

## مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم و بزاق بیماران مبتلا به دیابت نوع II با گروه کنترل

علی اکبر ملکی راد\*، دکتر سیدمحمد علی شریعت زاده\*\*، دکتر علی فانی\*\*\*، اکرم رنجبر†

\*گارشناس ارشد فیزیولوژی - مرکز علمی - پژوهشی جوان (مؤلف مسئول)، \*\*دانشیار گروه بیولوژی - دانشگاه اراک، \*\*\*استادیار گروه داخلی - دانشگاه علوم پزشکی اراک، †مربی - دانشکده پیراپزشکی - دانشگاه علوم پزشکی اراک.

تاریخ دریافت: ۸۴/۵/۵ - تاریخ تأیید: ۸۴/۸/۲۵

### چکیده:

زمینه و هدف: در بدن انسان تعدادی سیستم های خاص برای مقابله با آسیب های حاصل از رادیکال های آزاد وجود دارد که بنام سیستم دفاع آنتی اکسیدانی معروفند. در بعضی از بیماری های انسان، این سیستم های دفاعی می توانند تغییر یابند و ممکن است این تغییر در تشخیص و یا سیر بیماری های مختلف مورد استفاده قرار گیرد. دیابت یکی از مهمترین بیماری های شایع مزمن است که گفته شده ظرفیت آنتی اکسیدانی در آن تغییر می کند. لذا این تحقیق با هدف تعیین و مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و بزاق بیماران دیابتی در مقایسه با افراد غیر دیابتی انجام شده است.

روش بررسی: در یک مطالعه توصیفی - تحلیلی ۴۲ نفر از بیماران دیابتیک نوع II مراجعه کننده به مرکز دیابت اراک به عنوان گروه مورد با ۴۲ نفر گروه شاهد که از لحاظ سن و جنس با افراد مورد همتا بودند از نظر ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و بزاق مقایسه شدند. ظرفیت آنتی اکسیدانی در سرم و بزاق با استفاده از روش FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) اندازه گیری شد.

یافته ها: میانگین و انحراف معیار ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم و بزاق در افراد مورد به ترتیب  $2/62 \pm 0/087$  و  $1/90 \pm 0/110$  میکرومول در میلی لیتر ( $p < 0/001$ ) و در افراد شاهد به ترتیب  $2/05 \pm 0/064$  و  $1/97 \pm 0/098$  میکرومول در میلی لیتر ( $p < 0/05$ ) بود. افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم گروه مورد از لحاظ آماری معنی دار بود ( $p < 0/001$ ) ولی کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بزاق معنی دار نبود. نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم این بیماران نسبت به گروه شاهد بیشتر بود. ولیکن در بزاق بیماران این تفاوت مشاهده نشد. لذا در صورتی که از ظرفیت آنتی اکسیدانی بتوان در تشخیص و سیر بیماری استفاده نمود این اختلاف بایستی مورد نظر قرار گیرد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، استرس اکسیداتیو، دیابت، رادیکال آزاد.

### مقدمه:

کربوهیدرات ها وارد می سازند (۱). در بدن سیستم های خاصی برای مقابله با آسیب های حاصل از رادیکال های آزاد وجود دارد که به نام سیستم دفاع آنتی اکسیدانی معروفند (۲). زمانی که عدم تعادل در میزان تولید

رادیکال های آزاد، اتم ها یا مولکول هایی هستند که به خاطر وجود الکترون تک در بدن موجودات بسیار واکنش پذیرند و آسیب های زیادی را به ماکرومولکول های بدن جانداران همانند DNA، پروتئین ها، لیپیدها و

\*آدرس: اراک - مرکز علمی - پژوهشی جوان - تلفن: ۰۸۶۱-۲۲۴۱۰۲۰، Email: ak\_malkirad@yahoo.com

لازم به ذکر است در صورتی که نتایج مطالعه ما نشان دهد تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی می تواند از عوامل ایجاد کننده بیماری باشد می توان با توسعه به افراد سالم جهت تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی از ایجاد بیماری جلوگیری کرد (پیشگیری اولیه) و در بیماران نیز با تقویت این سیستم از عوارض ناشی از بیماری جلوگیری نمود یا بروز آن را به تعویق انداخت.

