عند الذكور 4.427 ± 1.684 و 3.484 ± 0.76 ملي مول/لتر والبروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL-c 2.526 ± 1.583 و 1.435 ± 0.737 ملي مول/لتر لمجموعتي المرضى والاصحاء على التوالي، مع توافر انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) في البروتين الشحمي عالي الكثافة HDL-c بين مجموعة المرضى والاصحاء الذكور إذ بلغت 1.226 ± 0.354 Vs 0.991 ± 0.380 مل مول/لتر على التوالي، ولم تتأثر معنوياً قيم متوسطات الكليسيريدات الثلاثية TG والبروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً VLDL في الذكور بفرط الاكسدة على الرغم من توافر ارتفاع في مستوياتها في مصل الدم.

وعند حساب النسبة بين HDL-c : TC والتي تعد ذات اهمية كبيرة ودليل على حدوث مرض تصلب الشرايين Atherosclerosis كانت = 4.467 اي ضمن معدل الخطورة Average Rate الذي يتراوح بين 3.4 – 5.0 في الذكور. اما نسبة HDL-c : LDL-c فكانت 2.549 من بين معدل خطورة يتراوح بين 1.0 – 3.6 وهذه النسبة هي ايضا دليل خطورة على امراض القلب (NIH Publication,2001; Report of the national cholesterol treatment program,1988; Vance D. & Vance J.,1996)

جدول رقم (3-1) متوسطات الكلوكوز، MDA، النسق الدهني و فيتاميني A و E في مصل دم مرضى السكري النوع الثاني الذكور مقارنة بالأصحاء

Parameters	Non diabetic subjects Male Mean $\pm$ SD	Diabetic patients Male Mean $\pm$ SD
Numbers	100	100
Age (Year)	55.180 $\pm$ 9.431	59.710 $\pm$ 10.942**
FBS(mmol/L)	5.142 $\pm$ 0.828	15.808 $\pm$ 4.433***
MDA (mmol/L)	1.752 $\pm$ 0.557	3.091 $\pm$ 1.566***
TC(mmol/L)	3.484 $\pm$ 0.764	4.427 $\pm$ 1.684***
TG(mmol/L)	1.810 $\pm$ 0.604	2.000 $\pm$ 1.152
HDL (mmol/L)	1.226 $\pm$ 0.354	0.991 $\pm$ 0.380***
LDL(mmol/L)	1.435 $\pm$ 0.737	2.526 $\pm$ 1.583***
VLDL (mmol/L)	0.882 $\pm$ 0.274	0.909 $\pm$ 0.524
V.A(mmol/L)	1.394 $\pm$ 0.406	0.988 $\pm$ 0.488***
V.E(mmol/L)	22.785 $\pm$ 7.400	14.223 $\pm$ 7.322***

P** < 0.01 P*** < 0.001

يُشير الجدول رقم (3-2) الى توافر فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$)

في متوسط تركيز كلوكوز الدم عند مرضى السكر النوع الثاني الاناث مقارنة بمجموعة الاصحاء

إذ بلغت 13.222 $\pm$ 4.712 و 5.204 $\pm$ 0.857 مليي مول/لتر على التوالي، بينما بلغ متوسط

اختبار MDA لمجموعة مرضى السكري النوع الثاني ومجموعة الاصحاء

3.060 $\pm$ 1.276 و 1.248 $\pm$ 0.468 ملي مول/لتر على التوالي، مما يدل على توافر فرط

الأكسدة التي أثرت بدورها على انخفاض تركيز فيتامين E عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) في حين لم يتأثر معنوياً فيتامين A على الرغم من توافر انخفاض في التركيز.

كما يُلاحظ ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) في قيم متوسطات الكولسترول الكلي $TC 4.359 \pm 0.885$ و 3.742 ± 0.693 ملي مول/لتر ، والكليسيريدات الثلاثية $TG 2.868 \pm 1.430$ و 1.548 ± 0.589 مل مول/لتر، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً $VLDL-c 1.303 \pm 0.649$ و 0.703 ± 0.267 ملي ملول / لتر على التوالي في الإناث ، في حين ارتفعت قيمة متوسط تركيز البروتين الشحمي منخفض الكثافة $LDL-c$ بمستوى احتمالية ($P < 0.05$).

ويُلاحظ من الجدول انخفاض مستوى تركيز البروتين الشحمي عالي الكثافة $HDL-c$ عند مرضى السكري من الإناث مقارنة بمجموعة الأصحاء الإناث 1.294 ± 0.421 Vs 0.999 ± 0.551 ملي مول/لتر عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) على التوالي.

اما نسبة خطورة $HDL-c : TC$ فكانت تساوي 4.363 من معدل يتراوح بين 3.3 - 4.4 ومعدل خطورة $HDL-c : LDL-c = 2.158$ من معدل يتراوح بين 1.5 - 3.2 (NIH Publication,2001; Report of the national cholesterol treatment program,1988; Vance D. & Vance J.,1996).

جدول رقم (2-3) متوسطات الكلوكوز ،MDA، والنسق الدهني و فيتاميني A و E في مصل

دم مرضى السكري النوع الثاني الاناث مقارنة بالاصحاء

Parameters	Non diabetic subject Female Mean $\pm$ SD	Diabetic patients Female Mean $\pm$ SD
Numbers	100	100
Age(Year)	51.160 $\pm$ 8.867	56.100 $\pm$ 10.645
FBS (mmol/L)	5.204 $\pm$ 0.857	13.222 $\pm$ 4.712***
MDA (mmol/L)	1.248 $\pm$ 0.468	3.060 $\pm$ 1.276***
TC (mmol/L)	3.742 $\pm$ 0.693	4.359 $\pm$ 0.885***
TG (mmol/L)	1.548 $\pm$ 0.589	2.868 $\pm$ 1.430***
HDL (mmol/L)	1.294 $\pm$ 0.421	0.999 $\pm$ 0.551***
LDL (mmol/L)	1.744 $\pm$ 0.751	2.156 $\pm$ 1.215*
VLDL (mmol/L)	0.703 $\pm$ 0.267	1.303 $\pm$ 0.649***
V.A (mmol/L)	1.011 $\pm$ 0.366	0.959 $\pm$ 0.366
V.E (mmol/L)	19.038 $\pm$ 6.633	16.407 $\pm$ 8.424*

P* < 0.05

P*** < 0.001

يوضح جدول رقم (3-3) بعد دمج قيم متوسطات المرضى (الذكور والاناث) والاصحاء

(الذكور والاناث) ان هنالك تأثيراً واضحاً لفرط الاكسدة على جميع المعايير الدموية لمرضى

السكري من النوع الثاني باستثناء متوسط تركيز فيتامين A الذي لم يتأثر معنوياً بالرغم من

انخفاض مستواه عند المرضى مقارنة بمجموعة الاصحاء. فقد ارتفعت قيم متوسطات

الكولسترول الكلي TC 4.393 ± 1.342 و 3.613 ± 0.739 ملي مول/لتر، والكليسيريدات الثلاثية TG 1.679 ± 0.609 Vs 1.366 ± 0.609 ملي مول/لتر، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً VLDL-c 1.106 ± 0.621 و 0.763 ± 0.276 ملي مول/لتر، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة LDL-c 1.589 ± 0.758 و 2.291 ± 1.427 مل مول/لتر على التوالي عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) ، في حين انخفض تركيز متوسط البروتين الشحمي عالي الكثافة HDL-c عند مرضى السكري مقارنة بمجموعة الاصحاء إذ بلغ 0.995 ± 0.472 و 1.260 ± 0.390 ملي مول/لتر عند مستوى احتمالية ($P < 0.001$) على التوالي.

جدول رقم (3-3) متوسطات الكلوكوز، MDA، النسق الدهني و فيتاميني A و E في مصل دم مرضى السكري الذكور والاناث مقارنة بالأصحاء

Parameters	Non diabetic subject Male +Female Mean $\pm$ SD	Diabetic patients Male +Female Mean $\pm$ SD
Numbers	200	200
Age (Year)	53.160 $\pm$ 9.350	57.905 $\pm$ 10.981
FBS (mmol/L)	5.173 $\pm$ 0.841	14.515 $\pm$ 4.743***
MDA (mmol/L)	1.500 $\pm$ 0.572	3.075 $\pm$ 1.425***
TC (mmol/L)	3.613 $\pm$ 0.739	4.393 $\pm$ 1.342***
TG (mmol/L)	1.679 $\pm$ 0.609	2.434 $\pm$ 1.366***
HDL (mmol/L)	1.260 $\pm$ 0.390	0.995 $\pm$ 0.472***
LDL (mmol/L)	1.589 $\pm$ 0.758	2.291 $\pm$ 1.427***
VLDL (mmol/L)	0.763 $\pm$ 0.276	1.106 $\pm$ 0.621***
V.A (mmol/L)	1.202 $\pm$ 0.431	1.052 $\pm$ 1.237
V.E (mmol/L)	20.911 $\pm$ 7.256	15.315 $\pm$ 7.948***

P* < 0.05 P** < 0.01 P*** < 0.001

يوضح الجدول رقم (4-3) مقارنةً بين المرضى الذكور والمرضى الاناث فعلى الرغم

من انخفاض تركيز كلوكوز الدم FBS في الاناث 13.222 $\pm$ 4.712 و 15.808 $\pm$ 4.712 ملي

مول/لتر عند مستوى احتمالية (P < 0.001)، الا انه يلاحظ ارتفاع مستويات الكليسيريدات

الثلاثية TG عند مستوى احتمالية (P < 0.001)، والبروتين الشحمي منخفض الكثافة جداً عند

مستوى احتمالية (P < 0.01) والبروتين الشحمي منخفض الكثافة عند مستوى احتمالية P <

(0.01) ومستوى تركيز فيتامين E عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) عند الإناث مقارنة بالذكور فقد بلغت قيم متوسطاتها 2.868 ± 1.430 و 2.000 ± 1.152 ملي مول/ لتر، 1.303 ± 0.649 Vs 0.909 ± 0.524 ملي مول/لتر، و 2.056 ± 1.215 و 2.526 ± 1.583 ملي مول/لتر، 16.407 ± 8.424 و 14.223 ± 7.322 ملي مول/لتر على التوالي. في حين لا توجد فروقات معنوية في قيم المتوسطات الأخرى بين المرضى الإناث والذكور .

