الجمهوريـــــة الجزائريـــــة الديمقراطيـــــة الشعبيـــــة
وزارة التعليـــم العالـــي و البحث العلمـــي
جـــامعة منتـــوري قسنطينـــة
كليـــة عـــــلوم الطـــبيعة و الحيـــاة
قسم بيولوجيا الحيوان

الـــرقم التسلسلي: 82/TE/2008
رقم الترتيب: 02/SN/2008

رسالة

قدمــــت لاستفاء نيل شــــهادة **دكتوراه الدولـــة**

الفــــــرع: بيولوجيا فيزيولوجيا حيـــوان

تخصـــص: الكيمياء الحيوية الفيزيولوجية

تقـــــديم: مــــــعاذ بن ربــــــعي

عنـــوان الرســـالة

دراسات بيوكميائية على بعض المؤشرات البيولوجية
عند مرضى السكر غير المعتمدين على الأنسولين
و علاقتها بالتوزيع الجغرافي في الشرق الجزائري

لجنـــــة المناقشــــــة:

الرئيس: أ. دكتورة دليلة ســا طة أستاذة بجامعة منتوري جامعة قسنطينة
المقرر دكتورة نصيرة عبيدلي أستاذة محاضرة بجامعة منتوري جامعة قسنطينة
الممتحنون دكتور الصديق خنوف أستاذ محاضر بجامعة فرحات عباس جامعة سطيف
أ. دكتور ســعــد ســاقع أستاذ بجامعة باجي مختار جامعة عــــنابة.
أ. دكتور عبد النور شريف أستاذ بجامعة باجي مختار جامعة عــــنابة

تاريـــــخ المناقشـــة: **13 ديسمبر 2008**

شكر وعرفان

أتقدم بشكري الخالص إلى كل من تحمل معي مشقة إنجاز هذا العمل العلمي، و أخص بالذكر:

شكري و عرفاني الكبيرين للأستاذة الدكتورة شـــــــريفة بلطرش أستاذة – رئيسة – معمل الكيمياء الحيوية بالمستشفى الجامعي ابن باديس بقسنطينة على المساعدات اللامتناهية و تحملها كل ما اعترضني من مشاكل، نصائحها القيمة و تقديم الدعم المادي و المعنوي. دون نسيان كل الطاقم التقني بمعمل الكيمياء الحيوية الذين يعتبرنني فردا من عائلة المعمل و لم يبخلوا علي بالمساعدات التقنية و التشجيع.

شكري و عرفاني المتميزين للدكتورة عبيدلي نصيرة أستاذة مساعدة بقسم علوم الطبيعة و الحياة بجامعة منتوري على تحملها ثقل المهمة و مساعدتي على إنهاء الرسالة، ونصائحها القيمة المفيدة، و سهرها و متابعتها للعمل إلى آخر لحظة، كما أشكرها على الإتصالات التي مكنتني من مزاولت ما تبقى من أجزاء عملية بخارج الوطن.

شكري و عرفاني الخالصين إلى السيد الأستاذ الدكتور حمدي صوفي على قبولي بعامله و الأخت المتميزة الدكتورة سعـــــــاد محمد نـــــــصر من القاهرة بجمهورية مصر العربية على المجهود المضني الذي بذلته من أجل مساعدتي على إنهاء التحاليل المعملية المتبقية البشرية و الحيوانية و التحاليل الإحصائية و الطاقم من الدكاترة الباحثين الذين رافقونا في ذلك دكتور محمد سعيد و دكتور تامر.

شكري و عرفاني الكبيرين إلى الدكتورة الزميلة فاطمة خليفي التهامي التي كانت الشرارة الأولى التي أوقدت محرك إنهاء الرسال ة، و استيائها لعدم إنهاء الرسالة في ما مضى.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى السيدات و السادة أعضاء لجنة المناقشة لتكرمهم و قبولهم العفوي لدعوة تشكيل اللجنة المذكورة، وهذا على حساب التزاماتهم و ارتباطاتهم بجامعاتهم و عائلاتهم.

أتوجه بالشكر و التقدير للسيدة رئيسة لجنة المناقشة الأستاذة الدكتورة دليلة ساطة أستاذة بقسم علوم الطبيعة و الحياة بجامعة منتوري، و التي كانت لي الدعم المعنوي الكبير في الأوقات العصيبة التي عرفتها إحدى مراحل إنجاز الرسالة، و كذا نصاحئها القيمة و خبرتها.

شكري و تقديري إلى السيد الأستاذ الدكتور ســـعد ساقع على تشريفي لقبول الدعوة لمناقشة الرسالة، و الذي لن يبخل علينا بإبداء نصائحه، كدليل على الإهتمام العلمي.

شكري و تقديري للأستاذ الدكتور عبد النور شريف على كرم قبوله الدعوة لتشكيل لجنة المناقشة، لتميزه بالإهتمام العلمي سيكون لنا الموجه و المرشد بنصائحه و آرائه.

شكري الكبير إلى الأخ الزميل الدكتور العـــيد دهيمات عميد كلية علوم الطبيعة و الحياة على تشجيعه و مؤازرته، و كذا دعمه المادي و المعنوي، كما أشكر الزميل الدكتور الحـــسن برارحي على اهتمامه و تشجيعه و كل دكاترة قسم العلوم البيطري ة

بالخروب على دعمهم المطلق. دون نسيان الزملاء المتميزين بتواضعهم و دعمهم من قسم علوم الطبيعة و الحياة.

الإهـــــداء

أهدي هذا الإنجاز العلمي إلى **روح الـــــوالدين** رحمـــهما الله، و طيب ثراهما في جنان الخلد، و سيكون لهما علم ينتفع به بإذن الله.

أهدي هذا الإنجاز أيضا إلى روح أول من أشرف على الرسالة، الأب الثاني الأستاذ الدكتور **محمـــد فتحـــي صـــالح الهـــواري**، رحمه الله و طيب ثراه في جنان الخلد، الذي كان يخصني بتميز منفرد و يشجعني على إتمام العمل.

أهـــــديه إلى **Jacqueline** التي تركت في نفسي الأثر البالغ من العطف و الحنان.

أهدي العمل المنجز أيضا إلى المصونة **فاطمـــة الزهـــراء** التي لم تبخل علي بالدعاء و الصلاة و التشجيع أدامها الله.

Abreviations

AA	Arachidonic acid,
ADN	Acide deoxyribonucleotide
ADP	Adenosine diphosphate
AGEs	Advanced glycosylated end products
4AP	4-Aminophenazone
Asp	Aspartique
BMI	Body mass index
DCPIP	2,6 dichlorophenol indophenol
D-Roms test	Derivatives of reactive oxygen metabolites test
DDT	Dichloro Diphenyl Trichloroethane
DHA	Docosahexaenoic acid
DHBS	3,5 Dichloro-2 hydroxybenzene sulfonic acid
DID	Diabète insulinodépendant
DNID	Diabète non insulinodépendant
DTNB	5,5‘ dithiobis 2 Nitrobenzoic acid
E col	Escherichia Coli
EC	Enzyme classification
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
GLA	γ-linolenic acid
GOD	Glucose Oxidase
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
GS	Glycogen Synthase
GSH	Glutathione reduced
GSSG	Gkutathione oxydised
HbA_1C	Hemoglobine glyquée
HDL- c	High Density Lipoprotein cholesterol
His	Histidine
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IR	Insulin Receptor
LA	Lipoic acid
LDL- c	Low Density Lipoprotein cholesterol
LPO	Lipoperoxide
LPx	Lipid peroxides
MAGE	Mean Amplitude of Glycaemic Excursions
MDA	Malondialdehyde
mM/L	milli Mole/Litre
MODD	Mean Of Daily Differences
nmol / mL	nanomole / milliliter
NADPH	Nicotine amide dinucleotide phosphate
NBT	Nitroblue tetrazolium

8 OHdG	γ Hydroxy 2 Deoxyguanosine
PBS	Phosphate Buffered Saline
PMs	Phenazine methosulphate
PON 1	paraoxonase-1
Redox	Reduction - Oxydation
ROS	Reactive Oxygen Species
SD	Standard deviation
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SH	Groupe sulfhydryle
SOD	Superoxide dismutase
TAC	Totale Anti-oxydante Capacité
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TCA	Trichloroacetic acid
TG	Triglycerides
TRL-TG	Triglycerides rich lipoprotein
U	Unit
U.CARR	Carratelli units
UPC	Uncompling Poor Protein
VLDL	Very Low Density Lipoprotein cholesterol
WHO	World Health Organisation

الفهـــــرس

صفحة

الفصل الأول: استعراض المراجع

المقدمة...1

داء السكري المعتمد على الأنسولين..4

داء السكري غير المعتمد على الأنسولين

الدهون.. 7

جليسريدات الدم الثلاثية

كولسترول الدم..9

فوسفولبييدات الدم... 11

علاقة داء السكري ببعض العناصر الصغرى.................................13

داء السكري النوع الثاني و الإجهاد التأكسدي...17

الهيموجلوبين المجلكز HbA_1C 20

الأهمية الفيزيوباثولوجية

الأوعية الدموية و الجذور الحرة في داء السكري..25

السعة الكلية المضادة للأكسدة.. 29

العناصر الأكسيجينية النشطة... 30

إنتاج العناصر النشطة الأكسيجينية ROS................................. 31

الجذور الحرة.. 33

مصادر الجذور الحرة...35

مصادر خارجية

مصادر داخلية.. 36

فوق أكاسيد الدهون...37

البروتينات المؤكسدة.. 38

تلف الـــ ADN.. 39

أنظمة الدفاع المضاد للأكسدة

مضادات الأكسدة الإنزيمية
إنزيمSOD
أنزيم GPx.. 41
أنزيم Catalase... 42
مضادات الأكسدة غير الأنزيمية... 43
GSH
فيتامين (C).. 44.
فيتامين E
الفصل الثاني: الدراسة الاكلينيكية على الإنسان.....................46
الطرق المعملية
الكيماويات المستخدمة
الطريقة الإحصائية.. 47
الدراسة الاكلينيكية على الإنسان
الطرق والمواد المستخدمة
الموارد البيولوجية
أ- الأفراد
مقياسي اختيار الأفراد.. 48
مقاييس الإستثناء
مقاييس الاحتواء
جمع عينات الدم.. 49
المؤشرات البيوكيميائية... 50
تقــدير جلوكوز الدم
تقــدير جليسريدات الدم الثلاثية... 51
تقــدير الكولسترول الكلي للدم
تقــدير الــ HDL-c.. 52
تقــدير الــ LDL-c
تقــدير الكرياتنين

تقـــدير اليوريا.. 53
تقـــدير الهيموغلوبين المجلكز
المؤشرات المضادة للأكسدة... 54
تقـــدير فوق أكاسيد الدهون MDA
تقـــدير(GSH)
تقـــدير نشاط الأنزيم Catalase.. 55
تقديـــر (TAC)
تقـــدير الفيتامين (C).. 56
الدراســـة الإحصائية
الفصل الثالث: الدراسة التجريبية على الجرذان........................... 57
العقاقير و الجرعات
الألوكسان
هرمون الأنسولين
الموارد البيولوجية
الحيوانات (الجرذان)
جمع عينات الدم... 59
المؤشرات البيوكيميائية
تقـــدير فوسفولبيدات الدم
تقـــدير دهون الدم الكلية.. 60
المؤشرات المضادة للأكسدة
تقـــدير (GPx)
تقـــدير نشاط (SOD)... 62
تقـــدير نشاط (GR).. 63
تقـــدير نشاط أنزيم الكتلاز Catalase.. 64
تقـــدير القدرة الإختزالية GSH
الدراسة الإحصائية

الفصل الرابع: النتائج

النتائج الإكلينيكية.. 66
العمر و مؤشر الكتلة الجسمية
التحاليل الإكلينيكية.. 69
جلوكوز الدم
الهيموغلوبين المجلكز
اليوريا.. 70
الكرياتينين
دهون الدم الكلية.. 73
الجليسريدات الثلاثية
الكوليستيرول
البروتينات الليبيدية عالية الكثافةHDL-c
البروتينات الليبيدية منخفضة الكثافةLDL-c
الإجهاد التأكسدي.. 76
فوق أكاسيد الدهون)مالونديألدهيد(
الجلوتاثيون المختزل GSH
نشاط أنزيم الكتلاز.. 77
الكفاء الكلية المضادات التأكسد
فيتامين ج
النتائج التجريبية.. 81
الوزن
جلوكوز الدم
جليسريدات الدم الثلاثية
كولسترول الدم.. 82

فوسفولبيدات الدم
دهون الدم الكلية
الإجهاد التأكسدي

الفصل الخامس: المناقشة

الدراســــة الإكلــينيكية.......................................91
مؤشر الكتلة الجسمية.......................................94
المؤشرات البيوكيميائية.......................................95
جلوكوز الدم و الهيموغلوبين المجلكز
المؤشــــــرات الدهنية.......................................98
جليسريدات الدم الثلاثية
كولسترول الدم.......................................100
البروتينات الليبيدية خفيفة الكثافة .LDL-c.......................................102
البروتينات الليبيدية عالية الكثافة .HDL-c.......................................103
الإجهاد التأكسدي.......................................105
فوق أكسدة الدهون.......................................109
الجلوتاثيون المختزل.......................................112
السعة الكلية المضادة للأكسدة.......................................114
أنزيم الكتلاز Catalase 115
الفيتامين ج.......................................116
الدراســــة التجريبية.......................................119
الوزن
جلوكوز الدم.......................................121
المؤشـــرات الدهنية.......................................122
جليسريدات الدم الثلاثية
كولسترول الدم.......................................123
فوسفولبيدات الدم.......................................125

دهون الدم الكلية.............................. 127
الإجهاد التأكسدي.................................. 129
أنزيم.GPx 131
أنزيم GR... 133
أنزيم SOD.. 134
أنزيم الكتلاز.. 137
القدرة الإختزالية GSH.............................. 138
الاستنتاج و الآفاق.................................140
ملحق الطرق و المواد المستخدمة.................. 142
المراجع... 149
الملخصين الفرنسية و الإنجليزية
المنشورات و الملتقيات

المقـــــدمة:

في أحدث التنبأت، سيشهد العالم زيادة في عدد المصابين بداء السكري قد تصل إلى ضعف ما هو عليه اليوم تقريبا، حيث سينتقل من 171 مليون مصابا سنة 2000 إلى أكثر من 300 مليون مصابا بحلول سنة 2030. أي يصيب حاليا بين 2,5–3 % من سكان العالم و حوالي 7% في بعض البلدان المتطورة صناعيا (WHO (1998), Froguel, Velho, (2001) Ruhe, McDonald, (2001)، و (Wild et al., 2004).