### روش بررسی:

این مطالعه از نوع توصیفی - تحلیلی است. جامعه مورد پژوهش افراد مراجعه کننده به مرکز دیابت شهر اراک و کلینیک های خصوصی بودند که از میان آنها ۴۲ نفر که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند به روش تصادفی آسان به عنوان گروه مورد انتخاب شدند. معیارهای ورود به این بررسی شامل کسانی بود که به مدت حداقل ۲ سال سابقه دیابت داشته، سابقه مصرف سیگار، مواد مخدر و الکل نداشته و با توجه به تشخیص پزشک متخصص بیماری مزمن دیگری نداشته و مبتلا به عوارض بیماری نباشند. گروه شاهد ۴۲ نفر از افراد سالمی که از نظر قند ناشتا (FBS) و قند دو ساعت بعد از ناشتا (2hPBS) نرمال بودند از لحاظ سن و جنس با گروه مورد همتا شدند. پس از تکمیل پرسشنامه از لحاظ داشتن معیارهای ورود از افرادی که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند  $5^{CC}$  خون وریدی  $1^{CC}$  بزاق گرفته شد و هر کدام بطور جداگانه با روش FRAP از نظر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مورد ارزیابی قرار گرفتند. این روش بر اساس توانایی پلاسما و بزاق در احیای یونهای  $Fe^{3+}$  (فریک) به  $Fe^{2+}$  (فرو) در حضور ماده ای به نام TPTZ (Tripyridyl s triazine) که بعنوان معرف مورد استفاده قرار می گیرد استوار است. که نتیجه آن کمپلکس آبی رنگ  $Fe^{2+}$ -TPTZ با ماکزیمم جذب  $593nm$  ایجاد

رادیکال های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی پیش آید این حالت را استرس اکسیداتیو گویند (۳). پاره ای از مطالعات نشان می دهد که احتمالاً استرس اکسیداتیو می تواند عامل ایجاد بیماری های مختلف از جمله دیابت باشد (۴). از طرف دیگر دیابت یکی از مهمترین بیماری های شایع مزمن است که آمار جهانی آن از جمله در ایران رو به افزایش است (۵). این بیماری چهارمین علت اصلی مرگ و میر در اغلب کشورهای توسعه یافته است (۶). آمار آن تا سال ۲۰۱۰ در سرتاسر جهان به دو برابر می رسد (۷). Hartnett و همکاران در مطالعه ای تحت عنوان نشانه های استرس اکسیداتیو سرم و رتینوپاتی شدید در دیابتی ها گزارش کردند که در افراد دیابتی تیوباربتوریوک اسید (TBARS) افزایش و میزان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلو تاتیون پراکسیداز (GSH-PX) کاهش می یابد (۸). Philips و همکاران در مطالعه ای بر روی بیماران دیابتی گزارش کردند که ظرفیت آنتی اکسیدان های تام پلاسما و دفاع آنتی اکسیدانی این بیماران کاهش می یابد (۹). با توجه به شیوع بالای دیابت، عوارض جبران ناپذیر آن و اینکه به نظر می رسد یکی از علل احتمالی ایجاد آن می تواند تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی باشد که در این رابطه میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و بزاق می تواند نقش داشته باشند. اما کدامیک از این دو عامل می تواند معیار مناسب تری جهت بررسی برای بیماری دیابت باشد و ارزش تشخیصی کدامیک بالاتر است نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه است. لذا هدف این پژوهش مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم و بزاق با توجه به نتایج مختلفی که در این زمینه صورت گرفته است، می باشد. از آنجا که تاکنون مطالعه ای در خصوص دیابت نوع II در این زمینه در ایران انجام نگرفته است ما به بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی سرم و بزاق افراد دیابتی پرداختیم.