جدول رقم (3-4) متوسطات الكلوكوز، MDA، النسق الدهني و فيتاميني A و E في مصل دم

مرضى السكري الذكور مقارنة بالإناث

Parameters	Diabetic patients Male Mean $\pm$ SD	Diabetic patients Female Mean $\pm$ SD
Numbers	100	100
Age (Year)	59.710 ± 10.942	$56.100 \pm 10.645^*$
FBS (mmol/L)	15.808 ± 4.433	$13.222 \pm 4.712^{***}$
MDA (mmol/L)	3.091 ± 1.566	3.060 ± 1.276
TC (mmol/L)	4.427 ± 1.684	4.359 ± 0.885
TG (mmol/L)	2.000 ± 1.152	$2.868 \pm 1.430^{***}$
HDL (mmol/L)	0.991 ± 0.380	0.999 ± 0.551
LDL (mmol/L)	2.526 ± 1.583	$2.156 \pm 1.215^{**}$
VLDL (mmol/L)	0.909 ± 0.524	$1.303 \pm 0.649^{**}$
V.A (mmol/L)	0.988 ± 0.488	0.959 ± 0.366
V.E (mmol/L)	14.223 ± 7.322	$16.407 \pm 8.424^*$

$P^* < 0.05$ $P^{**} < 0.01$ $P^{***} < 0.001$

2-3 العلاقات الترابطية Correlation relation

تم ربط نتائج مستوى الـ MDA مع نتائج مستويات FBS و TC و TG و HDL-c و LDL-c و VLDL-c وفيتامينات A و E ضمن مجموعة الدراسة على شكل مُعاملات ارتباط Correlation coefficients كالآتي:

يُظهر الجدول (5-3) توافر علاقة ترابطية طردية بين مستوى الـ MDA و FBS لدى مجموعة الدراسة وبدرجة معنوية ($P < 0.01$) شكل (10-3)، بينما لم يُظهر الجدول توافر علاقة ترابطية بين مستوى MDA و TC شكل (11-3).

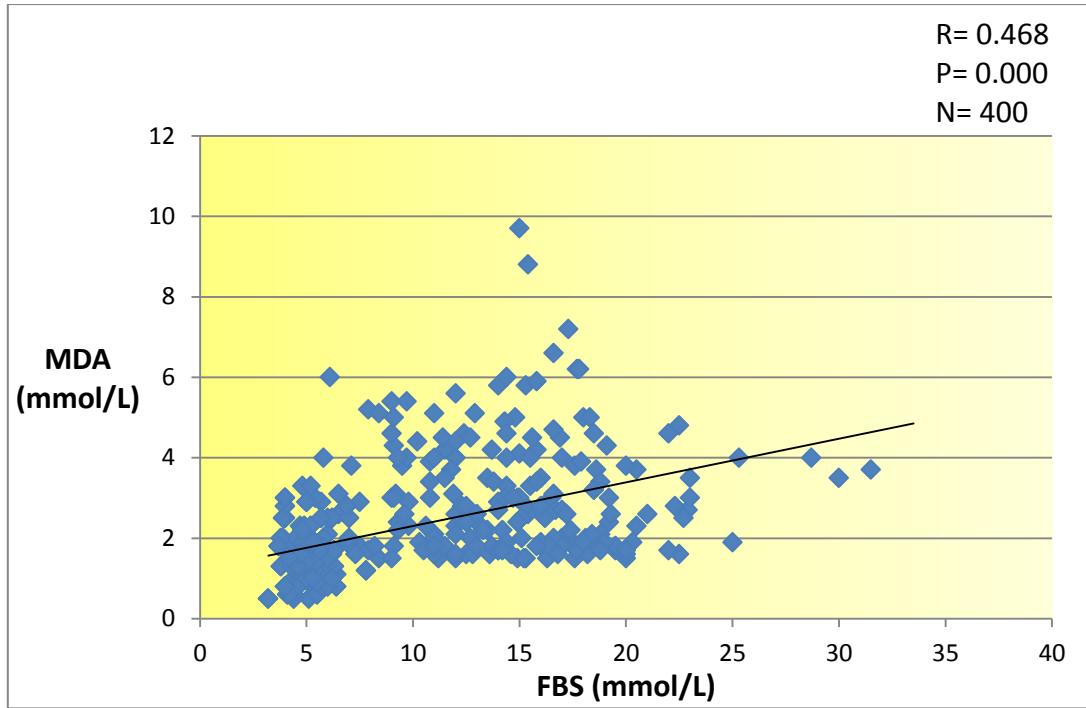
كما ويُظهر الجدول توافر علاقة ترابطية طردية بين مستوى MDA و TG وبدرجة معنوية ($P < 0.05$) شكل (12-3)، وكذلك توافرت علاقة ترابط عكسية بين مستوى MDA و HDL بدرجة معنوية ($P < 0.01$) شكل (13-3).

واظهر الجدول توافر علاقة ترابطية طردية بين مستوى MDA و VLDL بدرجة معنوية ($P < 0.05$) شكل (14-3)، ولم يظهر الجدول علاقة بين مستوى MDA و LDL شكل (3-15). كذلك بين الجدول توافر علاقة عكسية بين مستوى MDA و فيتامين A عند مستوى معنوية ($P < 0.01$) شكل (16-3)، واخيرا ظهرت علاقة عكسية بين مستوى MDA وفيتامين E بدرجة معنوية ($P < 0.01$) شكل (17-3).

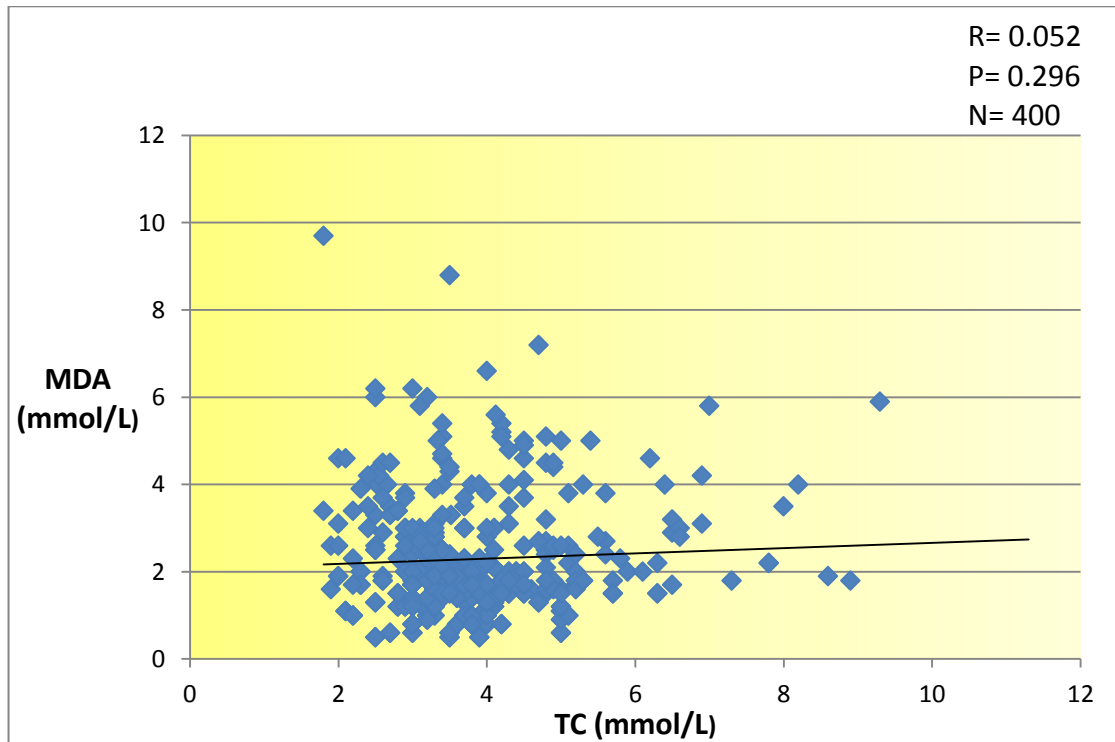
جدول (5-3) يوضح العلاقة الترابطية بين مستوى MDA و TC ،TG ،HDL ،

LDL ،VLDL و فيتاميني A و E.