يرتفع الجلوكوز في الدم لأسباب متعددة، منها ما هو فيزيولوجي و منها ما هو مرتبط بالمحيط البيئي، أهمها من وجهة النظر الفيزيوباثولوجية ما يعرف بمقاومة الأنسولين Insulino résistance التي يكون فيها مستوى الأنسولين في البداية طبيعيا، لكن تأثيره الإستقلابي يقاوم على مستوى الأنسجة المستهدفة (العضلات الحمراء، النسيج الدهني و الكبد) مما يدفع بالبنكرياس إلى إنتاج المزيد منه و إفرازه، فيرتفع مستوى الأنسولين في الدم بشكل مفرط Hyper-insulinémie Barroso, (2005)، وبذلك تكون البداية نحو تثبيت مرض السكر غير المعتمد على الأنسولين (النوع الثاني).

و تستمر مقاومة تأثير الأنسولين و بالتالي إستمرار إفرازه، مما يؤدي في النهاية إلى إجهاد الخلايا β في جزر لانجرهانس البنكرياسية، نتيجة الطلب المتزايد للهرمون، و عندما تصبح كمية الأنسولين غير كافية مع مرور الوقت لمجابهة مقاومة الأنسولين، ينتج عن ذلك ارتفاع مفرط لجلوكوز الدم بشكل غير طبيعي و مزمن (Biesalski, 2004).

يصاحب ارتفاع جلوكوز الدم بشكل مفرط عند الإنسان أو الحيوان تجريبيا تغيرات أيضية بإمكانها التأثير على اتزان مستويات مضادات التأكسد و بادئات التأكسد، داخلية و خارجية المصدر، بطرق متعددة أهمها ارتباط الجلوكوز لا أنزيميا بالبروتينات من بينها الهيموغلوبين و بعض الأنزيمات المضادة للأكسدة، التي تعتبر الخط الدفاعي الأول المضاد لظاهرة الإجهاد التأكسدي داخل و خارج الخلايا، مما يفقدها نشاطها في إزالة الجذور الحرة، و ينعكس ذلك على المضادات غير الأنزيمية التي تتأثر بشكل مباشر بهذه الظاهرة مثل المرافقات الأنزيمية GSH, NADPH و NADH.

ينتج عن الخلل في اضطراب اتزان مضادات التأكسد و بادئات التأكسد مضاعفات متنوعة، أهمها المضاعفات الوعائية، العصبية، البصرية و الكلوية المميزة لداء السكري.

مما سبق من المعطيات ارتأينا القيام بدراسة مدى انعكاس هذه الظاهرة على بعض المؤشرات الكيميائية الحيوية و بعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي ذات الصلة بمضاعفات داء السكري عند الأفراد البالغين المصبين باء السكري النوع الثاني، و عند الحيوانات (الجرذان) المصابة بداء السكر التجريبي المحرض بالألوكسا ن، كتقدير جلوكوز الدم، الهموجلوبين المرتبط بالجلوكوز HbA_1C كمؤشر نوعي يدل على انتظام العلاج لدى مرضى داء السكري على الأقل 3– 4 شهور قبل إجراء التحاليل و الجليسريدات الثلاثية و الكوليسترول، البروتينات الناقلة للدهون LDL-c و HDL-c كعوامل مساعدة على ظهور المضاعفات القلبية الوعائية، بالإضافة إلى مؤشري السلامة الكلوية الكرياتينين و

اليوريا بالإضافة إلى عاملي السن و مؤشر الكتلة الجسمية، من حيث أنهما عاملين مؤثرين على تطور المرض.

استعراض المراجع

بالرغم من أن أسباب حدوث داء السكري عديدة و متداخلة، فإن ارتفاع جلوكوز الدم قد يعود إلى مقاومة الأنسولين أو مضادات مناعية تبطل مفعوله، إلا أنه يوجد نوعان رئيسيان من داء السكري هما:

- **داء السكري المعتمد على الأنسولين** (DID) النوع الأول Diabète type 1.
- **داء السكري غير المعتمد على الأنسولين** (DNID) **النوع الثاني** Diabète type 2.

1. داء السكري المعتمد على الأنسولين DID:

يطلق عليه اصطلاحا داء السكري نوع I، و ينتج عن تخريب و/أو موت الخلايا β في جزر لانجرهانز Kloppel et al., (1984) نتيجة عدة تأثيرات منها ذات الطبيعة الكيميائية كتأثير الجذور الحرة على أغشية هذه الخلايا Bindokas et al., (2003) و منها ما هو ذو طبيعة مناعية و التهابية، مما يؤدي إلى انخفاض في إفراز الأنسولين ينجم عنه ارتفاع مستوى الجلوكوز في الدم بعد صوم فزيولوجي إلى أعلى من 126 ملج/دل حسب المنظمة العالمية للصحة WHO, (1998)، يصيب بنسبة عالية الأفراد الصغار بشكل رئيس و المراهقين.

2. داء السكري غير المعتمد على الأنسولين DNID:

يطلق عليه داء السكري النوع II، وهو نتاج تقلص كتلة الخلايا β نتيجة ضمورها Sakuraba et al., (2002) و Butler et al., (2003) أو عن خلل في المستقبلات الخلوية الحساسة للأنسولين (مقاومة الأنسولين) بسبب عامل السمنة المفرطة، و بالتالي فهو متعدد المصادر Robertson, (2006)، يصيب البالغين بوجه خاص و لو أنه قد يلاحظ عند الأطفال بخصوص في الدول الغنية (أمريكا، اليابان و بصورة أقل في أوروبا) بسبب

الزيادة المفرطة في الكتلة الجسمية ($BMI > 27\ kg/m^2$)، Kim et al., (2004) أو حتى نوعية الحياة اليومية , Coffey et al., (2002) و Graue et al., (2003) و لو أن تأثير الجذور الحرة لم يكن واضحا في نشوء هذا النوع حسب Baynes, (1991), Seghrouchni et al., (2002) بينما تؤيده دراسة Shimabukuro et al., (1997) و (Shimabukuro et al., 1998).

و من ناحية أخرى، و في دراسات متقدمة Simmons, (2006) قد يعزى خطر ظهور هذا النوع بين البالغين إلى السمنة المفرطة خلال فترة الطفولة Bavdekar et al., (1999), Eriksson et al., (2000), (Forsen et al., 2000).

و يتميز داء السكري النوع الثاني كونه مرض يتدرج في تطوره، إذ يكون عديم الأعراض عموما لسنوات طويلة، واكتشافه و تشخيصه يعتمد إما على اختبار جلوكوز الدم بعد صوم فيزيولوجي أو بعد حثه بتناول كمية من السكر، مع زيادة ثابتة للهيموغلوبين المجلكز HbA_1C بمرور الوقت UKPDS, (1998b) و هبوط اضطرادي في وظيفة خلايا β حسب UKPDS, (1995), (Levy et al., 1998 a).

كما للعامل الوراثي وقع شديد على احتمال خطر ظهوره خاصة المصابين به من أفراد العائلة أصول الدرجة الأولى.

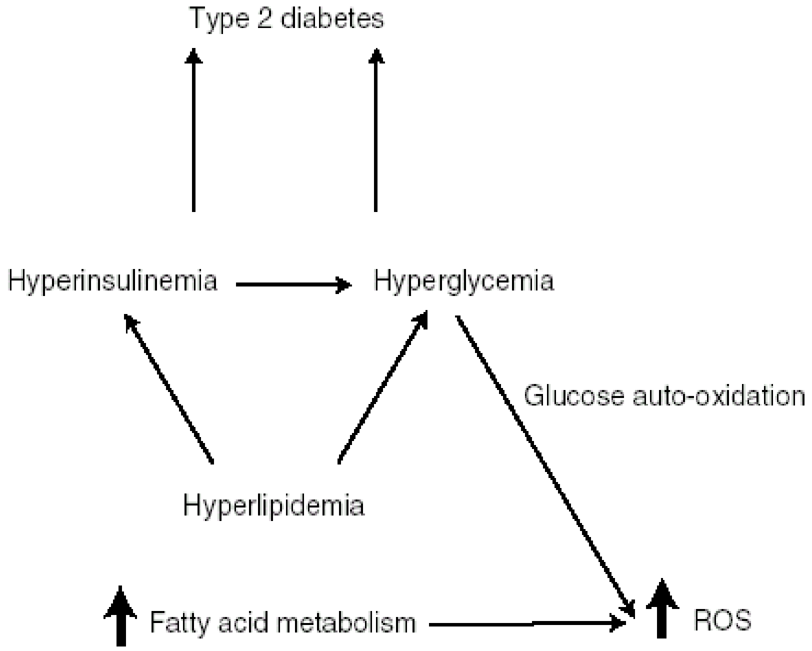
تميز هذا الداء عدة مميزات منها على الخصوص:

أ- ارتفاع جلوكوز دم الفرد الصائم أكثر من 8 ساعات عن المعدل الطبيعي 126 مجم/دل المحدد باتفاق WHO, (1998) في اختبار مكرر لمرتين. و يرتبط بهذا النوع الثاني زيادة

في تخليق دهون جديدة Novo lipogenèse و انخفاض هدم الأحماض الدهنية Rubin et. al., (2006)

ب- جروح الأوعية الدموية الضيقة و الواسعة خاصة أوعية العين و الكلى.

ج- الاعتلال العصبي الذي يصيب عادة الأعصاب المحيطية Baynes, (1991).



الشكل (1) مخطط يوضح فرضية حدوث داء السكري النوع الثاني (Opara, 2004).

من الممكن أن تكون بداية ظهور داء السكري النوع الثاني، من ارتفاع مستوى الدهون في الدم، التي تؤدي بدورها إلى فرط إفراز الأنسولين، الذي يقلل من عدد مستقبلاته و تأثيره. مما يتسبب في انخفاض قدرة تأثريه، و من ثم ارتفاع مستوى الجلوكوز في الدم Gavin et al., (1974) و (De Fronzo,. 1988).

و من الأعراض المميزة لداء السكري يمكن ذكر ما يلي:

كثرة التبول Polyurie العطش الشديد، و كثرة شرب الماء Polydipsie. Sailaja et al., (2003) ,Celik et al., (2002) (ADA; 2005).

- نقص الوزن Perte de poids (Quinn, 2002) ,Sindhu et al., (2004).
- تشويش في النظر Perturbation de la vision (Wolff, (1993
- نقص و تخلف النمو عند الأطفالRetardement de la croissance
- زيادة قابلية الإصابة بالإلتهابات الميكروبية.
- الشعور بالتعب و الإرهاق و الدوخة)دوار(و الضعف الجنسي.

أ – الدهون

تشتمل الدهون على المكونات الرئيسية ذات الإرتباط بأيض الجلوكوز في الجسم، و التي بعجز أيضها تنتج عنها مضاعفات خطيرة على صحة المصاب بداء السكري، أهمها الجليسريدات الثلاثية TG و الكولسترول، و نواقلهما البروتينية، الليبوبروتينات عالية الكثافة HDL و الليبوبروتينات منخفضة الكثافة LDL التي تصاحبها تشوهات في شكل الجين المسؤول على إنتاجها (Rubin et al., 2006).

ب – جليسريدات الدم الثلاثية

عبارة عن أحماض دهنية مرتبطة بروابط أستيرية بالكحول الثلاثي الجليسرول، و هي المخزون الطاقوي البديل للجلوكوز، و من ثم فاضطراب تمثيلها سوف ينعكس على إمداد الجسم بالطاقة (Scanu, (1965 و Fredrickson et al., (1967)، مما يؤدي إلى ارتفاعها المفرط و الذي يعبر عنه بـــ Hypertriglycéridémie > 150 مغ/ دل من مصل الدم. و يعد عجز تمثيل الجليسريدات الثلاثية من عوامل الخطر المرتبطة بإصابة تصلب الشرايين و الأعراض القلب وعائية.(Phillips et al., (2004 و Taskinen, (2003). يرتبط

أيضها بمدى ضبط أيض الجلوكوز في الجسم Bennion, Grundy, (1977)، حيث لاحظ Alavaikko et al., (1973) إرتفاعا معنويا للجليسريدات الثلاثية على مستوى الأنسجة في حلمات العضلة القلبية عند الذكور و الإناث (8-12 ± 0-54 mg/g) و (6-85 ± 5-66 mg/g) على التوالي، مما يبين تأثر هذه النوعية من الدهون باضطراب أيض الجلوكوز حتى على مستوى الأنسجة.

و يعتقد من جهته Chen et al., (1979) أن ارتفاع مستوى الجليسريدات الثلاثية في بلازما المصابين بداء السكري يعود لخلل في انتقال الليبوبروتينات من البلازما، حيث تعتبر هذه الحالة شاذة عند انخفاض نشاط أنزيم Lipoprotéine lipase.