می‌کند (۱۰). میزان قدرت احیا کنندگی سرم یا بزاق از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مدل UV-Visible 7800 Jasco اندازه‌گیری شد. محاسبات آماری پس از جمع‌آوری داده‌ها و با استفاده از برنامه SPSS و آزمون من ویتنی انجام شد. لازم به ذکر است شرکت کلیه افراد در پژوهش آگاهانه بوده و محققین در کلیه مراحل پژوهش متعهد به رعایت اصول اخلاقی پژوهش بودند.

### یافته‌ها:

یافته‌ها نشان داد که میانگین و انحراف معیار ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما در افراد مورد  $2/62 \pm 0/087$  میکرومول در میلی‌لیتر و در افراد شاهد  $2/05 \pm 0/064$  میکرومول در میلی‌لیتر بود که با استفاده از آزمون من ویتنی اختلاف معنی‌داری بین گروه مورد و شاهد مشاهده شد ( $p < 0/001$ ). میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام بزاق در افراد مورد  $1/90 \pm 0/110$  و در افراد شاهد  $1/97 \pm 0/098$  میکرومول در میلی‌لیتر بود. ( $p > 0/05$ ). ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما در افراد مورد  $2/62 \pm 0/087$  و ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام بزاق گروه مورد  $1/90 \pm 0/110$  بود که آزمون من ویتنی اختلاف معنی‌داری را بین این دو گروه نشان داد ( $p < 0/001$ ) و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما در افراد شاهد  $2/05 \pm 0/064$  و ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام بزاق گروه شاهد  $1/97 \pm 0/098$  بود آزمون من ویتنی اختلاف معنی‌داری را بین این دو گروه نشان نداد.

### بحث:

بر اساس نتایج این مطالعه میانگین آنتی‌اکسیدان‌های تام سرم در گروه مورد بیش از گروه شاهد بود ( $p < 0/001$ ). مطالعه‌ای تحت عنوان جذب غذایی و سطوح ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما در

دیابتی‌های مسن کره‌ای انجام گرفت که در این مطالعه وضعیت آنتی‌اکسیدان‌های بین افراد دیابتی و افراد مسن سالم از طریق تعیین میزان ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان رژیم غذایی، سطوح آنتی‌اکسیدان پلاسما و وضعیت آنتی‌اکسیدان تام بررسی شد. در این مطالعه مشخص شد که در افراد دیابتی متوسط ویتامین A و جذب بتاکاروتن از رژیم غذایی بطور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود. تفاوت معنی‌داری در ویتامین C پلاسما، سطح بتاکاروتن و سطح TBARS بین دو گروه مورد و شاهد مشاهده نشد اما ویتامین‌های A، E و سطح آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسما در افراد دیابتی بطور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود. بطور کلی نتایج نشان داد که بیماران دیابتی وضعیت آنتی‌اکسیدان‌های بالاتری از گروه کنترل داشتند که به عنوان شاخص بهبودی نسبی محسوب می‌گردد (۱۱). در مطالعه‌ای تحت عنوان ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام و سطوح فاکتور رشد اپیدرمی و نیتریک اکسید در خون و بزاق بیماران دیابتی وابسته به انسولین در سال ۲۰۰۵ مشخص شد که قدرت آنتی‌اکسیدان تام سرم بیماران دیابتی بالاتر از گروه شاهد بود (۱۲). نتایج مطالعه ما با یافته‌های اخیر مطابقت دارد با توجه به نظر Kim افراد دیابتی به رژیم غذایی حساس بوده و آنتی‌اکسیدان‌های بیشتری مصرف می‌کردند و احتمالاً این دلیل مغایرت مطالعه ما با مطالعات مذکور است (۱۱).