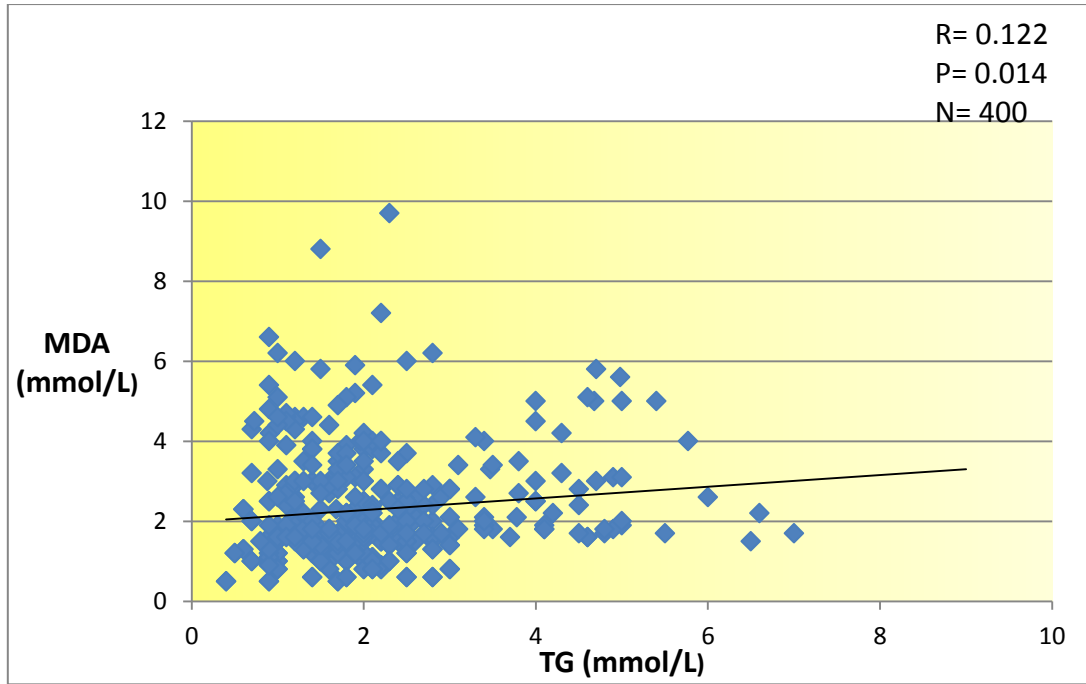
	Serum OF MDA
FBS Person	0.468**
Significant	0.000
Number	400
TC Person	0.052
Significant	0.296
Number	400
TG Person	0.122*
Significant	0.014
Number	400
HDL Person	-0.220**
Significant	0.000
Number	400
VLDL Person	0.123*
Significant	0.014
Number	400
LDL Person	0.084
Significant	0.092
Number	400
V.A Person	-0.147**
Significant	0.003
Number	400
V.E Person	-0.139**
Significant	0.005
Number	400



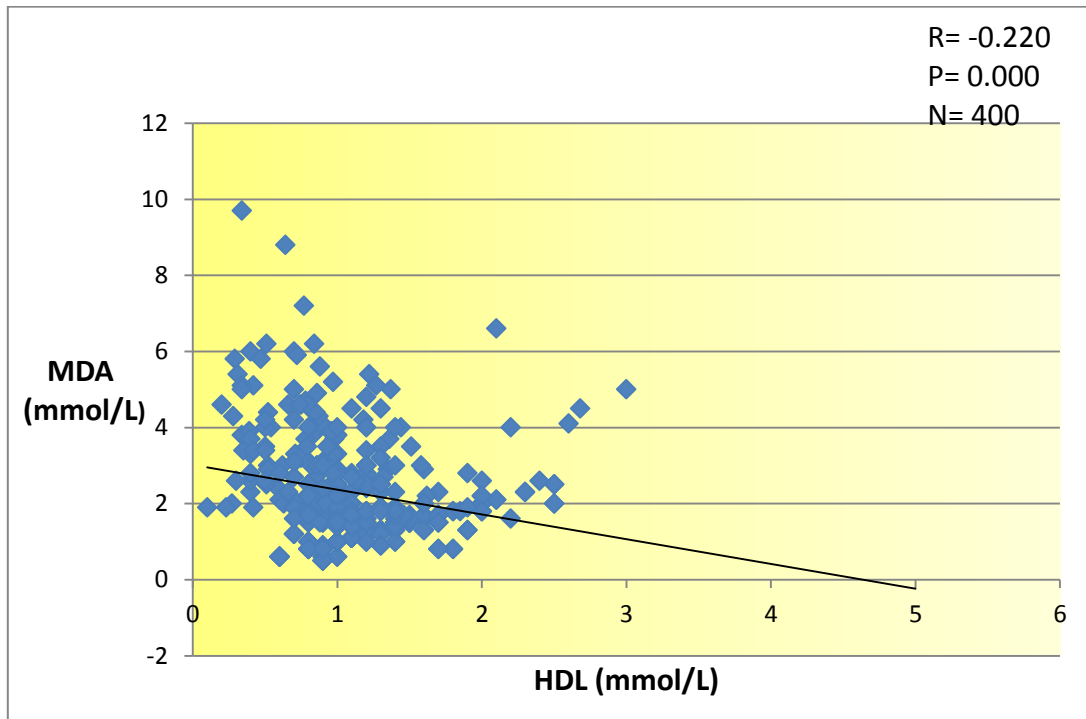
شكل رقم (3-10) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و FBS في مصل الدم



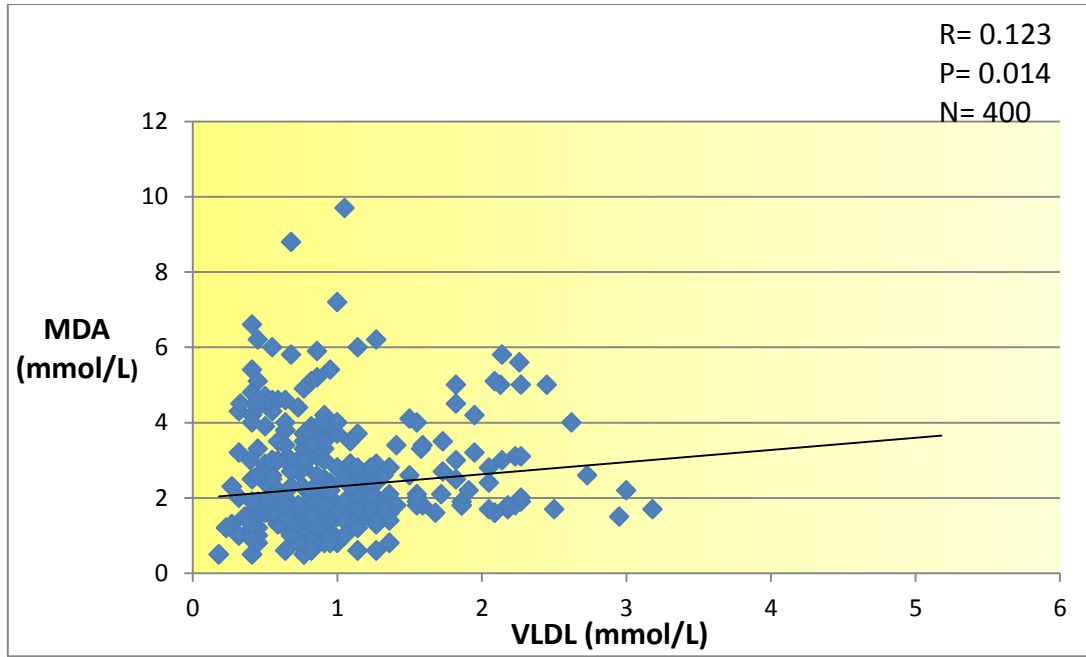
شكل رقم (3-11) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و TC في مصل الدم



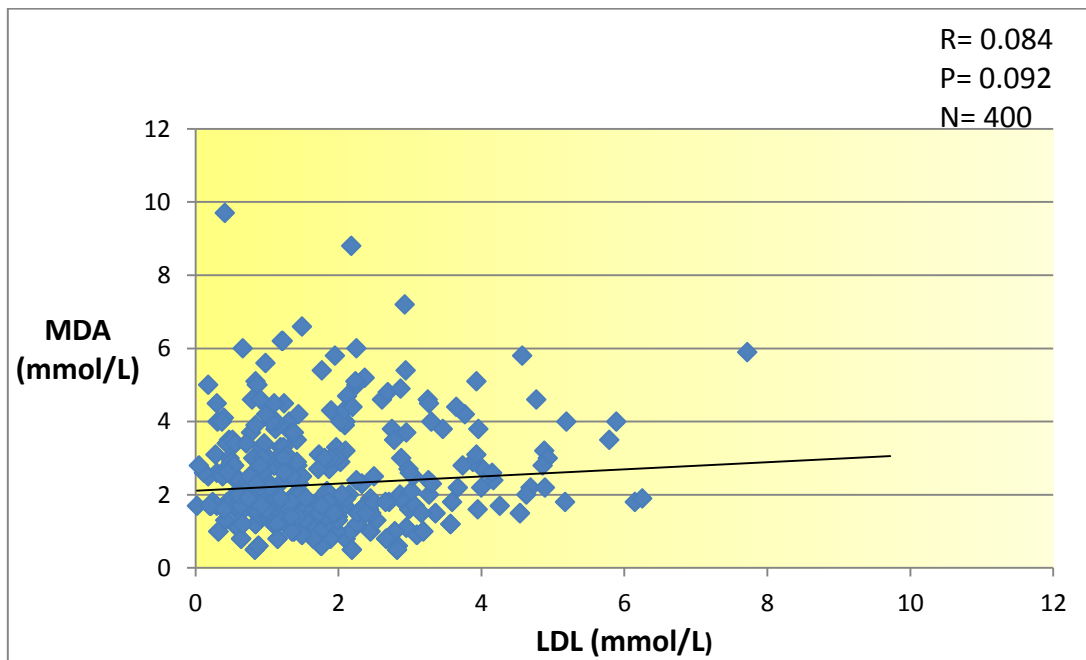
شكل رقم (12-3) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و TG في مصل الدم