كما أكد من جهتهم كل من Stampfer et al., (1996) و De Man et al., (1996) أن الإرتفاع المفرط و المستمر للدهون بعد التغذية يعد من أهم مميزات خلل أيض الدهون في داء السكري، المسبب لحالة الإجهاد التأكسدي، و من ثم يعتبر أهم عوامل خطر الإصابة بالمضاعفات الوعاء قلبية و عجز وظيفة الخلايا الطلائية الوعائية Tushuizen et al., (2005).

أما ضبط الأيض عند المصابين بداء السكري يعمل على التخفيض من الجليسريدات الثلاثية البلازمية Bassi et al., (1996). كما يرتبط الإرتفاع المفرط للدهون بعد التغذية عند المصابين بداء السكري النوع الثاني حسب دراسة Evans et al., (2000

بإنتاج البروتينات الناقلة للدهون المسببة لتصلب الشرايين، الإجهاد التأكسدي و عجز وظيفة النسيج الطلائي المبطن للأوعية الدموية.

و في أحدث الدراسات الجزيئية (Phillips et al., (2004، يتبين أن التعدد الشكلي على مستوى الجين 493G/T- يرتبط بالتغيرات لكل من VLDL و LDL عند المصابين بداء السكري النوع الثاني، الإنخفاض المعنوي LDL-c يبين أن هذا التعدد الشكلي بإمكانه منح خاصية الوقاية ضد تصلب الشرايين عند هذه الفئة من المرضى.

ج- - كولسترول الدم

و هو من المركبات الهيدروكربونية ذات الطبيعة الدهنية، إرتباطه بالبروتينات الناقلة للدهون يجعل منه مركبا مهما في ظهور المضاعفات خاصة منها المرتبطة بداء السكري، حيث يتواجد في الأغشية الخلوية و مع الليبوبروتينات منخفضة الكثافة LDL-c أو مع الليبوبروتينات عالية الكثافة HDL-c، هذه الأخيرة يعبر عنها بالكولسترول الحسن، في حين الأولى الكواسترول السيء.

و يعرف عن HDL-c أنه يقي ضد تطور تصلب الشرايين، أذ يعتبر في حالة داء السكري النوع الثاني أحد أسباب حدوث الأعراض القلب-وعائية Maladies cardiovasculaires بسبب ضعف قابلية أيضه مقابل أيض أو إستقلاب الفوسفوليبيدات المتأكسدة التي يمكن أن تؤدي إلى حدوث تطور الأعراض القلب-وعائية عند المصابين بداء السكري عديمي الإصابة بالشرايين التاجية القلبية(Mastorikou et al., (2006. و بين

كل من Durrington, (1994) و Taskinen, (2003) في دراسات سابقة أن HDL عند المصابين بداء السكري عاجز عن نقل الكولسترول عكسيا و قليل النشاط المضاد للأكسدة.

يعرف عن النوعين من داء السكري I و II إنخفاض في مستوى أنزيم PON 1 Mackness, (1998) و Boemi et al., (2001) خاصة في النوع الثاني المصحوب بمضاعفاته Mackness, (2000)، حيث يعرف عن هذا الأنزيم المرتبط بـــ HDL أنه المسؤول الأول عن الخاصية المضادة للأكسدة لهذا الأخير بتعطيله لأكسدة LDL Shih, et al, (1998) ,Watson et al., (1995) و (Aviram, 1999).

يعتبر كل من الـــ TG و الكولسترول عاملين كيميائيين حيويين مهمين في تفعيل حدوث داء السكري، حيث يعتبران عنصرين من عناصر Syndrome métabolique التي تساهم في نشوء داء السكري عند البالغين (Isomaa et al., 2001).

و من الإهتمامات ذات الصلة بالمكونات الدهنية خاصة الكولسترول، و داء السكري النوع الثاني، هو التكفل التام المتعدد الجوانب المتخذ مع حالة مقاومة الأنسولين الناتجة عن السمنة و التي يتبعها إضطراب مضاعف في أيض الدهون عند المصابين بداء السكري (Isomaa et al., 2001),.

و مثل الجليسريدات الثلاثية، يرتبط أيض الكولسترول بمدى ضبط جلوكوز الدم، حيث لاحظ Alavaikko et al., (1973) ارتفاعا بدلالة غير معنوية عند المصابين بداء السكري من الجنسين الذكور و الإناث في حلمات العضلة القلبية.

د - فوسفولبيدات الدم:

تكتسي هذه المجموعة من الدهون أهمية خاصة كونها لا تلعب دورا طاقويا بل بنائيا، و من ثم فتأثيرها ينعكس على التراكيب الحيوية الأساسية كالأغشية البيولوجية.

تبين دراسات سابقة (Podrez et al., (2002 a), Podrez et al., (2002 b و Friedman et al., (2002)، أن كميات هامة من الفوسفولبيدات غير المؤكسدة ترتبط بالبروتينات أثناء تفاعلات الأكسدة الدهنية، كما أن الأحماض الدهنية للفوسفولبيدات المتواجدة على سطح البروتينات اللبيدية المتأكسدة يمكنها أن تعمل كمشابك تصل هذه البروتينات بسطح الخلية، مؤدية إلى نشوء الإجهاد التأكسدي و تراكم الدهون داخل الخلية (Januszewski et al., 2005).

و أشار (Hu et al., (1994 في دراسة تجريبية، إلى تأثر الفوسفولبيدات النسيجية و الأحماض الدهنية المرتبطة بها، بمدى طول مدة المرض، حيث أظهرت مدة 8 أسابيع من الإصابة بداء السكري التجريبي تغيرات عميقة في تركيب الأحماض الدهنية على مستوى فوسفولبيدات عديد الأنسجة منها الكبد، الكلى و المخ. و لاحظ(Bassi et al., (1996 من جهته، أن الكيتونية)زيادة الأجسام الكيتونية (أثناء داء السكري ترتبط بالإنخفاض المعنوي في محتوى الأحماض الدهنية n-6 عديدة عدم التشبع للفوسفولبيدات البلازمية.

و من ثم يبدو أن تأثر الفوسفولبيدات أثناء داء السكري لا يكون على تركيزها في البلازما فحسب، بقدر ما يكون على حساب محتواها من الأحماض الدهنية و نوعيتها.

فبالفعل أشار كل من (Huang et al., (1984، (Chattopadhyay et al., (1992 و et al.,

Ruiz-Gutierrez (1993) أن مستوى الحمضين الدهنيين AA و DHA ينخفض في الفوسفولبيدات الغشائية لعديد الأنسجة منها كريات الدم الحمراء لدى الجرذان المصابة.

و يؤكد (1999) Sima, Sugimoto, تغير طبيعة أيض الأحماض الدهنية الأساسية خلال الإصابات الفيزيوباثولوجية العصبية لداء السكري، و يفسر (2003) Brenner, و Raccah et al., (1997) ذلك بسبب عجز في نشاط أنزيمات Désaturase، مما يترتب عنه إنخفاض في الإستيداع الحيوي من الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع، و ينعكس هذا حسب (2004a) Coste et al., و (2004b) Coste et al., على تركيب الأحماض الدهنية في الفوسفولبيدات الغشائية، مما يتسبب في الضرر بوظيفية البروتينات الغشائية الذي لاحظه أيضا (1980) Faas, Carter,.

لنوعية الأحماض الدهنية الغذائية إرتباطا بخطر حدوث داء السكري، حيث أشارت دراسة (2007) Hödge et al., إلى الإرتباط الإيجابي لحمض Stéarique و الأحماض الدهنية المشبعة بداء السكري، إن نسبة الأحماض الدهنية المشبعة / غير المشبعة، في الوجبة الغذائية يرتبط إيجابيا بحدوث داء السكري.

و تعتبر الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع المكونة للفوسفولبيدات من أهم المشتقات الدهنية الحساسة للأكسدة بالأنواع الأكسيجينية النشطة (1991) Esterbauer et al., و (1999) Marnett,.

و من المعلوم أن الحمية الغذائية توصف كعلاج أولي في بداية ظهور ارتفاع جلوكوز الدم، و من ثم فإن تأثير مكوناتها المختلفة ينعكس على أيض برك Pools مختلف العناصر الأيضية الطاقوية و البنائية كالسكريات، الدهون و البروتينات و من هنا يمكن تأكيد تأثير النوعية الغذائية على تطور أو منع تطور مضاعفات أي مرض أيضي كداء السكري. و فيما يلي مثالا واقعيا على محتوى وجبة غذائية عند سكان ضفتي البحر الأبيض المتوسط التي ينتمي إليها الأفراد موضوع الدراسة، حسب Trichopoulou et al., (2000) و هي الوجبة الغذائية التقليدية، تشتمل على ثمانية مكونات رئيسية هي:

1- نسبة عالية من الدهون أحادية عدم التشبع. 2- إستهلاك معتدل من الكحول.
3- إستهلاك عالي من الخضار. 4- أستهلاك عالي من الحبوب (القمح، الشعير، الرز و الذرة).
5- أستهلاك عالي من الفواكه. 6- أستهلاك عالي من النباتات.
7- إستهلاك منخفض للحوم و مشتقاتها. 8- إستهلاك معتدل للبن و مشتقات الألبان.

3. علاقة داء السكري ببعض العناصر الصغرى:

لبعض العناصر المعدنية الصغرى إرتباطا، و لو أنه غير مباشر، في إحداث داء السكري، لعلاقتها خاصة ببعض الجزيئات الحيوية في الجسم كبعض البروتينات مثل الأنسولين و الأنزيمات، حيث تدخل ضمن تراكيبها الأساسية.

فيلعب عنصر الزنك مثلا، بحكم غياب خاصية الأكسدة و الإختزال، دورا هاما في الجسم، فهو من جهة يدخل كعنصر بنائي في أحد أنزيمات النظام المضاد للأكسدة (SOD)، و من جهة أخرى يساهم في تخليق، تخزين و إفراز الأتسولين، و من ثم تم

وصف نقصه طبيعيا في داء السكري بنوعيه (DiSilvestro, (2000، و لذلك نجد أن لعنصر الزنك علاقة قوية بأيض بعض المكونات الغذائية المكونة للنظام الغذائي منها ما يلي:

يؤثر داء السكري على توازن الزنك في عدة أشكال حيث كشفت عدة دراسات ، (Walter et al., (1991 و (Honnorat et al., (1992 أن طرح الزنك في البول كان أعلى عند مرضى داء السكري بنوعيه الأول و الثاني، و هي نتيجة حتمية لارتفاع الجلوكوز في الدم (Chausmer, (1998، بينما لاحظ (Car et al., (1992 إنخفاضا معنويا في زنك الدم عند النوعين من داء السكري مقارنة بالسليمين دون فرق يذكر فيما بين النوعين، دراسة أخرى (Narang et al., (1997 بينت أن مستوى زنك الدم كان منخفضا عند عينة من 30 مصابا بداء السكري يعانون من اعتلال الشبكية مقارنة مع < 100 فرد سليم.

و يفسر (Brandao-Neto et al., (2003 أن النخفاض زنك الدم عند مرضى داء السكري قد يعود لإطراحه المفرط مع البول hyperzincurie أو قلة امتصاصه في الأمعاء، أو الحالتين معا.

إن دور الزنك في علاج داء السكر ي يبقى غير واضح، فبعض الدراسات (Tobia et al., (1998, (Chen et al., (1998, (Anderson et al., (2001 و Brandao-Neto et al., (2003) بينت أن إضافات الزنك عند المرضى بداء السكري كان لها تأثير إيجابي على ميل جلوكوز الدم إلى العودة للتركيز الطبيعي، في حين لم يحدث نفس مفعول للزنك مع الأرانب المصابة بداء السكري تجريبيا (Duzguner, Kaya, (2007).

يلعب عنصر الزنك دورا مهما في عملية تخليق، تخزين و إطراح هرمون الأنسولين، و يعود للزنك تشكل البنية الفراغية السداسية للأنسولين Intégrité conformationnelle (Chausmer, (1998)، (Brandao-Neto et al., 2003).

جدول)1(محتوى بعض الأطعمة من الزنك(Murphy et al., 1975)

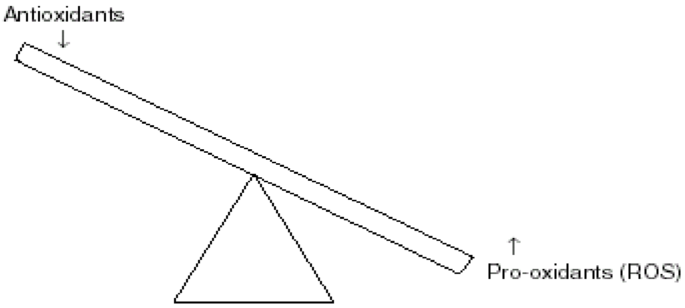
أطــعمة	Mg / 100g
البطاطس	0.30
فاصوليا مغلية	1.00
بازلاء مغلية	0.70
بيض ني كامل	1.00
سمك	1.00
كبد العجل	6.10
أرز مغلي كامل	0.60
زبدة	0.10
قــهوة	0.60

جدول)2(تركيز الزنك داخل مختلف الأنسجة و الأعضاء عند فرد بالغ سليم يزن 70 كلج (Jackson, 1989).