Pasaoglu و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان پراکسیداسیون لیپیدی و مقاومت در برابر اکسیداسیون در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع II نتیجه گرفتند که در این افراد GSH اریتروسیت نسبت به گروه کنترل بالاتر و گروه‌های تیول تام سرم پایین‌تر بود (۱۳). Seghrouchni و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان پارامترهای استرس اکسیداتیو در دیابت نوع I و II و دیابت درمان شده با انسولین گزارش کردند که در افراد

دیابتی فعالیت SOD و غلظت TBARS افزایش می یابد و مقدار GSH و آلفاتوکوفرول کاهش می یابد (۱۴). Skrtha با مطالعه بر روی ۷۳ بیمار دیابتی (۲۴ نفر نوع I و ۴۹ نفر نوع II) و ۲۶ نفر به عنوان گروه کنترل گزارش نمودند که فعالیت آنتی اکسیدانهای آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GSH-PX) در بیماران دیابتی نسبت به گروه شاهد بطور معنی داری پایین تر بود (۱۵). Ceriello و همکاران با مطالعه بر روی بیماران دیابتی گزارش کردند که در این افراد گروههای تیول (Thiol group) و اسید اوریک به طور معنی داری در افراد دیابتی پایین بود در حالی که MDA و ویتامین E به طور معنی داری بالاتر بود (۱۶). Philips و همکاران در مطالعه ای بر روی بیماران دیابتی گزارش نمودند که ظرفیت آنتی اکسیدانهای تام پلاسما و دفاع آنتی اکسیدانی این بیماران کاهش می یابد (۹). نتایج مطالعه ما با یافته های اخیر مغایرت دارد چون افزایش تولید رادیکال های آزاد باعث ایجاد بیماریهای مختلف از جمله دیابت می شود و از طرف دیگر افزایش رادیکال آزاد باعث تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی گردیده در نتیجه در این بیماران مقدار آنتی اکسیدان ها کاهش یافته است.

میانگین میزان آنتی اکسیدانهای تام بزاق در افراد دیابتی نوع II در مقایسه با گروه شاهد معنی دار نبود. Ziobro و همکاران در مطالعه ای تحت عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی تعدادی از مایعات بدن انسان گزارش کرد که ظرفیت آنتی اکسیدانی تام بزاق در محدوده سنی خاص از ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما بیشتر است (۱۷). Astaneie و همکاران در مطالعه وضعیت آنتی اکسیدانی بزاق و سرم بیماران دیابتی گزارش نمودند که ظرفیت آنتی اکسیدانی بزاق بیماران دیابتی نوع I بالاتر از گروه کنترل بود (۱۲). Rozowski و همکاران در مطالعه ای تحت عنوان اختلاف در میزان

آنتی اکسیدان های افراد با سطح اجتماعی اقتصادی پائین کم تر از افرادی است که سطح اجتماعی - اقتصادی بالاتری دارند (۱۸). نتایج پژوهش ما نشان می دهد که کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی بزاق (علیرغم معنی دار نبودن آن در بزاق) با نظرات دانشمندان در خصوص اینکه یکی از عوامل ایجاد کننده دیابت می تواند تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی باشد مطابقت دارد که به عبارت دیگر ظرفیت آنتی اکسیدانهای بزاق کاهش پیدا کرده است.

بنابر نتایج فوق میزان آنتی اکسیدان های تام سرم در افراد دیابتی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی داری نشان داد. افراد دیابتی برای پیشگیری از عوارض بیماری مقدار زیادی آنتی اکسیدان مصرف می نمایند و از طرف دیگر شرایط فیزیولوژیک فرد، اختصاصات نژادی از جمله HLA typing و مقدار انسولین مصرفی می تواند میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی را دستخوش تغییر نماید که در افراد و نژادهای مختلف متفاوت است و باعث تغییر در میزان آنتی اکسیدان های این افراد می شود. در مجموع عوامل فوق باعث بالا رفتن ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم بیماران دیابتی نسبت به گروه شاهد شده است.