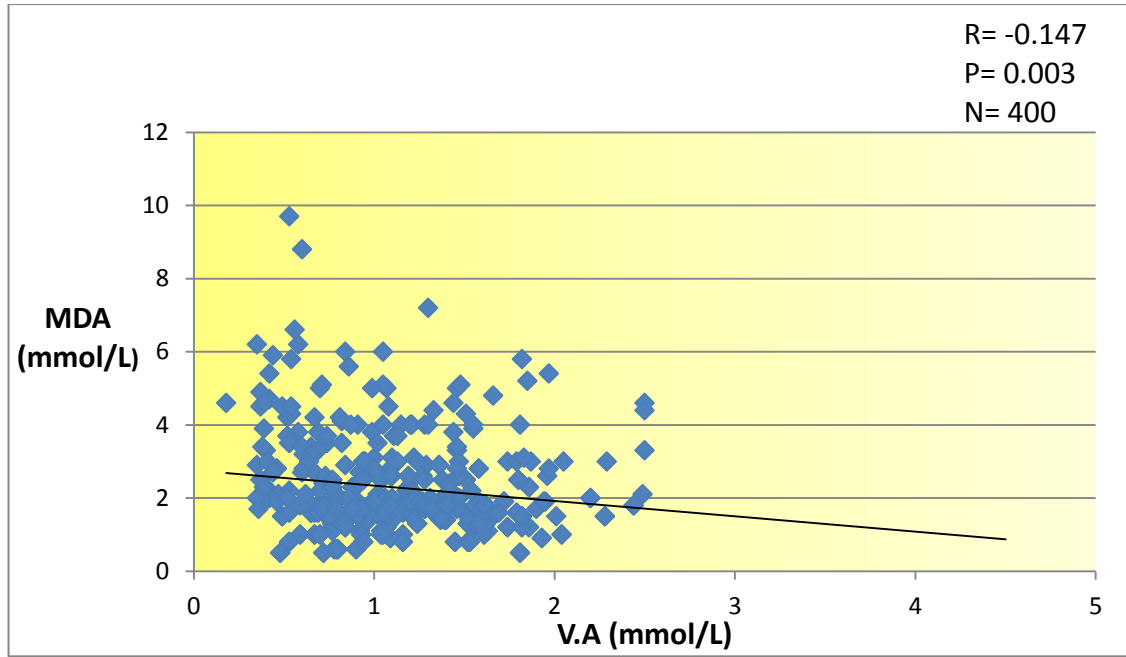
شكل رقم (13-3) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و HDL في مصل الدم



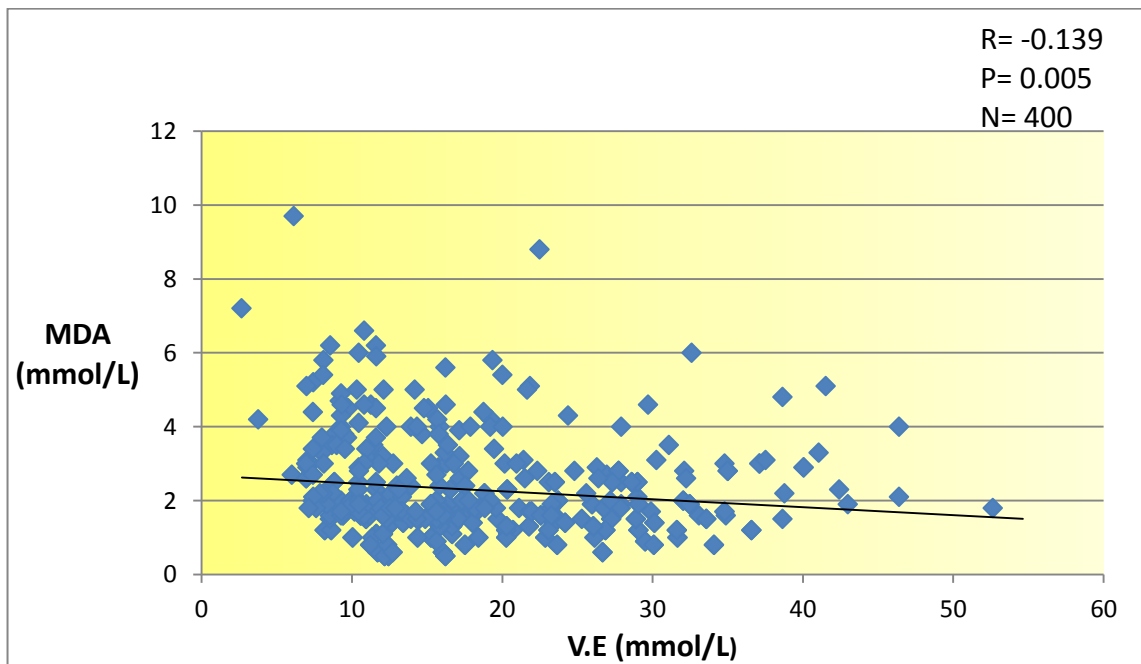
شكل رقم (3-14) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و VLDL في مصل الدم



شكل رقم (3-15) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و LDL في مصل الدم



شكل رقم (3-16) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و V.A في مصل الدم



شكل رقم (3-17) يوضح العلاقة الترابطية بين MDA و V.E في مصل الدم

4. المناقشة Discussion

(1-4) العلاقة بين فرط الاكسدة وداء السكري

يَنُتْج عن اكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة Polyunsaturated Fatty Acids في الدم تكون Malondialdehyde (MDA)، لذا فان اي ارتفاع في MDA في مصل الدم يُعدّ سبباً كافياً لحدوث فرط الاكسدة بسبب توسط الجذور الحرة في تكوين البيروكسيدات من المكونات الشحمية للغشاء الخلوي (Jenkin,1988)، وان آلية الضرر التأكسدي الحاصل للأحماض الدهنية غير المشبعة بوساطة عمليات الجذور الحرة تلقى قبولاً واسعاً على مستوى الخلية والجرح النسيجي، وهو دليل جيد لتقييم فرط الاكسدة المتسبب في نشوء الامراض مثل داء السكري.

اوضحت الدراسة الحالية بأن MDA ارتفعت بدرجة معنوية في مصل دم جميع مرضى السكري مقارنة بالأصحاء مما يشير الى حدوث فرط تأكسدي ناتج من زيادة تكون الجذور الحرة، ولا توجد فروقات معنوية في مستويات MDA بين مجاميع المرضى الذكور والاناث مما يُشير الى ان تأثير الجذور الحرة على النظام الدفاعي المضاد للتأكسد ليس له علاقة بالجنس.

يُعدّ فرط الاكسدة نقطة الارتكاز في تطور داء السكري وحدث المضاعفات سواء على مستوى الاوعية الدموية الدقيقة او على القلب الوعائي، وتُشير الدراسات الى ان الايض غير الطبيعي لدى مرضى السكري هو المسبب لفرط انتاج المايوتوكندريا من الـ Superoxide.

ان زيادة انتاج Superoxide يُعدّ الوسيط الرئيس للضرر النسيجي، لمساهمة في تنشيط المسارات الخمسة المتسببة في نشوء الامراض ومضاعفاتها، كما يُساهم في تثبيط فعالية

انزيمين من مضادات التصلب العصيدي هما Endothelial nitric oxide synthase و Prostacyclin synthase (eNOS) (Ferdinand & Michael,2010).

وجاءت هذه النتائج مُتطابقةً مع كثير من الدراسات فقد اشار (Thavatchai et al,2006) وجماعته بأن مستويات MDA البلازما قد ارتفعت معنوياً في جميع انواع مرضى السكري تبعاً للعمر ومقارنة بالأصحاء ولم يحصل على فروقات معنوية في مستويات MDA بين المرضى وأشاروا الى ان السبب ربما يعود الى تجهيز الكبد لأنزيم Aldehyde dehydrogenase المفرز من مايتوكندريا الخلايا الكبدية والذي له دور مهم في ازالة بيروكسيدات الشحوم في البلازما، عن طريق تحطيم الالديهيد السام وحماية الانسجة من تراكماته.

واوضح (Ramchandra et al,2012) وجماعته في دراستهم على مرضى الفشل الكلوي المزمن والسكري النوع الثاني ان ارتفاع MDA المصل يعود الى فرط الاكسدة المتسبب بوساطة مهاجمة الجذور الحرة للمكونات الشحمية للغشاء الخلوي، و لهذا فان MDA هي دليل جيد لتقييم فرط الاكسدة ودورها في نشوء الامراض.