النـــسيج	الكلي للجسم% ZN	ZN (جم/العضو)
العضلة	57	1.53
العظم	29	0.77
الجلد	6	0.16
الكبد	5	0.13
المخ	1.5	0.04
الكلى	0.7	0.02
القلب	0.4	0.01
الشعر	0.1	<0.01
البلازما	0.1	<0.01

4.داء السكري النوع الثاني و الإجهاد التأكسدي:

يعرف الإجهاد التأكسدي بـأنه اختلال التوازن بين أنظمة الإنتاج المفرط للأنواع الأكسيجينية النشطة (ROS) (القوة المؤكسدة) و أنظمة الدفاع المضادة لها أو مضادات الأكسدة و هي نوع من المركبات العضوية كبعض أنواع الفيتامينات C, E, A و β carotène و عناصر معدنية نادرة كالزنك و النحاس موجودة في الأنسجة بصورة طبيعية، تعرف عادة بمانعات التأكسد Halliwell, Gutteridge, (1999) و Opara, (2002)، Habdous et al., (2003) Bonnefont-Rousselot et al., (2004b) (**الشكل 1**)، و يرجع ذلك الاختلال إما إلى تنشيط الآليات الأولى أو إلى تثبيط الآليات الثانية، فتنشيط آليات إنتاج الجذور الحرة و تقليل مضادات الأكسدة يحدث عنه حالة إجهاد تأكسدي Halliwell, Gutteridge, (1999) ,Baynes, Thorpe, (1999) Hartnett et al., (2000) و Ahmed, (2005). مما يؤدي إلى تراكم الجذور الحرة داخل الخلايا التي لها قدرة عالية على إتلاف الأنسجة الحية من خلال مهاجمتها للمكونات الخلوية خصوصا اللبيدات، البروتينات و ADN Pitozzi et al., (2003)، مؤثرة بذلك على وظيفة الخلية، حيث تحرض الموت الموضعي للخلايا، كما قد تثبط التمايز أو التكاثر الخلوي، مما يؤدي إلى تطور العديد من الأمراض كالسرطان، مرض القلب، داء السكري، الشيخوخة المبكرة، التسمم الجنيني و غيرها و هذا ما تنصب عليه الدراسات خلال العشرين سنة الماضية. (Opara, 2004).



شكل (2): توضيح لترجيح زيادة الجذور الحرة، و هبوط مضادات الأكسدة بنوعيها . (Opara, 2004).

يرد مصطلح الإجهاد التأكسدي في عديد الحالات البيولوجية منها الكيميائية الحيوية، الفيزيولوجية و الباثوفيزيولوجية التي بينها Paniker et al.,(1970) عند دراسته لتأثير نقص أنزيم Glutathione reductase على تنشيط دورة تحويل السكريات السداسية أحادية الفوسفات (دورة البنتوزفوسفات) في كريات الدم الحمراء. ويقترح Azzi, (2007) من جامعة بوسطون الأمريكية أن يقتصر مصطلح الإجهاد التأكسدي على تخمين تحليلي مختبري لتعريف حالات الجزيئات، من حيث طبيعتها، كثافتها و موقعها.

و يعتقد أن الإجهاد التأكسدي يساهم في نشوء عديد الأمراض و المضاعفات خصوصا منها المصاحبة لبعض الأمراض كداء السكري، فنجد منها الإعتلال العصبي Neuropathy Kirkinezos, Moraes, (2001) Vincent et al., (2004) و و الإعتلال الكلوي nephropathy Daisuke et al., (2003) و مضاعفات الأوعية الدموية كتصلب الشرايين Jain et al., (1989), Dominguez et al., (1998), (Aragno et al., 2000)**.**

و في دراسة للتأثير النوعي للإجهاد التأكسدي، فإنه يستهدف أيضا الخلايا β في جزر لانجرهانز مما يؤدي إلى رداءة إنتاج هرمون الأنسولين Dennery, (2006)، و من

ثم المساهمة في رفع تركيزات الجلوكوز في الدم ما يؤدي إلى اضطراب أيضه و تخليق المزيد من الجذور الحرة (Kinlaw et al., (1983), Golik et al., (1993), Agget, Comerford, 1995).

أحدث طريقة طورت لاختبار الإجهاد التأكسدي المصلي، هي استخدام D-Roms test، بسبب تحول بعض مضادات الأكسدة anti-oxydants إلى بادئات أكسدة pro-oxydants، داخل الأوساط الحيوية، لأسباب فجائية (Cornelli et al., 2001). يكشف هذا الإختبار على المشتقات الأيضية للأكسجين النشط (D-Roms).

تتحول المركبات الهيدروبيروكسيدية Hydroperoxides إلى جذور تؤكسد المركب الكيميائي N,N-diethyl-para-phenylendiamine الذي يمكن الكشف عنه من خلال القياس الطيفي كوحدة حسابية تعرف بـــ: .U.CARR.

حيث 1 U.CARR = ..0.8 mg/L hydrogen peroxide

وتتراوح U.CARR عند الشخص العادي السليم بـــين 250 إلى 300، أما خارج هذا المجال فيدل ذلك على أن هناك إختلال في نسبة Pro-oxidant / Antioxidant.

من المؤشرات البيولوجية ذات الأهمية التي تتأثر بالإجهاد التأكسدي نجد الهيموغلوبين الذي يرتبط بجزيئة الجلوكوز في تفاعل غير أنزيمي.

الهيموغلوبين المجلكز: HbA_1C

الأهمية الفيزيوباثولوجية:

يقصد بالهيموغلوبين المجلكز مجموع جزيئات الهيموغلوبين المتحورة بتثبيت جزيئة جلوكوز، في تفاعل غير أنزيمي على الوظائف الأمينية لبروتين الغلوبين، مما يغير من خصائص الهيموغلوبين بحسب موقع الإرتباط. و هذا يمكن استغلاله في الكشف و تفسير بعض نتائج التحاليل البيولوجية.

و يخص النوع HbA_1C عندما يتم تثبيت جزيئة سكر الجلوكوز على النهاية الأمينية الطرفية للسلاسل β للغلوبين، مما ينتج عنه تغيير في شحنة جزيئات الهيموغلوبين.

تضم فصيلة HbA_1C غير المتجانسة أنواعا مختلفة تتميز بنوع الجزيئة المرتبطة بها، منها:

1 - HbA_1a1 عندما يرتبط بالهيموغلوبين جزيئة fructose 1-6 bisphosphate.

2 - HbA_1a2 عندما يرتبط بالهيموغلوبين جزيئة glucose-6-phosphate.

3 - HbA lb عندما يرتبط بالهيموغلوبين جزيئة pyruvate.

4 HbA_1C عندما يرتبط الهيموغلوبين بجزيئة glucose على النهاية الطرفية الأمينية للحمض الأميني Valine للسلاسل β.

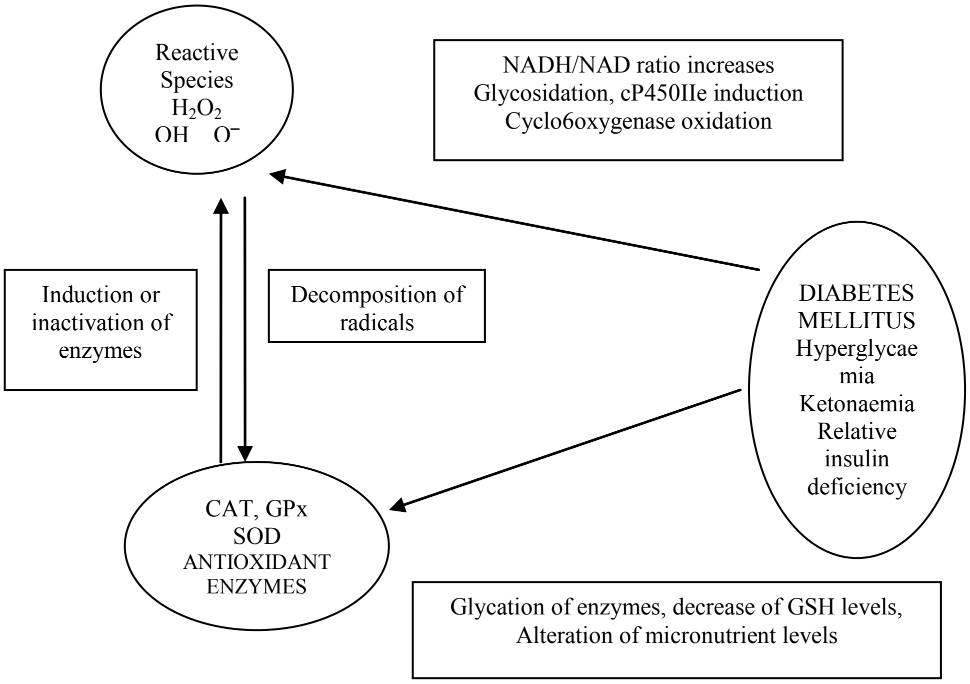
و الـــ HbA_1C يوفر القاعدة الأساسية لعديد التحاليل المعملية ذات الفائدة السريرية للهيموغلوبين المجلكز خلال الإصابة بداء السكري لمعرفة مدى انتظام العلاج خلال الثلاثة شهور الأخيرة .

فقد تبين مثلا أن هناك علاقة معنوية بين الهيموغلوبين المجلكز HbA_1C و الإجهاد التأكسدي، خصوصا و أن الأول يعتبر مؤشرا مميزا لحالة الجلوكوز في الدم عند المصابين بداء السكري (Sacks et al., (2002 و (Gorus et al., 2006).

و لقد بينت دراسة (Ceriello, (2005 أن تأرجح مستويات الجلوكوز بين الإرتفاع و الإنخفاض عند مرضى داء السكري، يعد منشطا قويا و هاما لإحداث الإجهاد التأكسدي، و يبين (Firoozrai et al., (2007 أن الإرتفاع المفرط في جلوكوز الدم يؤدي إلى تنشيط أنزيم Aldose reductase واستنفاذ القدرة الإختزالية GSH التي بدورها تحدث اختلالا في نسبة GSH/GSSG الفيزيولوجية)100/1(و من ثم تضاعف من حالة الإجهاد التأكسدي في الخلايا.

و يعتقد (Fabryova, Cagan, (1995 أن داء السكري يمثل حالة إرتفاع للإجهاد التأكسدي بسبب زيادة فوق الأكسدة و الإرتباط غير الأنزيمي للجلوكوز بالبروتينات و انخفاض مخزون الجسم من مضادات الأكسدة، و لذلك يرى كل من Kubisch et al., (1997)، Hotta et al., (1998)، Xu et al., (1999) و Chen et al., (2001) أن مرض داء السكري يمكن الوقاية منه بالزيادة في تناول مضادات الأكسدة.

أما Penckofer et al., (2002) يرى أن الأفراد المصابين بداء السكري يكونون أكثر عرضة للإجهاد التأكسدي، بسبب أن الإرتفاع المفرط لجلوكوز الدم يحدث نفاذا في مضادات الأكسدة الطبيعية و يسهل بالتالي إنتاج الجذور الحرة.



الشكل)3(: التداخل المفترض بين داء السكري و الإتزان المضاد للأكسدة (Szaleczky et al., 1999).

فمثلا تمت دراسة نوعين من المرضى، بداء السكري في وجود Micro albuminurie، و مرضى بداء السكري في غياب Micro albuminurie، فكان الإجهاد التأكسدي أكثر وضوحا عند المرضى الأولين (Alamdari et al., 2007).

تجرى على المرضى بداء السكري دراسات عديدة لتشخيص التأثيرات المختلفة لموانع التأكسد التي تمكن من علاج مستقبلي Vincent et al., (2004) لمضاعفات داء السكري بنوعيه)Scott, King,)2004، Segal, (2004) و Davi et al., (2005)، كإعطاء

علاج مكمل (Davie et al., (1992، Robertson et al., (2003) يحتوي على المغذيات الصغرى (Asgary et al., (2002 المانعة للتأكسد وهو ما يبين التداخل الحاصل بين الإجهاد التأكسدي و داء السكري الشكل 3)((Szaleczky et al., 1999).

إن أغلبية هذه الدراسات بينت أن المغذيات الصغرى micronutrients، قد تكون فعالة في تخفيض الإجهاد التأكسدي و الإرتفاع المزمن للجلوكوز في الدم ، و Baction, Woodman, (1990) Halliwell, Gutteridge, (1999) و Robertson, (2006) عند مرضى داء السكري.

هناك إثنان من الأنظمة المانعة للتأكسد، المغذيات الصغرى micronutrients و هي خارجية المصدر و الإنزيمات و القدرة الإختزالية GSH هي داخلية المصدر، و كلا النظامين يرتبط بسلسلة تفاعلات كيميائية حيوية، تعمل على تحطي العناصر الأكسيجينية النشطة ROS (Kajanachumpol, Mahaisirivodom, 1997).

قد يلعب الإجهاد التأكسدي دورا ، حتى وإن كان ثانويا ، في إحداث مرض داء السكري (Yadav et al., (1997، فهذا الدور يشكل اهتماما كيميائيا حيويا يلجأ إليه عند الحاجة كاستعمال مانعات التأكسد الخارجية مثل الفيتامينات و العناصر المعدنية النادرة كعلاج مكمل لداء السكري و التقليل من الإجهاد التأكسدي Catelle-Lowson, FitzGerald, (1996) West, (2000), Devarage et al., (2002), Hodgson et al., (2002)، و Ceriello, (2003), وهكذا يساعد على السيطرة على المستويات المرتفعة من جلوكوز للدم عند المرضى مما استدعى إنتاج خليط متزن من صيغة مضادات الأكسدة و

مضادات داء السكري للإضافة يطلق عليها Akesis (2002) ,Opara. و بالمقابل فقد تبين زيادة تراكم ROS و الملوندألدهيد MDA عند مرضى داء السكري (Evans et al., (2002, Turk et al.,)2002(و Komosińska–Vassev et al., (2005) .

و أبرزت الدراسات من ناحية أخرى أن من أسباب نشؤ داء السكري أيضا، هو عجز في وظيفة الميتوكندري حسب Simmons, (2006) الذي يؤدي بدوره إلى زيادة إنتاج الأنواع النشطة الأكسيجينية ROS، تحدث بدورها الإجهاد التأكسدي، بسبب ضعف الأنظمة المضادة لها، و هو ما يميز خاصة خلايا β في جزر لانجرهانز Lenzen et al., (1996) و Tiedge et al., (1997). من جهة أخرى خلايا β تعد من بين مجموع الخلايا التي تمتلك مستويات منخفضة من النظام الداخلي المصدر المضاد للأكسدة و Grodsky et al., (1982)، Lenzen, et al (1996) West, (2000) و (Robertson, 2004).