ترکیب شیمیایی و میزان کمی و کیفی آنتی اکسیدان های بزاق و پلاسما متفاوت است (۱۹) از طرف دیگر علاوه بر اینکه بزاق به عنوان اولین خط دفاعی در برابر رادیکال های آزاد می باشد، مراحل از جویدن و هضم غذای خورده شده باعث ایجاد انواعی از واکنش ها از جمله پراکسیداسیون لیپیدی می شود که از این جهت نیز وضعیت آنتی اکسیدانی سرم و بزاق متفاوت می شود (۲۰).

در پایان پیشنهاد می گردد که جهت ارزش تشخیصی، با توجه به اینکه آنتی اکسیدانهای محلول در بزاق می تواند نقش مهمی در ایجاد دیابت داشته باشد، تحقیقات تکمیلی در این زمینه صورت پذیرد.

بایستی مورد نظر قرار گیرد.

## نتیجه گیری:

نظر به اینکه میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم بیماران نسبت به گروه شاهد بیشتر است و در بزاق بیماران این تفاوت مشاهده نشده لذا در صورتی که از ظرفیت آنتی اکسیدانی بتوان در تشخیص و سیر بیماری استفاده گردد این اختلاف

## تشریح و قدردانی:

بدینوسیله از تمامی کسانی که ما را در این مقاله یاری نمودند قدردانی می گردد.

## Reference:

1. Halliwell B. Antioxidant characterization: methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol.* 1995 May; 17, 49(10): 1341-8.
2. Cochran CG. Cellular injury by antioxidants. *Am J Med.* 1997; 32: 235-55.
3. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990 Jul; 280(1): 1-8.
4. McCraty R, Atkinson M, Conforti K. Heart rate variability, hemoglobin A1C and psychological health in type 1 and 2 diabetes following an emotional self-management program. *Proceeding of the society of behavioral medicine.* 20<sup>th</sup> Annual Scientific Sessions, San Diego, California, 1999; [abst].
5. Rubin RR. Diabetes and quality of life. *Diabetes Spectrum.* 2000; 13(1): 21.
6. Glugliano D. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 1996; 19: 257-67.
7. Rcders CM. Interventions to improve the management of diabetes in primary care, out patient and community setting. *Diabetes Care.* 2001; 24, 1821-33.
8. Hartnett ME, Stratton RD, Browne RW, Rosner BA, Lanham RJ, Armstrong D. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* Feb. 2000 Feb; 23(2): 234-40.
9. Phillips M, Cataneo RN, Cheema T, Greenberg J. Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta.* 2004 Jun; 344(1-2): 189-94.
10. Iris F, Benzie F, Strain S. The ferric reducing antioxidant assay. *Methods Enzymol.* 1999; 292: 15-27.
11. Kim JH, Kim MJ. Dietary intakes and plasma antioxidant vitamins levels in Korea elderly with diabetes. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004; 13(suppl): S 152.
12. Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin dependent diabetic patients. *Arch Med Res.* 2005 Jul- Aug; 36(4): 376-81.
13. Pasaoglu H, Sancak B, Bukan N. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 2004 Jul; 203(3): 211-8.
14. Seghrouchni I, Drai J, Bannier E, Riviere J, Calmard P, Garcia I, et al. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin - treated type diabetes mellitus, insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta.* 2002 Jul; 321(1-2): 89-96.

15. Skrha J, Hodinar A, Kvasnicka J, Hilgertova J. Relationship of oxidative stress and fibrinolysis in diabetes mellitus: *Diabet Med*. 1996 Sep; 13(9):800-5.
16. Ceriello A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E, et al. Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1997 Oct; 20(10): 1589-93.
17. Ziobro A, Bartosz G. A comparison of the total antioxidant capacity of some human body fluids. *Cell Mol Biol Lett*. 2003; 8(2): 415-9.
18. Rozowski J, Cuevas A, Castillo O, Marin PP, Strobel P, Perez DD, et al. Differences in plasma antioxidants according to socioeconomic level in Chilean women. *Rev Med Chil*. 2001 Jan; 129(1): 43-50.
19. Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR, et al. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann Clin Biochem*. 1997 Jul; 34(Pt 4): 412-21.
20. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002 Mar; 29(3): 189-94.