و قد اشار (Kumawat et al,2012) وجماعته الى ان ارتفاع مستويات MDA تتزامن مع ارتفاع مستويات كلوكوز الدم وانخفاض الدفاع المضاد للتأكسد المعتمد على الكلوتاثيون عند مرضى السكري النوع الثاني .

اما (Varashree & Gopalakrishna,2011) فقد اشارا الى ان ارتفاع مستويات MDA يؤدي الى ارتفاع مستويات انتاج الجذور الحرة الفعالة او انخفاض في مضادات الاكسدة. كما اشارا الى ان هذا الارتفاع في مستوى MDA ربما يعود الى زيادة Glycation

of protein عند مرضى السكري، وقد تعمل Glycation protein نفسها بوصفها مصدراً للجذور الحرة. وهناك علاقة ترابطية قوية بين بيروكسيدات الشحوم وتراكيز الكلوكوز والتي يعتقد بأنها تؤدي دوراً في زيادة بيروكسيدات الشحوم عند مرضى السكري.

(2-4) العلاقة بين فرط الاكسدة والفيتامينات المضادة للتأكسد

Relationship between oxidative stress & antioxidant vitamins

أشارت نتائج الدراسة الحالية الى انخفاض مستويات فيتامين E لدى جميع مرضى السكري النوع الثاني مقارنة بمجاميع الاصحاء وربما يعود الى توافر مضاعفات السكري المتمثلة بأمراض CHD. او ربما يعود الى قلة تناول الاغذية الغنية بمضادات الاكسدة (خاصة الفواكه والخضراوات) او ضعف الحالة الصحية او الى ضعف النشاط الجسمي (Thavatchai et al, 2006).

اما مستويات فيتامين A فقد اظهرت انخفاضاً معنوياً لدى مرضى السكري الذكور مقارنة بالاصحاء ولم تظهر توافر اختلافات معنوية لدى النساء في مستويات هذا الفيتامين ، كما لم يظهر توافر اختلافات معنوية بين مجاميع المرضى ومجاميع الاصحاء (الذكور + الاناث)، ويمكن القول بان هذا الفيتامين لم ينخفض في هؤلاء المرضى إذ جاءت هذه النتائج مطابقة مع (Thavatchai et al, 2006) عندما اشاروا الى ان مستويات فيتامينات A و β -carotene لم تنخفض في بلازما الدم لمجاميع مرضى السكري (Olmedilla et al 2001).

اشارت العديد من الدراسات الى الدور المهم الذي تلعبه الفيتامينات في الدفاع المضاد للتأكسد مثل فيتامينات A, E, C, β -carotene ضد الجذور الاوكسجينية الفعالة ROS

المتسببة في نشوء الامراض في الانسان مثل السرطان Cancer، والالتهابات Inflammation او التهاب المفاصل Arthritis، اما عند مرضى السكري فان تأثير هذه الفيتامينات في النظام المضاد للتأكسد فما زال قيد الدراسة في الوقت الحاضر (Kretzchman *et al*,1991).

فيتامين E هو الفيتامين الرئيس المضاد للتأكسد الذائب في الدهون والمتوافر في الاغذية الخلوية والبروتينات الشحمية. ان الترابط القوي لمضادات الاكسدة ينتج عنها الفعل الحسن والكفاءة العالية في ازالة الجذور الفعالة اما انخفاض مستويات هذه المضادات فقد يعود الى زيادة استهلاكها خلال عمليات القتال بينها وبين الجذور الاوكسجينية.

لقد اشار (Laight *et al*,2000) وجماعته الى ان عمل فيتاميني E و C هو التقليل من فرط الاكسدة ويمنع التصاق خلايا الدم البيضاء كما يعزز من وظائف الخلايا الطلائية الوعائية (يخفض من التصلب العصيدي) فضلاً عن كونه يحسن من فعل الانسولين.

اما (Kuroki *et al*,2003) وجماعته فقد أوضحوا بأن فيتامينات E و C تتعادل مع العديد من مُحدثات فرط الاكسدة كما انها تؤخر من تطور مضاعفات السكري .

و (Ahmad *et al*,2003) وجماعته فقد أشاروا الى ان انخفاض مستويات فيتامين E و C في مرضى داء السكري ربما يرفع من درجة فرط الاكسدة و يسرع من تطور مضاعفات داء السكري.

واوضح (Peponis *et al*,2002) وجماعته ان تناول فيتامينات E و C فموياً يمنح القدرة على خفض فرط الاكسدة في العيون وتحسن وظيفة الخلايا الطلائية الوعائية عند مرضى السكري النوع الاول دون مرضى السكري النوع الثاني (Beckman *et al*,2003)، ومن

المحتمل ان لفيتامينات E و C دوراً مهماً في تخفيض الضرر التأكسدي الناتج عن اوكسيد النتريك والجذور الحرة الاخرى.

ان اعطاء الاضافات الغذائية من فيتامين E بجانب الادوية الخافضة للسكري له تأثير ايجابي في تأخير المضاعفات الوعائية لدى مرضى السكري النوع الثاني (Sarita & Vithal, 2011).

واشار (Horwitt et al, 1972) وجماعته الى ان المحتوى الكلي للشحوم له تأثير على مستوى فيتامين E في البلازما، نظراً لان هذا الفيتامين متوافر في جسيمات LDL-C. وتشير الدراسات الى ان نسبة فيتامين E:الكوليسترول يُعدّ مقياساً أكثر قبولاً من قياس فيتامين E لوحده، إذ ان استخدام هذه النسبة تُقوّم الحالات الناتجة عن زيادة مستويات الشحوم في البلازما. لذا يجب الاخذ بنظر الاعتبار نسبة فيتامين E:الكوليسترول.

كما اشارت نتائج الدراسات الى ان مستوى فيتامين E في البلازما قد انخفض معنوياً عند مرضى القلب والأوعية الدموية مقارنة بالأصحاء، ويعزى هذا الانخفاض في فيتامين E بتأثيره على حساسية خلايا الدم الحمراء بسبب الضرر التأكسدي. وان استنزاف فيتامين E له تأثير على Hematopoietic system تتمثل بالتغيرات الحاصلة في كتلة الخلايا الحمراء وحجمها وهذا يترافق مع زيادة البيروكسيدات في الغشاء الخلوي (Rama et al, 2009).

ان انخفاض مستويات فيتامين E وارتفاع مستويات MDA في البلازما لدى مرضى السكري النوع الثاني ربما يفسر بوصفه السبب المحدث لمضاعفات CHD.

وقد اشارت الدراسات الى ان هنالك علاقة ارتباط عكسية بين مستوى السكر في البلازما FPG وفيتامين E لدى مرضى السكري النوع الثاني ذي مضاعفات CHD، إذ تشير هذه النتائج الى تطابقها مع الدراسات السابقة بان فرط السكرية المزمن Chronic hyperglycemia يحدث فرط الاكسدة عند مرضى السكري (Sarah et al,2001).

(3-4) فرط الاكسدة والنسق الدهني Oxidative stress and lipid profile

لقد أظهرت الدراسة الحالية ارتفاع مستويات النسق الدهني LDL-c، VLDL-c، مع انخفاض مستوى HDL-c، إذ تزامن هذا الارتفاع والانخفاض مع زيادة الاكسدة الشحمية MDA وفرط السكرية مما يشير الى توافر علاقة واضحة بين فرط الاكسدة وداء السكري، ويضع احتمالية نشوء وتطور المضاعفات المشار اليها اعلاه لدى هؤلاء المرضى.

يرافق السكري النوع الثاني انخفاض مستويات البروتينات الشحمية عالية الكثافة HDL-c والتي تعد عامل خطورة غير مباشر على حدوث امراض القلب والاعوية الدموية. ان انخفاض تراكيز HDL-c يعكس القصور التنظيمي الايضي لـ HDL-c والذي يحدد بوساطة الفعل الجماعي لبروتينات مختلفة تشمل Cholesterol ester transfer protein، نسبة Lecithin cholesterol acyltransferase، Endothelial and lipoprotein lipase، Phospholipid transfer protein and hepatic lipase بجانب مستقبلات مختلفة تشمل مستقبل Class B type I and ATP-binding cassette transporter A1 and G1.

وفضلاً عن القصور التنظيمي الايضي فان لـ HDL-c علاقة بالقصور الوظيفي

Dysfunctional للنقل العكسي للكولسترول HDL-mediated reverse cholesterol transport، كما ان HDL-c : transport يعد مضاداً تأكسدياً ويحمي الخلايا البطانية الوعائية،

لذا فان انخفاضه يعد معلماً بارزاً في حدوث فرط الاكسدة في النوع الثاني من داء السكري (Hansel *et al*,2004).

ان انخفاض مستويات HDL-c غالباً ما يرافقه ارتفاع مستويات الكليسيريدات الثلاثية البلازمية Triglycerides وهي سلسلة من التغيرات التي يتوسطها Cholesterol ester transfer protein (CETP) (Tall,1995) المقاوم للأنسولين او هي التغيرات الحاصلة في النسق الدهني لمرضى NIDDM مؤدية الى ارتفاع تراكيز الكولسترول والكليسيريدات الثلاثية و خفض تركيز HDL-c (Garvey,2003) .