إن زيادة خطر تفاعلات فوق الأكسدة عند المصابين بداء السكري و ما يتبعها من حدوث إجهاد تأكسدي و مضاعفات التلف الخلوي تمت معاينتها Armstrong, (1996) Giugliano et al., (1996)، إلا أن هذا لم يتم التطرق إليه عند فئة المرضى بداء السكري على الأقل في منطقة الشرق الجزائري، باستثناء ما تمت دراسته عند النساء الحوامل بما فيهن المصابات بداء السكري Lachili, (2001). إلا أنه يبقى غير كاف مادام لم يتطرق إلى العنصر الذكري.

مع أن عديد الدراسات، أشارت إلى إمكانية ارتباط التشوه الخلقي خلال المرحلة الجنينية، بسبب زيادة إنتاج أنواع الجذور الأكسيجينية داخل أنسجة جنين المرأة الحامل المصابة بداء السكري (Eriksson et al., (1991.

حيث لاحظ (Carone et al., (1993 إنخفاضا تدريجيا في نشاط أنزيم SOD لدى المرأة الحامل المصابة بداء السكري النوع الثاني مشيرا بذلك إلى احتمال إمكانية زيادة عمليات فوق الأكسدة للأغشية الحيوية و من ثم نشوء التدمير الخلوي. مما يبين أهمية مراعاة حالة الإجهاد التأكسدي لدى مرضى داء السكري خصوصا الحالات الإستثمائية كالحمل مثلا.

5. الأوعية الدموية و الجذور الحرة في داء السكري:

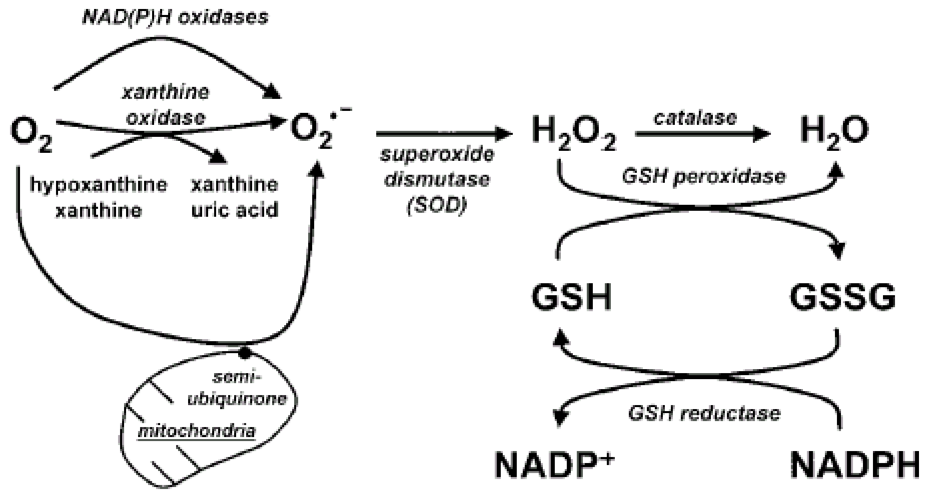
هناك علاقة وطيدة بين الإنتاج المفرط لفوق أكسيد الأكسجين $O_2^{\bullet-}$ عبر السلسلة التنفسية في الميتوكندري و العطب الحاصل للأوعية الدموية، حيث يفترض أن تكون آلية من الآليات الرئيسة (Brownlee, (2001, Brownlee, (2005. و تؤكد هذه الفرضية دراسات إحصائية عديدة (Hanefeld et al., (1996, The DECODE, (1999، Bonora, Muggeo, (2001) Hanefeld et al., (2004) و Cavalot et al., (2006).

تؤثر الجذور الحرة على وظيفة الأوعية الدموية بنوعيها الضيقة و الواسعة في داء السكري (West, (2000) Turk et al., (2002)، Bonnefont–Rousselot, (2002)، و من ثم ترى عديد الدراسات (Ceriello et al., (1991)، Ido et al., (1997) و Siman, Eriksson, (1997) ان العلاج بمضادات الأكسدة غير الأنزيمية يقلل من مضاعفات داء السكري بما

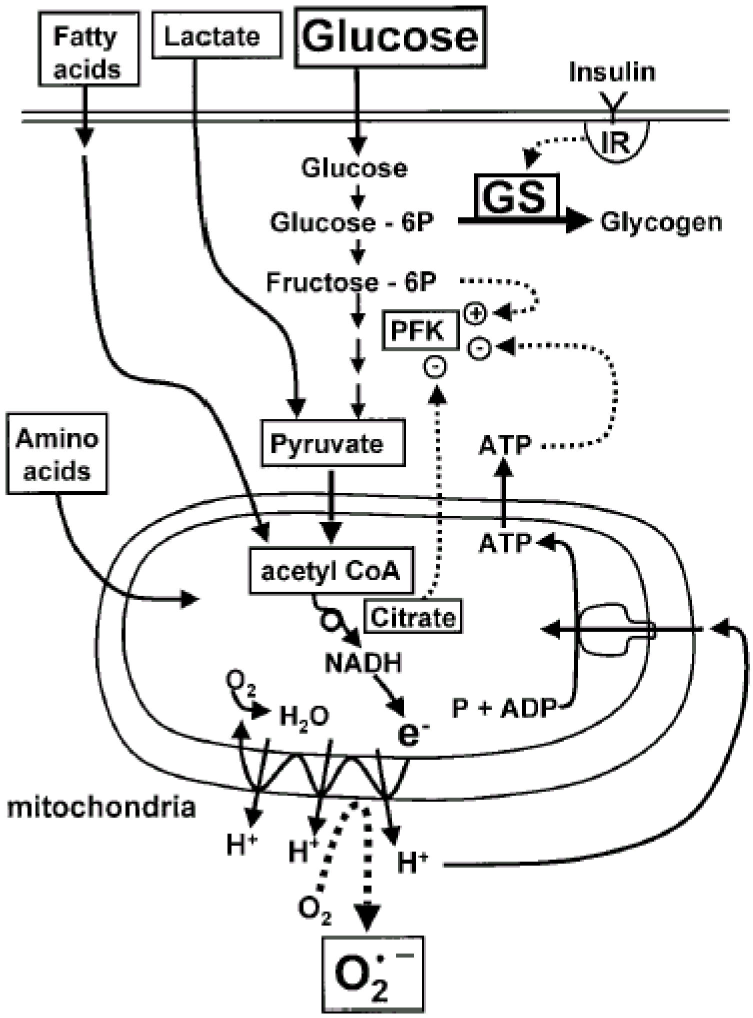
فيها اعتلال الخلايا المبطنة الوعائية و تراص الصفائح الدموية. كما أن الخلل في عمل الأنزيمات المضادة للأكسدة قد يرتبط بالأعراض الباثولوجية في داء السكري Tamai et al., (2006) أهمها القصور القلبي المبكر (Huang et al., (2007. أو نشوء و تطور مرض الكلى في داء السكري (UKPDS Group. 1998 a).

و أكد Wolff, Dean, (1987) و Baynes, (1991) أن التراكيز العالية من ROS تتورط بدورها في إحداث داء السكري. و بالمقابل فإن تثبيت داء السكري يرفع من إنتاج أنواع الأكسجين النشطة ROS Aragno et al., (1999)، Bonnefont–Rousselot et al., (2000), و Robertson; (2004), و يقلل من التخلص منها Yasushi et al., (2005)، هذا ما يبين زيادة تدهور حالة المصاب بداء السكري و ظهور المضاعفات المصاحبة للمرض.

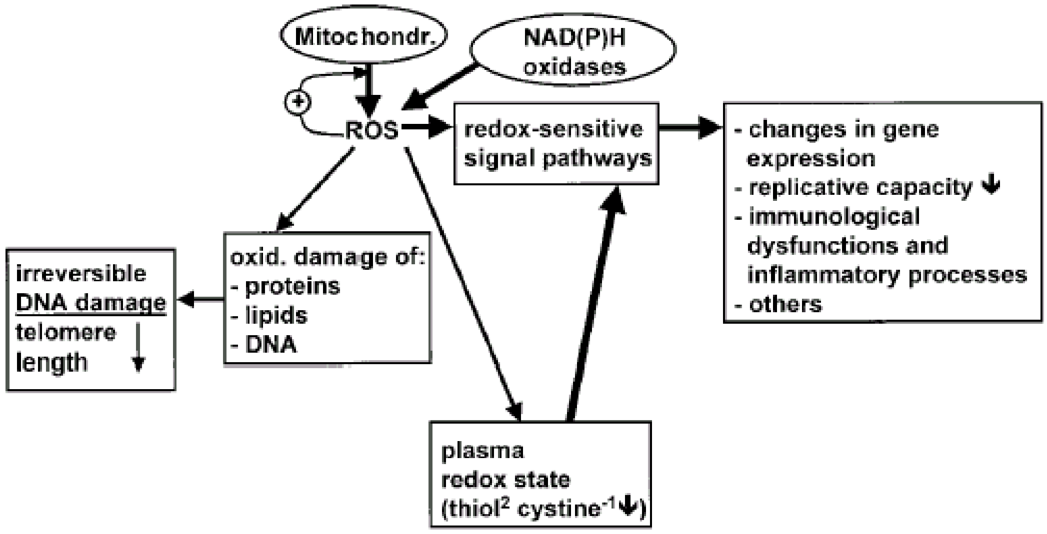
و من ناحية أخرى فإن الإرتفاع في تركيز الجلوكوز في الدم Hyperglycémie يحث الميتوكندريا على إنتاج المزيد من ROS Nishikawa et al., (2000) و Feroza et al., (2006) الشكل (3) Szaleczky et al., (1999). و تنشيطا غير عادي لأنزيم NAD(P)H oxidase Kim et al., (2002) و Inoguchi et al., (2003). الشكل (4) Dröge, (2002) و هو ما يفسر تزامن ارتباط ارتفاع جلوكوز الدم مع زيادة إنتاج ROS في النوعين الأول و الثاني, Atalay, Laaksonen, (2002) بآليات مختلفة و متعددة Sakurai, Tsuchiya, (1988) و (Baynes,1991)



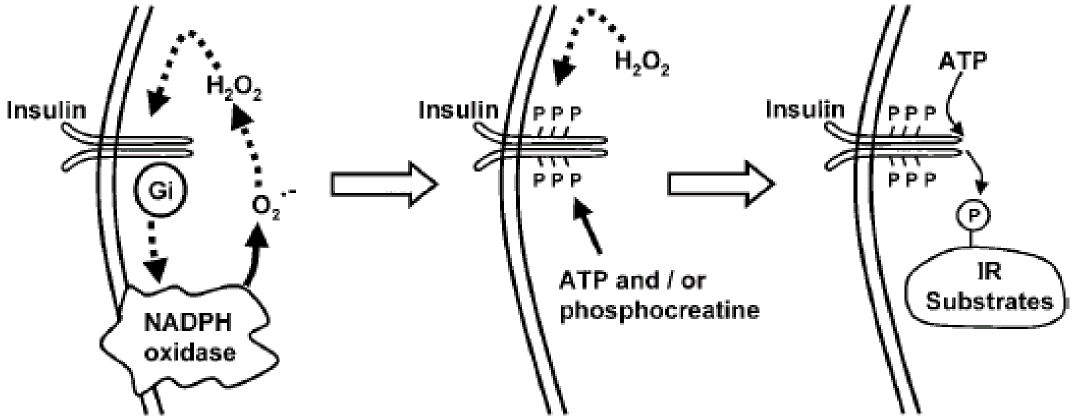
الشكل (4): مختلف مســـارات إنتاج و ترويق ROS (Dröge, 2002)



الشكل (5): تشكيل $O_2^{\bullet -}$ على مستوى مر افق الأنزيم Semiubiquinone في المتوكندري (Dröge, 2002)



الشكل (6): الإنتاج المستمر لــ ROS و الإضطراب في مساراي الأكسدة و الإرجاع هو سبب التدمير التأكسدي (Dröge, 2002).



الشكل (7): دور ROS في تنشيط أنزيم Kinase المستقبل للأنسولين (Dröge, 2002).

6. السعة الكلية المضادة للأكسدة (TAC):

هو مفهوم حديث في تقدير كفاءة الجسم ضد الأنواع الأكسيدينية النشطة (ROS)، تأخذ في الحسبان مصيدات الجذور الحرة، المشابك المعدنية Chélateurs métalliques و الأنزيمات المضادة للأكسدة في البلازما و الخلايا (Wierusz–Wysocka et al., (1995، Opara et al., (1999), Ceriello et al., (1997 b) و مضادات الأكسدة ينتجها الجسم (داخلية المصدر) منها الأنزيم ية Superoxide dismutase, glutathione peroxidase reductase glutathione و Catalase و غير الأنزيمية مثل GSH, flavonoids, bilirubin uric acid أو يحصل عليها الجسم من مصادر خ ارجية مثل المعادن النادرة Se, Mn, Cu Zn, و الفيتامنات A, E ,C و(Irshad, Chaudhuri, (2002.

7 العناصر الأكسيجينية النشطة ROS :

تشمل نوعين من الجزيئات المؤثرة

1 - الأنواع الأكسيجينية النشطة

2 - الجذور الحرة

1.7. مقــدمة

تعرف على أنها جزيئات أكسجينية محضة أو جزيئات عضوية و غير عضوية يكون الأكسجين فيها أو الألكترون المحمول عليه ذو قابلية للتفاعل بنشاط مع جزيئات أخرى و منها ما يعتبر جذرا حرا كما يبينه جدول)3(.