ان الآلية المسؤولة عن زيادة الكليسيريدات الثلاثية ربما تعود الى زيادة افراز الكبد للـ VLDL-c الذي يؤدي الى تأخير تنقية البروتينات الشحمية الغنية بالكولسترول بالإضافة الى زيادة توافر الكلوكرز والاحماض الدهنية الحرة، كما ان الكلوكرز يخفض من فعالية انزيم Lipoprotein lipase (LPL) المسؤول عن تحلل الشحوم الثلاثية Lipoprotein- triglycerides (Kestelein *et al*,1999) والذي يقوم بفصل الكليسيريدات الثلاثية و VLDL-c و Chylomicron ، كما يقوم بإزالة هذه البروتينات الشحمية من الدوران بالسيطرة على البروتينات الشحمية الغنية بـ TG و HDL منتجاً ما يسمى Chylomicron remnants.

ويمكن ان يعزى السبب الى ان غياب الأنسولين ادى الى تنشيط انزيم lipase في الخلايا الدهنية مسبباً زيادة في تحلل الكليسيريدات المخزونة وتحرير كميات كبيرة من الأحماض الدهنية والكليسيرول الى الدم وعندما انتقلت الى الكبد إذ اعيد تصنيعها وان زيادة الحوامض الدهنية في الكبد ادت الى تحويل قسم منها الى دهون مفسفرة وكليسيرول وقد انتقلت مع الكليسيريدات الثلاثية المتكونة في الكبد الى الدم وبذلك تنتج عنها زيادة في مستوى الدهون في

الدم كذلك نقص الانسولين ادى الى تثبيط فعالية Lipoprotein Lipase (LPL) مما يسبب في التقليل من عملية ازالة الكليسيريدات الثلاثية في الكايلومايكرون و VLDL-C مسبباً ارتفاع في مستوى الكليسيريدات الثلاثية (محي الدين وجماعته, 1990 ; الدوري, 1998 ; Bishop, 2000).

إن LPL هو انزيم متعدد الوظائف ينتج من العديد من الانسجة مثل الانسجة الدهنية Adipose tissue والخلايا البلعمية Macrophages وجزر البنكرياس Pancreatic islets والعضلات الهيكلية والقلبية ، ونشاط هذا الانزيم يترافق عكسياً مع زيادة الكليسيريدات الثلاثية البلازمية المقاومة للانسولين (Garvey, 2003).

تشير نتائج الدراسة الحالية وكما موضح في الجداول (1، 2، 3) الى ان قيم متوسطات HDL-c في مرضى السكري النوع الثاني ولكل من الذكور والاناث قد انخفضت بشكل كبير ($P < 0.001$) مقارنة بمجاميع الاصحاء، إذ ترافق هذا الانخفاض مع فرط سكرية الدم وارتفاع قيم MDA وزيادة ترسيب الشحوم في بلازما الدم لدى مرضى السكري النوع الثاني.

ان انخفاض HDL-c يعد علامة بارزة في نشوء مضاعفات السكري النوع الثاني وتطورها بوصفه مضاداً تأكسدياً ضد الجذور الاوكسجينية الفعالة، ومضاداً التهابياً ووقائياً للطبقة الطلائية الوعائية المؤدية الى احداث التصلب العصيدي.

ان زيادة البيروكسيدات الشحمية Lipid peroxide ربما يكون سببه زيادة Glycation of protein لدى مرضى السكري، اذ ان زيادة Glycated protein يعمل مصدراً للجذور الحرة، وهناك علاقة واضحة بين البيروكسيدات الشحمية وتركيز الكلوكوز وهو معلم سريري بارز على حدوث التصلب العصيدي Atherosclerosis.

خلاصة القول توافر البيركسيدات الشحمية مع الدليل السريري للتصلُّب العصيدي يعطي دليلاً على فرط ايض الكلوكونز (Al-Dghri et al,2011).

وربما يُعزى سبب هذا الانخفاض الى قلة تحلل جزيئات VLDL-c والتي تعمل على استنفاد HDL عن طريق اعاقه نقل كل من Apo proteins والدهون المفسفرة من اللايبوبروتينات الغنية بالكليسيريدات الثلاثية الى HDL-c، كذلك يعتقد ان غياب الأنسولين يؤدي الى زيادة في نشاط إنزيم اللايباز الكبدي Hepatic lipase وهذا الاخير يعمل على تسهيل عملية ازالة HDL (Howard,1999 ; السامرائي,2001).

اما LDL-c فَيُعد عاملَ خطورةٍ رئيساً في امراض القلب والاوعية الدموية (Baigent,2005) إذ أنَّ اكسدة LDL-c الجارية في البلازما او في الفراغات تحت الخلايا الطلائية الوعائية لجدران الشرايين تنشأ سلسلة احداث تؤدي الى تعزيز دخول LDL-c بواسطة المستقبلات على Macrophages، والخلايا العضلية الملساء او الخلايا الطلائية الوعائية وبالتالي تكوين خلايا رغوة Foam cell (Grundy,1995).

ان الاكسدة تحور من LDL-c بدرجة كبيرة مؤدية الى زيادة تحول Monocytes او Macrophages في جدران الشرايين الى خلايا رغوة مثقلة بالكوليسترول، والتي تعد المكونات سبباً اساسياً في حدوث جلطة التصلُّب العصيدي (Boullier et Atherosclerosis plaque,2001). ان زيادة حساسية LDL-c للأكسدة يمكن ملاحظتها في المرضى الخاضعين لفحص تلوين الاوعية الدموية Angiographically المُسبَّب لمرض الشرايين التاجية وفي مرضى التصلُّب العصيدي. ان فرط الاكسدة والنواتج المتولدة من الانواع الاوكسجينية الفعالة تتضاعف وتصبح وسائط لحدوث الجروح في حالات احتشاء العضلة القلبية (Beckman et

(al,2003)، كما ان اكسدة LDL-c تتسبب بدرجة عالية بإحداث ضرر التصلُّب العصيدي في الانسان والحيوان، والنواتج العرضية المتولدة خلال هذه العملية لها صفات سلبية عديدة مثل احداثها ضرراً بجدران الاوعية الدموية وتثبط توسعتها بالاستجابة لأوكسيد النتريك (Harberland et al,1988) لدى مرضى داء السكري تحت فرط تأكسدي عالٍ، وتؤدي فرط السكرية دوراً مهماً في اكسدة LDL-c لدى مرضى السكري النوع الثاني نتيجة تعرضهم لفرط تأكسدي عالي (Motta et al,2008). إنَّ المستويات الحادة والمزمنة لفرط السكرية لها علاقة ارتباط قوية مع مستوى اكسدة LDL-c. فضلاً عن الصلة القريبة بين فرط الاكسدة والسيطرة الايضية عند مرضى السكري (Pari & Latha,2002).

الاستنتاجات Conclusion

نستنتج من الدراسة الحالية:

1. في الحالات الطبيعية تتوافر علاقة اتزان بين الجذور الاوكسجينية الحرة وبين انظمة

الدفاع المضاد للتأكسد الخلوي المحطم والمزيل لهذه الجذور، وان تراكم الجذور

الاوكسجينية والناجمة عن عدم الاتزان يُعتقد بانها السبب الرئيس في نشوء العديد من

الامراض.

2. ان للمحتوى الشحمي تأثيراً على مستوى فيتامين E، إذ يتوافر هذا الفيتامين بشكل

رئيس في جسيمات LDL-c.

3. ان انخفاض مستويات HDL-C تُنبئُ بحدوث مضاعفات السكري المتمثلة بأمراض

القلب والاوعية الدموية.

التوصيات Recommendations

1. تدعيم غذاء مرضى السكري بالأغذية الغنية بالفيتامينات المضادة للتأكسد.
2. دراسة مستويات فرط الاكسدة قبل تناول المريض الاغذية الغنية بمضادات الاكسدة وبعدها.
3. اجراء دراسة حول تأثير فرط الاكسدة لدى مرضى القلب والتصلب العصيدي.

ملحق

رقم (1)

رقم الاستمارة

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

استمارة معلومات المتبرع

ملاحظة/ يرجى وضع علامة X للاختيار المناسب.

الاسم:

انثى

ذكر

الجنس:

سنة

العمر:

تاريخ الاصابة بمرض السكري:

حبوب

حقن

نوع الدواء لمعالجة السكري:

عدد مرات تناول الدواء باليوم:

كلا

هل انت مصاب بأمراض مزمنة اخرى:

نعم / الامراض هي

المصادر العربية

القرآن الكريم

ابو صالح: محمد صبحي و عوض: عدنان محمد. مقدمة في الاحصاء. 1983، دار جون وايلي وابنائهم للنشر، ص 165، 192-194، 200، 198.

الدوري، لمى حسين: التغيرات البايوكيميائية للمرضى المصابين بالسكر وضغط الدم. 1998، رسالة ماجستير. كلية التربية (ابن الهيثم). جامعة بغداد.

السامرائي، زينه لفنة حسن. دراسة مستويات الدهون وبعض الانزيمات في المصابين بالأمراض القلبية في محافظة صلاح الدين. 2001، رسالة ماجستير. كلية التربية، جامعة تكريت.

محيي الدين، خير الدين، ويوسف وليد حميد ، وتوحله سعد حسين. فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات في الطيور. 1990، دار الحكمة للطباعة والنشر، الموصل.

المصادر الاجنبية

A

Ahmad M., Khan M.A. and Khan A.S. Naturally occurring antioxidant vitamin levels patients with type 2 diabetes mellitus. J. Ayub Med Abbottabad 2003; 15: 54-7.