إن المركبات الكيميائية و التفاعلات القادرة على إنتاج الأنواع الأكسيجينية النشطة الممكنة تعرف باسم بادئات التأكسد Pro-oxydants، في حين تعرف المركبات، التفاعلات المخلصة أو المزيلة أو الكابحة لتخليقها أو المضادة لتأثيرها بمضادات الأكسدة، anti-oxydants و تشمل المركبات داخلية المصدر مثل NADH, NADPH, GSH, و بعض الأنزيمات مثل GPx, catalase و SOD و الخارجية المصدر مثل الفيتامين C و الفيتامين A, و E. مما يحدث إتزانا بين المجموعتين Pro-oxydants / antioxydants. و بتقدير السعة الكلية المضادة للأكسدة TAC و مضادات الأكسدة الجزيئية مثل GSH و GPx يمكن أن يفيدنا في تقييم الإجهاد التأكسدي عند المرضى (Firoozrai, et al, 2007).

و في الخلايا، تنتج مثل هذه المركبات الأكسيجينية بصورة طبيعية، إلا أن الميل في زيادتها، بسبب فرط إنتاجها و نقص أو عجز مضاداتها السابقة، يحدث ما يطلق عليه الإجهاد التأكسدي Oxydative stress Ruhe, McDonald, (2001) و هو الذي يكون سببا

في حدوث تدمير هام للخلايا إذا ما كان كثيفا و مستمرا (Dröge, 2002).

جدول)3(يبين مختلف الأنواع الأكسيجينية النشطة حسب (1993) Murray, et al,

ألأنواع النشطة	مضاد ألأنواع النشطة	الصيغة
أكسيجين مفرد	فيتامين E و A β carotène	$^1O_2$
جذر فوق أكسيد	SOD, فيتامين E βcarotène	O_2
جذر الهيدروكسيل		$OH^•$
جذر ألكوكسيل		$RO^•$
جذر بيروكسيل	فيتامين E و فيتامين C	$ROO^•$
فوق أكسيد الهيدروجين	Catalase GPx	H_2O_2
فوق أكاسيد الدهون	GPx	LOOH

2.7. إنتاج العناصر النشطة الأكسيجينية ROS:

تلعب السلسلة التنفسية داخل الميتوكندري دورا أساسيا في الخلية، كونها مسؤولة على تحويل الأكسجين الجزيئي O_2 إلى جريئتي ماء $2H_2O$، هذا التفاعل يستلزم وجود 4 إلكترونات بفضل جهاز معقد مكون من بروتينات إنزيمية تتواجد في الغشاء الداخلي للميتوكوندري. من جهة أخرى تعتبر الميتوكوندري مقرا مهما للطاقة، لأن جزيئة ATP يتم إنتاجها أثناء تفاعل إرجاع الأكسجين، و بالمقابل فإن حوالي 0,4 إلى 4 % من الأكسجين لا يتم تحويلها بشكل جيد إلى H_2O، و يكون ذلك متبوع ا بتسرب إلكتروني يتسبب في نقص أو عيب في السلسلة التنفسية للميتوكوندري.

بالإرجاع أحادى الإلكترون للأكسجين يؤدي إلى ظهور أنواع أكسجينية نشطة و

فعالة تسمح بتشكيل جذور حرة مثل أنيون فوق الأكسي د Superoxide (O_2^- Anion) أو الجذر الحر الهيدروكسيلي $OH^{\bullet -}$ Brownlee, (2005)، مركبات أخرى أكسجينية لا تعتبر جذورا حرة يمكن أن تنتج داخل الجسم مثل: فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، و فوق أكاسيد الدهون LOOH و الأكسجين المنفرد $O_2^{\bullet -}$، يكون هذا الأخير ذو تأثير تدميري إذا ما تواجد في الوسط العضوي بينما يغيب هذا التأثير عندما يتواجد في الوسط المائي، و هذا ما يفسر التخريب الذي يحدثه على مستوى الأغشية الحيوية للخلايا الحية.

إن تشكيل عناصر الأكسجين النشطة يتطلب وجود معدن العبور مثل: الحديد، Fe^{2+} و النحاس Cu^{2+} اللذان يعملان كمحفزين إجباريين incontournables في كيمياء الجذور الحرة. فالجسم إذن ينتج بصفة مستمرة هذه العناصر أو الأنواع النشطة للأكسجين. و بتطور علم البيولوجيا الجزيئي تبين أن الأنواع النشطة للأكسجين لها دور ا لتكسدي مهما بحيث تتصرف بتركيزات ضعيفة أو معتدلة كعوامل تقوم بـــ:

- الدفاع ضد الجراثيم التعفنية (Valko, et al, 2007).
- تنظيم ظاهرة الموت المبرمج للخلايا السليمة و تحولها إلى خلايا سرطانية (Curtin et al 2002).
- تنشيط عوامل النسخ (NFκB ,P38. 11. PKinase) المسؤولة كذلك على تنشيط جينات لها دور في الاستجابة المناعية (Froguel, Velho, 2001).

تعديل الصيغة الجينية للشفرة الوراثية Codant الخاصة بأنزيمات مضادات الأكسدة.

8. الجذور الحرة:

1.8. مقــدمة:

الجذور الحرة عبارة عن ذرة أو جزيىء يتميز بوجود إلكترون منفرد في المدار الخارجي، يولد هذا الأخير مجالا مغناطسيا نتيجة غياب دوران الإلكترون الثاني في الاتجاه المعاكس، مما يجعل هذا التشكيل الكيميائي قابلا للتفاعل بنشاط أعلى من الذرة أو الجزيء المنحدر منه. تعرف McCord, Fridovich سنة (1969) على الجذور الحرة داخل الأوساط البيولوجية عندما اكتشفا أنزيم SOD. و عرفها Herzberg(1971), على أنها الذرة، الجزيء أو الأيون غير المستقر كميائيا. بالإضافة إلى هذا النوع من الجذور، توجد الأنواع الحرة الأكسيجينية، التي تمثل النسبة العظمى من مجموع الجذور الحرة (Miller, et al, 1990).

إذا أنتجت الجذور الحرة بكميات معتبرة فإن تأثيراتها تكون سلبية خاصة بتحريضها لظاهرة الموت المبرمج للخلايا السليمة، أو بتنشيطها لمختلف الشفرات الوراثية، المتحكمة في تخليق البروتينات، ومن جانب آخر و بالنظر إلى طبيعتها الفيزيائية، وخاصيتها التفاعلية فإن الجذور الحرة يمكن أن تولد أضرار خلوية تعرف بتأثيرات الإجهاد التأكسدي، Ridnour, et al, (2005) ,Valko, et al, (2001) Kovacic, Jacintho, (2001) و (Jakus, 2000) منها:

- تدمير على مستوىADN

- تدمير بعض البروتينات و الإنزيمات و الدهون.

- أكسدة السكريات أكسدة ذاتية.

- تحريض ميكانيزمات فوق الأكسدة الد هرنية Lipoperoxydation التي تحدث للأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع Acides gras polyinsaturés.

- ي سبب الإجهاد التأكسدي داء السكري ، حيث تبين أن الجذور الحرة تتسبب في تخريب خلايا β لجزر لانجرهانس في النوع الأول (2006) ,Dennery و (2000) ,.Bonnefont–Rousselot et al، و رداءة إنتاج، إطلاق و عمل الأنسولين في النوع الثاني (West, 2000).

- إحداث تجلكز للبروتينات و إنتاج مركبات متقدمة التجلكز (AGEs) تتوضع داخل الأوعية (1987) ,Wolf, Dean، منتجة الجذور الحرة، مدمرة بذلك الدهون الوعائية ، محدثة في النهاية إحدى المضاعفات النوع يقل داء السكر و هي تصلب الشرايين (1984) ,Brownlee, et al و .(Mullarkey, et al, 1990)

أما التراكيز العالية من ROS فإنها تؤدي دور وسائط هدمية شاملة للتراكيب الخلوية، الأحماض النووية، الدهون و البروتينات (2006) ,Valko, et al و ,Irshad, Chaudhuri (2002. خلايا β (1998) ,Rabinovitch, Skyler و (Oberley, 1988).

و يعزي Serafini, Del Rio, (2004) إبطال مفعول و إزالة الجذور الحرة إلى مدى ارتباط هذه الأخيرة بالآليات الدفاعية المضادة للأكسدة.

2.8. مصادر الجذور الحرة:

تنقسم مصادر الجذور الحرة إلى:

أ – مصادر خارجية:

الغذاء و البيئة أو المحيط و هي كثيرة و متنوعة أهمها:

– الإشعاع الكهرومغناطيسي مثل: الأشعة فوق البنفسجية، أشعة X و التعرض المطول لأشعة الشمس.

$$H_2O_2 \xrightarrow{\text{UV Light}} OH^* + OH^*$$

– معادن الانتقال Fe^{2+} و Cu^{2+}.

– الدخان الناتج عن احتراق) الخشب، التبغ و الغازات الصناعية(.

– المواد الكيميائية منها: مضادات طفيلية: Métronidazole.

– بعض الأدوية Adriamycine يصنف كدواء مضاد للسرطان.

– Phénacétine يعتبر كمضاد للالتهاب غير سترويدي.

– مبيدات الأعشاب الضارة، مبيد للطفيليات الحيوانية و النباتية من أنواعه DDT.

– التسمم الناتج عن بعض المركبات الكيميائية، مثل رباعي كلوريد الصوديوم

– بعض المبيدات البنزينية

– الغبار الناتج عن الأمنيوت و السيليس (Review, 1961).

ب-. مصادر داخلية:

ينتج الجسم باستمرار، و بمختلف الآليات الفيزيزلوجية جذورا حرة، لكن الدور الفيزيولوجي لهذا الإنتاج ليس معروفا بصفة كلية، إلا أن بعض هذه المركبات لها وظيفة في مراقبة انتشار الإشارات الخلوية، و كذا تكاثر و تمايز الخلايا، وتقلص الأوعية الدموية.

ففي الميتوكوندري و أثناء انتقال الإلكترونات في السلسلة التنفسية يمكن أن يحدث خلل أثناء انتقال الإلكترونات حيث ينحرف إلكترون عن مساره ,)2006(Palmeira, Rolo, مشكلا أحد أنواع الجذور الحرة مثلا: تشكل $)O_2^{\cdot}($ بسبب تفاعل الأكسجين مع مرافق الأنزيم Semiubiquinone في السلسلة التنفسية ، **الشكل**)4((1961) ,Review و ,Dröge (2002). و يبقى إنتاج الميتوكوندري للجذور الحرة الأكسجينية متعلق ا بمدى وفرة الأكسجين بحيث يرتفع الإنتاج إذا زاد تركيز O_2 و ينخفض إذا انخفض تركيزه ,Dodet (1991). كما يتعلق إنتاج الجذور الحرة في الميتوكوندري بالنشاط الميتابوليزمي له ذه الأخيرة، بحيث أجمع ت الدراسات على أن انخفاض نشاط الغشاء للميتوكوندري يكون مصحوبا بانخفاض في إنتاج الجذور الحرة، حيث اكتشف حديثا أن البروتينات التي تنتمي لعائلة)UCP(أو البروتينات الفاصلة يمكن أن تخفض من نشاط الغشاء للميتوكوندري، و بذلك فإنها تلعب دورا مهما في تنظيم إنتاج الجذور الحرة في الميتوكوندري) Turrens, et .)al, 1985

من جهة أخرى فإن الخلايا البلعمية (متعددة الأنوية و العملاقة تحتوي على إنزيم

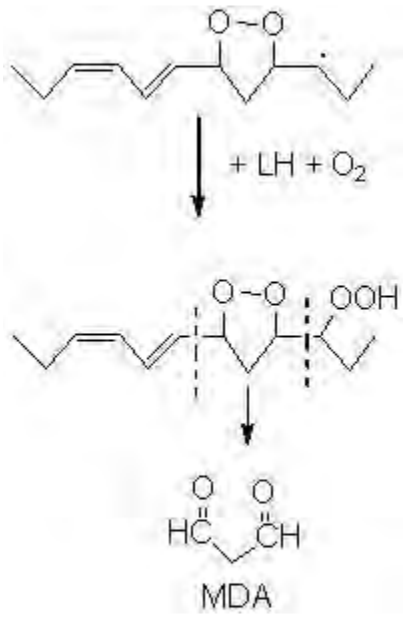
غشائي وهو NADPH$_2$ oxydase المتخصص في إنتاج جذر فوق الأكسيد ($O_2^{\bullet -}$)، هذا الأنزيم يعمل عند تنبيه الخلايا البالعة فقط، وبذلك ينتج استهلاكا كبيرا للأكسجين، حيث أن إنتاج جذر فوق الأكسيد هو أصل تخليق بعض المركبات مثل بروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الذي يلعب دورا في تخريب الأنسجة.

من المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي توجد عناصر الأكسجين النشطة ROS مع مجموعة من الجزيئات البيولوجية مثل البروتينات، اللبيدات أو ADN منتجة مركبات تعتبر من نواتج الإجهاد التأكسدي، منها.

- **فوق أكاسيد الدهون**

تعتبر الفوسفولبيدات الغشائية أهدافا سهلة بالنسبة للجذور الحرة خاصة $O_2^{\bullet -}$ و ينتج عنها ما يعرف بفوق أكاسيد اللبيدات (LPO) التي يمكن قياس مؤشرها MDA في البلازما أو في الدم الكلي .(Cino, Del Maestro, 1989). و إلى اليوم، و نظرا لسهولة و الإعتماد على MDA في تقدير درجة التدمير التأكسدي في الأوساط البيولوجية، أصبح قياسها من أهم الطرق المتداولة Slater, (1984) Valonzuela, (1991)، Lepage, et al, (1991).

يستدل على فوق الأكسدة الليبيدية بتقدير TBARS، حيث يتشكل لدينا خلال تفكك فوق الأكاسيد اللبيدية ناتجا يعرف باسم Malondialdéhyde (MDA) الذي يتم الكشف عنه عن طريق حمض ثيوبربيتوريك L'acide thiobarbiturique، حيث يعتبر MDA مركبا مميزا لظاهرة فوق أكسدة الدهون (Yun-Zhong, et al, 2002).



- **البروتينات المؤكسدة:**

في وجود العناصر الأكسيجينية النشطة المتزامن إنتاجها مع الإرتفاع المفرط للجلوكوز في الدم Feroza, et al, (2006) فإن البروتينات تشوه بنيتها بسبب ارتباطها غير الأنزيمي بالجلوكوز مثل HbA_1C مما يفقدها طبيعتها الوظيفية Halliwell, (1994) و Yasushi Tanaka et al, (2005(و (Sathiyapriya, et al, 2006)، و من أهم صور تأكسدها نجد:

ظهور مجموعة Hydroperoxides (ROOH)

أكسدة الهيكل الكربوني للسلسلة عديدة الببتيد يؤدي إلى انقسام البروتينات و ظهور مجموعة الكربونيل.

- أكسدة السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية مع تشكل جسور ثنائية الكبريت وظهور مجموعة الكربونيل.

تشكيل المشتقات الكلورية و الآزوتية.

إن وجود الوظيفة الكاربوني لـ في البروتينات دلالة على التغير الكلي في البروتينات المؤكسدة (Dalton, et al, 1999).

- **تلف الــ ADN:**

تمتلك الأنواع الفعالة للأكسيجين درجة تجاذب عالية للتفاعل مع بعض القواعد المشكلة للــ ADN، حيث يتحول Guanine مثلا بسهولة إلى 8 OHdG، هذا الأخير يمكن تثبيطه بواسطة إنزيمات إصلاح أو ترميم ADN، فإذا كانت هذه الأنظمة لا تعمل بشكل جيد فإن المركب سيتجمع داخل الــ ADN محدثا طفرات تؤدي إلى السرطان (Dröge, 2002).

أنظمة الدفاع المضاد للأكسدة:

للتقليل من تأثير الجذور الحرة، يسخر الجسم مجموعة معقدة من الأنظمة المضادة للأكسدة ذات المصدر الداخلي و الطبيعة الانزيمية أهمها، GPx, SOD و Catalase و أخرى ذات مصدر خارجي من بينها الفيتامينات المضادة للجذور الحرة وهي,

β.carotène C ,E ومركبات طبيعية مثل flavonoïdes و بعض المعادن الأثري Elements traces خاصة الزنك)Zn(، السيلينيوم)Se(و النحاس (Cu).

1. مضادات الأكسدة الإنزيمية:

1.1. إنزيم EC 1.15.1.1 SOD

أكتشف لأول مرة على شكل بروتين مرتبط بعنصر النحاس الأخضر المزرق

Hemocuprein أو cuprein في دم البقر العام، (1969) من طرف McCord, Fridovich ،

ذو خاصية بيولوجية، تم بعد ذلك استخلاصه من كبد الحصان (Hepatocuprien) ثم من الدماغ (Cerebrocuprien)، وظيفته الهدمية للجذور الحرة لم تعرف حتى أواخر سنة 1960 و أن البروتين المكتشف سابقا عرف كـــ: Cuprein و يسيطر على التفاعل التالي:

$$O_2^{-} + O_2^{-} + 2H^{+} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

و لم يعرف على SOD كأنزيم يعمل إلا على الجذر O^{e-}_2، و مع تقدم الدراسات تبينت أهمية تأثير الجذور الحرة في إحداث بعض الأمراض و المضاعفات و لقد أهتمت الأبحاث بدراسة هذا الإنزيم دون غيره من الإنزيمات.

يشكل هذا الإنزيم أول خط دفاعي ضد الإجهاد التأكسدي، يحفز هذا الإنزيم (SOD) هدم ج ذر فوق الأكسيد O_2^{-} إلى بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 و الأوكسجين، فالـــ SOD لا يمتلك إلا وظيفة محفزة وحيدة معروفة بـــ Dismutation لجذر البيروكسيد حسب التفاعل التالي.

$$O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} + 2\,H^{+} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \qquad \text{(Dodet, 1991)}$$

$$2\,O_2^{\bullet -} + 4\,H^{+} \xrightarrow{SOD} 2\,H_2O_2 \qquad \text{.(Wall, 2000)}$$

و بينت دراسة Furuta et al., (2006) أن أنزيم الـــ SOD يرتبط جينيا بحالة مقاومة الأنسولين و حساسية لداء السكري النوع الثاني. و من جهة أخرى تبين أنه يوجد ارتباط إيجابي بين بعض المؤشرات الأيضية HbA_1C و مستوى الجلوكوز في الدم و نشاط الأنزيم المضاد للأكسدة, SOD (Komosińska-Vassev, et al, 2005).

يتواجد في الأنظمة التي يتركز فيها (O_2) مثل كريات الدم الحمراء و كذلك بعض العضيات الهوائية و اللاهوائية و بعض الكائنات اللاهوائية إجباريا. و هو أحد أهم 5 بروتينات في الجسم عند الإنسان و هي إنزيم SOD، Thioredoxin reductase، GPx، Catalase، Glutathione reductase.

كل نظائر SOD بروتينات معدنية تحتوي في مواقعها الفعالة بالضرورة على النحاس و الزنك أو الحديد أو المنغنيز أو النيكل (Yun-Zhong, et al, (2002 و من ثم تصنف إلى Fe/SOD و Mn/SOD، تتواجد عند أوليات النوى Prokaryotes، أ ما Cu/ZnSOD لم يظهر تجانسا مع النوعين السابقين و اكتشف في ستوزول حقيقيات النوى Eucaryotes و هو ما يظهر تطورا مستقلا. و ينشط الأنزيم عديد التفاعلات منها:

$$SOD\text{-}Cu^{2+} + O_2^{-} \longrightarrow SOD\text{-}Cu^{2+} + O_2 \quad (1)$$

$$SOD\text{-}Cu^{2+} + O_2^{-} + 2H^{+} \longrightarrow H_2O + SOD\text{-}Cu^{+2} \quad (2)$$

$$O_2^{-} + O_2^{-} + 2H^{+} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \quad (3)$$

إن مساهمة الزنك في النظام المضاد للأكسدة تجلت تجريبيا خارج الجسم *in vitro* و داخل الجسم *in vivo* مع ارتباط نقصه بالإجهاد التأكسدي، حيث يتسبب نقصه من جهة في إحداث الإجهاد التأكسدي للمكونات الخلوية و من جهة أخرى يسبب عطبا للأنزيمات المضادة للأكسدة (Zago, Oteiza, 2001).

2.1. إنزيم (GPx) EC 1.11.1.9 :

يحتاج هذا الإنزيم في عمله إلى عنصر السـيلنيوم (Se) ليعمل بشكل صحيح ، لذا فإن نقص نشاط هذا الإنزيم GPx يمكن أن يكون ناتجا عن نقص أو غياب للسيلنيوم

(1999) Halliwell, Gutteridge, حيث يسمى أيضا GPx Séléno dependent.

وجد هذا الإنزيم عند الحيوانات و النباتات و بعض البكتريا ، يحفز إنزيم (GPx) أكسدة

2GSH إلى GSSG حسب التفاعل التالي:

$$H_2O_2 + 2\ GSH \xrightarrow{GPx} GSSH + 2\ H_2O$$

يتمثل دوره الحيوي الرئيسي في حماية الخلايا من التأثير التأكسدي التدميري. حيث من الناحية البيوكميائية يلعب دورا في اختزال فوق أكاسيد الدهون إلى نظائرها الكحولية و اختزال H_2O_2 إلى ماء. و قد تم التعرف عليه من قبل (Mills, 1957).

3.1. أنزيم Catalase EC 1.11.1.6

يتواجد الأنزيم على مستوى البيروكسيزومات peroxysomes يعمل على تنشيط التحول الثنائي لفوق أكسيد الماء H_2O_2 إلى جزيئتي ماء كما في التفاعل التالي.

$$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$$

يتشكل الأنزيم من أربعة سلاسل ببتيدية تضم ما يقرب 500 حمضا أمينيا، تضم كل سلسلة مجموعة هيم (Hème) تشكل الموقع النشط للأنزيم. حيث يعمل عنصر الحديد في الهيم على شطر O-O منتجا جزيئة ماء و Fe(IV)=O عالي النشاط، يمكن لهذا الأخير أن يؤكسد جزيئة H_2O_2 ليعطي O_2، كما يبينه التفاعلان التاليان:

$$H_2O_2 + Fe(III)\text{-}E \rightarrow H_2O + O{=}Fe(IV)\text{-}E \quad (1)$$

$$H_2O_2 + O{=}Fe(IV)\text{-}E \rightarrow O_2 + Fe(III)\text{-}E + H_2O \quad (2)$$

حيث قدرت من جهة أخرى سرعة الأنزيم القصوى بـــ 200.000 تفاعل تنشيطي في الثانية الواحدة.

2. مضادات الأكسدة غير الإنزيمية :

1.2. GSH:

يتعلق الأمر بيبتيد ثلاثي يتشكل من الأحماض الأمينية التالية Glycine، Cysteine و Glutamique، يلعب دورا مهما على عدة مستويات للوقاية من خطر الضرر التأكسدي. يمكن للـــ GSH أن يتفاعل مباشرة مع العناصر الأكسجينية النشطة و لكن يستعمل أساسا كمرافق أنزيمي للأنزيم GPx، الذي يضمن تحييد اللبيدات المؤكسدة (Peroxydes neutralisation). و هو مضاد متميز للأكسدة حيث:

* يعمل بصورة مباشرة على إزالة فوق الأكاسيد و الألدهيدات.

* يعمل بصورة غير مباشرة على تجديد فيتامين E و يحافظة على الصورة المختزلة للفيتامين C Wefers, Sies, (1989), Reed, (1990), Winkler, et al, (1994)

* يلعب أيضا دورا مهما في الصيغة الجينية المشفرة للبروتينات المضادة للإلتهاب ، حيث تؤدي التركيزات المنخفضة لــ GSH إلى ضعف الدفاع المناعي. و كباقي المركبات الحيوية فإنه يتأثر كذلك بالحالة الفيزيولوجية للجسم، ففي الحالات الطبيعية تتراوح تراكيزه بين 0.5 و 10 mol/ l Reed, Fariss, (1984), Mannervik, (1987), Deneke, Fanburg, (1989) و Kretzschmar, Klinger, (1990) فيميل نحو الإنخفاض في داء السكري، و أيضا عند التقدم في السن Samiec, et al, (1998) مما يبين دوره في شيخوخة الخلايا.

2.2. فيتامين C:

يعتبر حمض الأسكوربيك من الفيتامينات الكارهة للده ون و المحبة للماء، لكنه يعمل مثل الفيتامينات المحبة للدهون في عمليات الأكسدة و الإرجاع، إذ يعمل على المستوى الخارجي للغشاء الخلوي. كما أن هذا الفيتامين لا يتم إنتاجه داخل الجسم بل يحصل عليه مع الأطعمة، وهو ضروري حيث يعتبر كمصيدة ممتازة للعناصر النشطة للأوكسجين بالإضافة إلى كونه مهم لتحسين أداء الأنسولين (Paolisso, et al, (1994)، يمكن أيضا أن يحمي مركبات بيولوجية هامة من الأكسدة، بروتينات Carty, et al, (2000)، أحماض دهنية Steinberg, Chait, (1998)، (Halliwell, 2000) و Dietrich, et al (2002), و ADN.

عند التركيزات الفيزيولوجية حسب Padayatty, et al, (2003)، يمكن أن يمنع فيتامين C أكسدة LDL (الليبوبروتينات ذات الكثافة المنخفضة)، أثناء أكسدته إلى حمض Acide. dehydroascorbique فإنه يمر بجذر وسطي وهو جذر A-Ascorbique الذي يلعب دورا مهما مع الــ GSH في عملية تجديد فيتامين E المؤكسد. Murray, et al, (1993) و Dominguez, et al, (1998).

3.2. فيتامين E

يعتبر هذا الفيتامين من المركبات القابلة للذوبان في الدهون وهو يشمل مجموعة من المركبات المتشابهة و الأكثر نشاطا فيها هو α-tocophérol الذي يتصرف كمضاد للتأكسد من وجهة النظر البيولوجية على مستوى غشاء الخلية، و يظهر بوضوح عند

وقاية كل من الأحماض الدهنية غير المشبعة و فيتامين A و β–carotènes إلا أن دور الفيتامين E من وجهة النظر الكيميائية الحيوية غير واضح بدقة.

و كباقي الفيتامينات الدهنية فان الفيتامين E لا يلعب دور المرافق الإنزيمي، إلا أن دوره يكمن في مراقبة، و تنظيم سير تفاعلات الجذور الحرة في الخلية الحية بتثبيطه لجملة التفاعلات التلقائية لفوق الأكاسيد المؤكسدة للدهون غير المشبعة على مستوى الغشاء الخلوي، وبذلك يعتبر فيتامين E مركبا مانعا للتأكسد حيث يعمل على حماية و استقرار الأغشية الحيوية للخلايا الحية كما يزيد من جهة أخرى من نشاط فيتامين A بحمايته للسلسلة الجانبية غير المشبعة لهذا الفيتامين من فوق الأكاسيد الحرة.

ينتقل الفيتامين E بواسطة الدهون، و يكون تركيزه قياسي ا بالنسبة للكلسترول أو بالنسبة للبيدات الكلية)Lonsdal, 1986(.