Akcha F, Vincent-Hubert, F. and Pfohl-leszkowicz, A. Potential value of the comet assay and DNA adduct measurement during insitu exposure to genotoxic compounds. Mutat. Res. 2003; 534 (1-2): 21-32.

Al-Dghri M. Nasser, Al-Attas S. Omar, Alokil S. Majed , Alkhafy M. Khalid, Yousef Mansour, Sabico L. Shaun and Chrousos P. George. Diabetes mellitus type 2 and other chronic non – communicable disease in the central region, Saudia Arabia (Riyadh cohort 2): a decade of an epidemic. BMC Medicine 2011;9:76-81.

American Diabetes Association, Diabetes care 2012; vol. 35, supplement January.

B

Bablor B.M., Lambeth J.D. and Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. Arch Biochem Biophys 2002; 397: 341-344.

Baigent C., Keech A. and Kearney P.M. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: Participants in 14 randomized

trials of statins. Cholesterol treatment trialists collaborators. Lancet 2005; 366: 1267-68.

Barwnlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. Diabetes. 2005; 54: 1615-1625.

Beckman J.A., Goldfine A.B. and Girdon M.B., Garrett L.A. Oral antioxidant therapy improves endothelial function in type 1 and type 2 diabetes mellitus. Am J. Heart Cire Physiol 2003; 285: H2392-98.

Bishop M., Duben – Engel Kirk J. and fody E. Clinical chemistry 4th ed ., Lippincot Williams and Wilkins, Philadelphia, USA., PP . 2000; 220 – 221

Boullier A. and Bird D.A., Chang M.K. Scavenger receptor, oxidized LDL, and atherosclerosis. Ann NY Acad Sci 2001; 947: 214-22.

Buccolo G. et al. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 (5): 476-482.

C

Current Diabetes Scenario in india. Br J Diabetes Vasc Dis

D

Droge W. Free radical in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002 ;82: 47-95.

E

Ferdinand Giacco and Michael Brownlee. Oxidative stress & diabetic complications. *Circ Res* 2010; 107:1058-1070.

Feroozrai M., Nourmohammadi I. and Khanaki K. Assessment of antioxidant vitamins retinol and α -tocopherol in plasma and ascorbic acid plasma and mononuclear leukocytes in type 2 diabetics. *Int J Endocrinol Metab* 2006; 4:202-205.

Festenstein, H. (1973). The Histo Compatibility Testing for Organ Transplantation. In "Advances in Clinical Pathology". Dyke, S. C., Allott, E. H., Dunnill, M. S. and Williams, R. E. O. (Eds.). Churchill Livingstone. P.247.

Fortuno A., Oilvan S., Belogul O. and San jose G. Association of increased phagocytic NADPH oxidase dependent superoxide production with diminished nitric oxide generation in essential hypertension. *J. Hypertens* 2004; 22: 2169-2175.

Fossati P et al. *Clin. Chem* 1982; 28(10): 2077-2080.

Francesca Mascia, Mitchell Denning, Raphael Kopan and Stuart H Yuspa. The black box Illuminated: Signals and Singnaling. *J of Investigative Dermatology*. 2012.

G

Garvey W.T., Kwon S. and Zheng D. Effects of insulin resistance and type 2 diabetes on lipoprotein subclass particle size and concentration determined by nuclear magnetic resonance. *Diabetes* 2003; 52: 453-62.

Georg P. and Ludvik B. Lipid and diabetes. J Clin Basic Cardiol 2000; 3: 159-162.

Geraldes P. and King G.L. Activation of protein kinase C isoform and its impact on diabetic complications. Circ Res 2010; 106: 1319-1331.

Geralds P., Hiraoka-Yamamoto J., Matsumoto M. and Clermont A. Activation of PKC- delta and SHP-1 by hyperglycemia causes vascular cell apoptosis and diabetic retinopathy. Nat Med. 2009; 15:1298-1306.

Goldin A., Beckman J.A. and Schmidt M.A. Advanced glycation end products: Sparking the development of diabetic vascular injury. Circulation 2006; 114: 597-605.

Grundey S.M. Atherogenic dyslipidemia: lipoprotein abnormalities and implications for therapy. Am J. Cardiol 1995; 75: 45B-52B.

H

Halliwell B. and Gutteridge John M.E. The antioxidant of human extra cellular fluids. Archives of Biochemistry and Biophysics 1990; 230 July 1-8.

Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: Cause, or consequence? The Lancet 1994; 344 Sep.

Halliwell B. and Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? Br J pharmacol 2004; 142: 231-255.

Hansel B., Giral P., Nobecourt E. and Chantepie S. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high density lipoprotein in particles displaying impaired antioxidative activity. J. Clin Endocrinal Metabolism 2004; 89: 4963-4971.

Harberland M.E., Fong D. and Cheng L. Malondialdehyde altered protein occurs in atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. Science 1988; 241: 215-8.

Hisalkar PJ., Patne AB. and Fawade MM. Assessment of plasma antioxidant level in type 2 diabetes patients. Int J Biol Med Res 2012; 3(2): 1796-188.

Horwitt H.K., Harvey C.C., Dahm C.H. and Searcy M.t. Relationship between tocopherol and serum lipid levels for determination of nutritional adequacy. Ann NY Acad Sci 1972; 203-233.

Howard, B.V. Insulin resistance and liped metabolism. Am. J. cardiology 1999; 84(1A): 28-32.

Hunt J.V., Jmith C.C. and Wolff SP. Autoxidative glycosylation & possible involvement of peroxides & free radicals in LDL modification by glucose. Diabetes 1990; 39: 1420-4.

I

Inoguchi T., Battan R., Handier E. and Sportsman J.R. Preferential elevation of protein kinase C isoform beta 11 and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential

reversibility to glycemia control by islet cell transplantation. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89:11059-11063.

Ishfaq A., Tabassum Ara. and M Ashraf G. and Syed M. Lipid profile in type II diabetes mellitus patients of Kashmir region. 2008; 12 (6&7): 13-14.

J

Jenkin R.R. Free radical chemistry relationship to exercise. Sport Med 1988; 5: 156-70.

K

Kaiser N., Sasson S., Feener E.P. and Boukobza-Vardi. Differential regulation of glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. Diabetes, 1993; 42: 80-89.

Kangralkar V.A., Shivraj D. Patil and Bandivadekar R.M. Oxidative stress and diabetes. 2010;1 :38-45.

Kaplan A et al. Triglycerides. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 437 and Lipids 1194-1206.

Kaplan L.A. Glucose. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1036.

Kestelein J.J., Ordovas J.M., Wittekoek M.F. and Pimston S. Two common mutations in lipoprotein lipase: accumulative analysis of their influence on plasma lipid and lipoprotein in men and women. Clinical Genetics 1999; 56: 297-305.

Kolm- Litty V., Sauer U., Nerlich A. and Lehumann R. High glucose induced transforming growth factor beta 1 production is mediated by hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. J Clin Invest. 1998; 101:160-169.

Kovacic P., Pozos R.S., Somanthan R. and Shangari N. Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron, free radicals, and structure activity relationships. Curr Med Chem 2005; 12: 2601-2623.

Kretzchman M., Muller D., Hubscher J. and Marin E. Influence of aging, traning and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. Int J. Sport Med 1991; 12: 215-22.

Kumawat M., Singh I. and Singh N. et al. Lipid peroxidation and lipid profile in type II diabetes mellitus. Downloaded from <http://www.webmedcentral.com> on 08- Mar-2012.

Kuroki T., Isshiki K. and King G.L. Oxidative stress: The lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetic complications. J. Am Soc Nephrol 2003; 14: S 216-20.

L

Laight D.W., Carrier M.S. and Anggard E.E. Antioxidant, diabetes and endothelial dysfunction. Cardiovasc Res 2000; 47: 457-64.

Lamarche B, Despres JP, Moorjani S, et al. Triglycerides & HDL cholesterol as a risk factors for ischemic heart disease. Results

from the Quebec cardiovascular study. *Atherosclerosis* 1996; 119:235-45.

M

Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenozone Chromogenic System. *Clin Chem* 1978; 24 (12): 2161-2165.

Michael Brownlee. *Biochemistry and molecular biology of diabetic complications*. 2001;414: 813-820.

Motta M., Bennati E. and Ferlito L. Insulin resistance (IR) in older age. *Arch Gerontol Geriatr* 2008; 46: 203-9.

Muslih R.K., Al-Nimer M.S. and Al-Zamely O.M. The study level of maloddialdehyde after activation with (H_2O_2 and $CuSO_4$) and inhibition of desferoxamine and molsidomine in the serum of patients with acute myocardial infection. *Nat. J. Chem.* 2002; 5:139-143.

N

Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co.* St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.

Nakhjavani M., Esteghamati R., Esfahanian F. and Heshmat R. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus: more atherogenic lipid profile in women. *Acta Medica Iranica* 2006; 44(2): 111-118.

NIH Publication. 2001; No. 01-3305, *JAMA*, 285:2486-97.

O

Olmedilla B., Granado F., Southon S. and Wright A.J. Baseline serum concentrations of carotenoids, vitamins A, E and C, in control subjects from five European countries. *Br J. Nutr* 2001; 85: 227-38.

Onyesom I., Agho J. E. and Osioh H.E. Level of antioxidant vitamins in newly diagnosed cases of type 2 diabetes mellitus in south eastern Nigeria. *African J of pharmacology* 2011; 5(15):1787-1791.

P

Pari L. and Latha M. Effect of cassia auriculata flowers on blood sugar levels, serum and tissue lipids in streptozotocin diabetes. *Singapore Med J.* 2002; 43: 617-21.

Peponis V., Papathanasion M. Kapranou A. and Magkon C. Protective role of oral antioxidant supplementation in ocular surface if diabetic patients. *Br J. Ophthalmol* 2002; 86: 1396-73.

Prabhakar N.R., Kumar G.K., Nanduri J. and Semenza G.L.: ROS signaling in system and cellular responses to chronic intermittent hypoxia. *Antioxidant Redox Signal* 2007; 9: 1397-1403.

R

Rama Srivatsan, Sujata Das, Ranjita Gadde, Krishna Manoj-Kumar, Snigdha Taduri, Nageshwara Rao, Ramesh B., Akansha Baharani, Kaajal Shah, Srilakshmi C. Kamireddy, Priyatham G., Balakumaran T.A., Shubba Seshadri, Asha Kamath and Anjali

Rao. Antioxidants and lipid peroxidation status patients with and without complication. Arch Iranian Med 2009; 12(2): 121-127.

Ramasamy R. and Goldberg I.J. Aldose reductase and cardiovascular disease, creating human- like diabetic complication in an experimental model. Circ. Res. 2010; 106: 1444-1458.

Ramchandra K. Padalkar, Ashok V. Shinde and Sangita M. Patil. Lipid profile, serum malondialdehyde, superoxide dismutase in chronic kidney diseases and type 2 diabetes mellitus. Biomedical Research 2012; 23 (2): 207-210.

Réjean Couture and Jean-Pierre Girolami. Putative roles of kinin receptors in the therapeutic effects of angiotensin 1-converting enzyme inhibitors in diabetes mellitus. European J of Pharmacology 2004; 467–485.

Report of the National Treatment Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of high blood cholesterol in adult. Atch, Imerr 1988; 148:36-9.

Rosenblat M. and Aviram M. Paraoxonases role in the prevention of cardiovascular disease. Biofactors 2009; 35:98-104.

Rosenson RS. HDL-c and the diabetic patient: target for therapeutic intervention? Diabetes Res Clin Pract 2005; 68 Suppl 2:536-42.

S

Sarah Akbar, Srikanth Bellary and Helen R. Griffiths. Dietary antioxidant interventions in type 2 diabetes patients: a meta-analysis. Br. J. Diabetes Vasc Dis 2011; 11:62-68.

Sarita N. Shinde and Vithal N. Dhadke. Evaluation of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus and follow-up along with vitamin E supplementation. Ind J. Clin Biochem 2011; 26(1): 74-77.

Selemidis, Sobey C.G., Wingler K., Schmidt H.H. and Drummond GR: NADPH oxidases in the vasculature molecular features, roles in disease and pharmacological inhibition. Pharmacol Ther 2005; 120: 254-291.

Stephen S.M. Chung, Eric C.M. Ho, Karen S.L. Lam and Sookja K. Chung. Contribution of polyol pathway to Diabetes-Induced Oxidative Stress. 2003; 14 Suppl 3: 233-236.

Stranges S, Dorn JM, Donahue RP, Browne RW, Freudenheim JL, Hovey KM and Trevisan M. Oxidation, type 2 diabetes, and coronary heart disease: a complex interaction: findings from a population-based study. 2008; Sep 31(9):1864-6.

Suryawanshi N.P., Bhutey A.K., Jadhav A.A. and Manoorkar G.S. Study of lipid peroxide lipid profile in diabetes mellitus. Indian J of clinical biochemistry 2006; 21(1): 126-130.

T

Tall A. Plasma lipid transfer protein. *Annu Rev Bio Chem* 1995; 64: 235-57.

Thavatchi Pearapatdit, Natchai Patchanans, Saiphon Poldee and Charn Sriratanasathavorn. Plasma lipid peroxidant nutrients in type 2 diabetic patients. *J Med Assoc Thai*. 2006;89 Suppl.5.

Tietz N.W. Text book of clinical chemistry. 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders 1999; 819-861.

Trinder P. *Ann Clin Biochem* 1969; 6: 24-33.

Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552: 335-344.

V

Vance D.E., Vance J.E. Biochemistry of lipids, lipoproteins, and membranes. New York, Elsevier Science;1996

Varashree Bs. and Gopalakrishna Bhat. Correlation of lipid peroxidation with glycated hemoglobin levels in diabetes mellitus. *Journal of Health and Allied Science* 2011; 10 Issue 2.

Vartanian, L.S; Gurevich, S.M; Kozachenko, A.I, Nagler, L.G. and Burlakova, E.B. Late consequences of action of low doses of ionizing radiation. *Radiats Biol. Radioecol* 2003; 43(2): 203-205.

W

Wautier J.L. and Schmidt A.M. Protein glycation: affirm link to endothelial cell dysfunction. *Circ. Res.* 2004; 95:233-283.

Wilson P.W. Why treated dislipidemia. *Soudimed J.* 1998; 19(4): 376-381.

X

Xia P., Inogunchi T., Kern T.S., Engerman R.L. and Oates P.J. Characterization of the mechanism for the chronic activation of diacylglycerol protein kinase C pathway in diabetes and hypergalactosemia. *Diabetes* 1994; 43:1122-1129.

Y

Yi-Cheng Chang, Lee-Ming Chuang. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication 2010; 2(3): 316-331.

Yoshino G and Hirano T. and Kazumi T. Dyslipidemia in diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 1996; 33:1-4.

Z

Zhany J.Z., Gao L., Widness M., Xix and Kern T.S. Captopril inhibits glucose accumulation in retinal cells in diabetes. *Invest Ophthalmol Visc Sci* 2003; 44:4001-4005.

Zulet M., Duchau B. and Hermsdorff H.H. Dietary selenium intake is negatively associated with serum sialic acid and metabolic

syndrome features in healthy young adults. Nutr Res 2009; 29: 41-48.

المعاجم

World Health Organization (WHO), The Unified Medical Dictionary
(UMD), [WWW.emro.who-nit/ Unified- Medical- Dictionary.html](http://WWW.emro.who-nit/Unified-Medical-Dictionary.html)
سلامة، ميرفانا ياسر، معجم الاحياء (التعريفات العلمية) ، دار صفاء للطباعة والنشر والتوزيع،
عمان ، الطبعة الاولى 2010.

Abstract

- **Back ground:**

Observation studies showed that patients with diabetes mellitus are more prone to oxidative stress because of hyperglycemia. The over production of free radicals by this hyperglycemia production may exacerbate cardiovascular complication in diabetes mellitus.

- **Objective:**

The aim of the study is to investigate the oxidative stress related parameters in type 2 DM. The comparison between serum malondialdehyde (MDA), glucose, antioxidant nutrients vitamins A and E, and lipid profile levels with their healthy group may be used to determine the susceptibility of oxidative stress in this type of DM.

- **Subjects and Methods:**

A total of 200 patients of type 2 DM (100 males and 100 females) of age (40 to 80 years), who were already diagnosed to have type 2 DM based on the criteria of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Compared with 200 healthy subjects (100 males and 100 females).

Blood samples where collected after 12 hours over night fasting 5 ml, venous blood samples were collected in plain tubes, the samples were allowed to clot for half an hour following which a samples were centrifuged for 10 minute at 3000 rpm, and serums were stored immediately at -20 c° until analysis.

- **Results:**

Results of statistical analysis showed availability of high significant values means in lipid profile of male TC and LDL-c and significant decrease in the values of the mean HDL-c while it did not appear values means TG and VLDL-c any significant differences despite high levels in patients. They also showed means values of vitamins A and E significant decrease in patients with diabetes mellitus compared with healthy control.

The means values of female patients showed all components of lipid profile rise significantly except HDL-c values that showed significant decrease compared with healthy controls.

And when merge groups of patients, male and female and comparing with totals healthy males and females found high significant differences in the scale of the lipid profile except HDL, which showed significant decrease, as well as the case for vitamin E without vitamin A, which does not appear significant differences in patients with diabetes compared with healthy control.

Despite the availability of significant decrease in blood glucose levels in females but the values mean of TG and VLDL-c were high significant in females compared to males, while signals values LDL-c to higher levels in males compared to females, also values showed vitamin E increased significantly in females compared to males and vitamin A did not show significant differences.

When finding the ratio between cholesterol: HDL found that they are within the rate risk, which ranges between (5.0 - 3.4) in males and

(9.9 -3.3) in females, reaching 9.967 and 4.363 in both males and females, respectively, and is this ratio as evidence key of atherosclerosis.

Also found the ratio between the HDL: LDL, which is also evidence of dangerous heart diseases, which was part of the rate risk, which ranges between (3.6 -1.0) in males and (3.2 -1.5) in females reaching 2.599 and 2.158 in both males and females respectively, informed that the all patients groups showed a significant rise in blood glucose, compared with healthy control.

The serum MDA was significantly higher in all groups of type 2 DM compared to normal healthy.

- **Conclusion:**

There is a balance between oxygen free radicals and defense systems anti-oxidants, when any imbalance cause of many diseases, and there is an impact on the level of vitamin E which is found mainly in LDL particles.

HDL is accompanied by a lack of complications of diabetes mellitus, heart diseases and blood vessels as Atherosclerosis.