- التركيز البلازمي العادي للفيتامين E يتراوح بين 8–25 ميكروجرام / مل.

- النسبة البلازمية الطبيعية Vit E /cholestérol يساوي 700/4,4 ميكروجرام /مل.

الطرق والمواد المستخدمة

الدراسة الاكلينيكية على الإنسان

ينقسم البحث موضوع الدراسة إلى جزأين أحدهما إكلينيكي، يتعلق بالتغيرات البيوكيميائية و بعض أهم المؤشرات البيولوجية المتعلقة بالإجهاد التأكسدي عند الأفراد المصابين بداء السكري النوع الثاني (المرضى) و الأفراد السليمين (الضوابط)، و الجزء التجريبي المتعلق بالدراسة التكميلية لبعض المؤشرات الخاصة بالإجهاد التأكسدي عند الجرذان المصابة بداء السكري التجريبي المحرض بالألوكسان، غير الخاضعة للعلاج بالأنسولين (ضوابط مريضة) مقارنة بجرذان مريضة خاضعة للعلاج بالأنسولين، و أخرى غير مصابة بداء السكري (ضوابط سليمة)، لمقارنتها بالمجموعتين السابقتين. في أفق تناولها مستقبلا بالإضافات الغذائية المرتبطة بالإجهاد التأكسدي و داء السكري، كالعناصر المغذية الصغرى من عناصر معدنية أثرية مثل الزنك Zn، السلينيوم Se و النحاس Cu و الفيتامينات المضادة للأكسدة كالفيتامين ج C، هـــE و أ A و غيرهم.

تشتمل الطرق التي اتبعت في الدراسة على:

- **الطرق المعملية** : التي تم من خلالها تقدير مختلف المؤشرات البيوكميائية و القياسات المتعلقة بطول و وزن الأفراد (Anthropométriques).

- **الكيماويات المستخدمة** : استخدمت لتقدير المؤشرا ت المختلفة، البيولوجية و مضادات الأكسدة الكيماويات الجاهزة النوعية Kits لدقة نتائجها، الخاصة بالمؤشرات البيولوجية مقتناة من شركة Boehringer mannheim GmbH Diagnostica الألمانية، أما الكيماويات المستخدمة في تقدير مؤشرات الإجهاد التأكسدي اشتريت من الشركة

- *Bio-diagnostic Diagnostic & Research Reagents* الدقي – القاهرة – جمهورية مصر العربية.

- **الطريقة الإحصائية:** اعتمد فيها برنامج Statistical Package of Social Sciences SPSS 10.0 المعتمد غي أغلب الدراسات البيولوجية و الطبية.

الدراسة الإكلينيكية على الإنسان

الطرق والمواد المستخدمة

الموارد البيولوجية

أ- الأفراد Sujets

تم إنجاز العمل على أفراد بالغين من الجنسين)29 فردا(مجال عمرهم يتراوح بين [35-82 عاما] مصابين بمرض السكر النوع II، و ضوابط (11 أفراد) من غير المصابين بداء السكري مجال عمرهم يتراوح بين [27 - 73 عاما] اعتمدوا كضوابط لمقارنتهم بالمرضى. تم تقسيم الأفراد إلى مجموعتين، كلتا العينتين تنتميان إلى عيادة القنطرة لمرضى داء السكري التابعة للمستشفى الجامعي إبن باديس التابعة ل ولاية قسنطينة و ضواحيها. حيث استجوب المرضى عن حالتهم الصحية و دونت المعلومات على استمارة خاصة صممت حسب نوعية الدراسة ، بالإضافة إلى المعلومات المتعلقة بمضاعفات داء السكري ذات الصلة بالمؤشرات المدروسة (كالمضاعفات الكلوية، القلبية و تصلب الشرايين) المستقاة من ملف كل مريض معتمد لدى المصحة.

مقياسي اختيار الأفراد:

تمت عملية انتقاء المرضى و السليمين في هذه الدراسة على أساس مقياسي الإستثناء و الإحتواء محددة كما يلي:

- مقاييس الإستثناء Critères d'exclusion

أستثني من هذه الدراسة الأفراد المصابون بمرض السكر الذين يعانون من مضاعفات قلبية و وعائية، ضغط الدم المفرط، و المضاعفات الكلوية الكرياتنين > 1.20 ملج/دل، وكذلك المتناولون لأدوية تحتوي على العناصر المغذية الصغرى المذكورة آنف قبل 03 شهور من المعاينة، بسبب إمكانية تأثيرها على المؤشرات المضادة للأكسدة و هذا حسب دراسات كل من Mooradian, Morley, (1987)، Walter, et al, (1991)، DiSilvestro, (2000)، Anderson, et al, (2001)، Bonnefont-Rousselot (2004 a) و Olatunji, and Soladoye, (2007) و المدخنون Valdivielso, et al, (2007)، و المتناولون للأدوية المدرة للبول و النساء الحوامل، كما أقصي من الدراسة أيضا الأفراد الذين يفوق مؤشر كتلتهم الجسمية BMI 30 كلج/م^2. و يقل عن 20 كلج/م^2 -Manuel-y Keenoy et al., (2005).

مقاييس الاحتواء Critères d'inclusion

المصابون بداء السكري $HbA_1C > 7,5\ \%$ و جلوكوز الدم بعد الصوم > 1,50 ملج /دل و الكرياتنين < 1.20 ملج/دل

- **المجموعة الأولى** مجموعة الأصحاء (الضوابط) من 11 فردا، جلوكوز الدم لديهم لا يتجاوز 96 ملج /دل

- **المجموعة الثانية (المصابون بداء السكري النوع الثاني)** تتشكل مجموعة المرضى من 29 فردا، مستوى جلوكوز الدم لديهم يفوق 150 ملج/دل في المتوسط ممثلتين في الجنسين ذكورا و إناثا. و المجموعتين تناولتهما الدراسة بطريقة عشوائية Randomisés مع الأخذ بعين الإعتبار المجال العمري للأفراد المصابين بداء السكري و السليمين.

جمع عينات الدم

قبل سحب الدم من الأفراد، تمت عملية إجراء القياس الأنثروبومتري، حيث أخذ الوزن و الطول لكل مريض لقياس مؤشر الكتلة الجسمية)BMI). تم حســـــاب المؤشر بقسمة الكتلة بالكيلوجرام / مربع الطول بالسنتيمتر.

$$BMI = \frac{\text{الكـــتلة (كلج)}}{\text{الطول (سم)}^2}$$

تم سحب الدم على مستوى الوريد المرفقي، بين الساعة 7:30 و 9:30 صباحا، بعد صوم ليلي، في أنابيب التفريغ Vaccutainer جافة، لتقدير المؤشرات الدهنية المصلية (الكولسترول و الجليسيريدات الثلاثية)، و أنابيب بالهبارين (Héparinate de Sodium) لتقدير كل من أنزيم Catalase، GSH، Malondialdehyde (MDA)، Total Anti-oxydante Capacité (TAC)، الفيتامين C، Créatinine، Urée و HDL-c، LDL-c و أنابيب خاصة بتقدير الهيموغلوبين المجلكز (HbA_1C) مضاف إليها معقد مانع لتخثر الدم

أما الجلوكوز البلازمي فتم تقديره من أنابيب تحتوي على الهيبارين و Complexant فلويورور الصوديوم (NaF) المانع لتحلل الجلوكوز.

تم فصل البلازما بتعريض عينات الدم المسحوب لعملية الطرد المركزي بسرعة 3000د / دقيقة لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 4 مْ في جهاز للطرد المركزي، لتقدير ما يلي:

1. المؤشرات البيوكميائية
2. المؤشرات المضادة للأكسدة

تمت عملية تقدير المؤشرات البيولوجية في جهاز التقدير الأوتوماتيكي Auto-analyseur ADVIA 1650 Chemistry System Bayer-Diagnostic، بالطرق الأنزيمية النوعية لكل مؤشر باستخدام المحاليل الجاهزة المعدة لذلك Kits أما تقدير الهيموغلوبين المجلكز تمت باستخدام جهاز *BIO-RAD* D-10™ Ref 220-0101 كما يلي:

1. المؤشرات البيوكيميائية

1.1. تقدير جلوكوز الدم:

تم تقدير الجلوكوز البلازمي بالطريقة الأنزيمية اللونية عند الطول الموجي 500 nm، Trinder, (1969) يتم تحويل الجلوكوز بأنزيم (GOD) في وجود جزيئة ماء و O_2 إلى Gluconate و H_2O_2 في وجود مركب Amino-4-Phénasone و أنزيم Peroxidase حيث يتأكسد المركب الأول إلى Quinoneimine وردي اللون، الذي تتناسب شدته مع تركيز H_2O_2 الذي يتناسب بدوره مع تركيز الجلوكوز داخل العينة.

$$Glucose + O_2 + H_2O \xrightarrow{GOD} Gluconate + H_2O_2 \qquad (1)$$

$$2H_2O_2 + \text{Amino-4-Phénazone} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{(monoimino-p-benzoquinone)–4-phenazone} + 4\,H_2O \quad (2)$$

2.1. تقدير جليسريدات الدم الثلاثية:

تمت بطريقة (1974) Wahlefeld, و (1969) Trinder, التي تعتمد على الطريقة الأنزيمية اللونية، حيث يتم التحليل المائي للجليسريدات الثلاثية إلى جليسرول و أحماض دهنية حرة تحت تأثير أنزيم Estérase في وجود الماء يتحول الجليسرول إلى Glycerol 1-P + ADP في وجود أنزيم Glycerokinase، يتأكسد Glycerol 1-P في وجود O_2 إلى مركب Dihydroacetone Phosphate و H_2O_2، الذي بدوره، تحت تأثير أنزيم Peroxidase و Amino-4-Phénazone يتحول إلى ماء و Monoimino-*p*-benzoquinone-4phenazone وردي اللون عند درجة 25 °م، و يقرأ عند طول موجة nm500

$$\text{Triglycerides} + 3H_2O \xrightarrow{\text{Esterase}} \text{Glycerol} + 3\,\text{R–CooH} \quad (1)$$

$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glycerokinase}} \text{Glycerol 3 P} + \text{ADP} \quad (2)$$

$$\text{Glycerol 3 P} + O_2 \xrightarrow{\text{GOP oxidase}} \text{Dihydroacetone P} + H_2O_2 \quad (3)$$

$$H_2O_2 + \text{Amino-4-Phénazone} + \text{Chloro-4-phenol} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{(monoimino-}p\text{-benzoquinone)–4-phenazone} + 2H_2O + HCl \quad (4)$$

3.1. تقدير الكولسترول الكلي للدم

اتبعت الطريقة اللونية (1973) Richmond, و (1973) Flegg, و تعتمد هذه الطريقة على تحول أسترات الكولسترول إلى كولسترول حر ثم أكسدته لإعطاء فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 و هو بدوره يؤكسد المركب Amino-4-Phénasone إلى مركب لونه

وردي تتناسب شدة لونه مع تركيز الكولسترول الكلي في العينة(Allain, et al, 1974).

$$\text{Ester cholesterol} + H_2O \xrightarrow{\text{Cholesterol ésterase}} \text{cholesterol} + \text{R-CooH} \quad (1)$$

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{cholesterol.ésterase}} \Delta^4 - \text{cholesténone} + H_2O_2 \quad (2)$$

$$H_2O_2 + \text{Amino-4-Phénasone} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{(monoimino -}p\text{-benzoquinone)–4-phenazone} + 4H_2O \quad (3)$$

4.1. تقدير الـــ HDL-c

تم تقدير HDL-c بالطريقة الأنزيمية [cholesterol estérase و cholesterol oxidase

بالإضافة إلى التفاعل التلويني بواسطة Peroxidase] بعد ترسيب LDL بواسطة مركب

sulfate de dextrane و المغنيزيوم على جهاز التقدير الأوتوماتيكي Bayer-Diagnostic.

5.1. تقدير الـــ LDL-c

يعتمد التقدير على الترسيب بواسطة Sulfate polyvinyl، و تتم القراءة عند الطول

الموجي 500 nm، التركيز في السائل الطافي (le surnageant) = 3,50 × العينة. كيماويات

Boehringer 290 726.ref.

الفرق بين تركيز الكولسترول البلازمي و كولسترول السائل الطافي تمثل التركيز

في الـــ LDL-c.

6.1. تقـــدير الكرياتنين:

تم التقدير بطريقة Semi-micromethode و هي طريقة أنزيمية. Boehringer.

Ref 441716.عند طول الموجة 340 nm.:(Wahlefeld, et al, 1974).

$$\text{Creatinine} + H_2O \xrightarrow{\text{Creatininase}} \text{Creatine} \quad (1)$$

$$\text{Creatine} + \text{ATP} \xrightarrow{CK} \text{Creatine} - \text{P} + \text{ADP} \quad (2)$$

$$\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow{\text{P Kinase}} \text{ATP} + \text{Pyruvate} \quad (3)$$

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{LDH} \text{L-lactate} + \text{NAD}^+ \quad (4)$$

7.1. تقدير اليوريا:

تم التقدير بالطريقة الأنزيمية Boehringer Mannheim Ref. 489 620

الطريقة تعتمد على أنزيم Uréase الذي يحول اليوريا إلى نشادر و ثاني أكسيد الكربون **.**(Gutmann, Bergmeyer, 1974)

$$\text{Urée} + H_2O \longrightarrow 2\ NH_3 + CO_2$$

$$2\ \alpha\ \text{Cétoglutarate} + 2\ NH_4^+\ 2\ \text{NADH} \longrightarrow 2\ \text{L-Glutamate} + 2\ \text{NAD+}\ 2\ H_2O$$

8.1. تقدير الهيموغلوبين المجلكز HbA_1C

تؤخذ عينة الدم على أنبوب يحتوي على EDTA كمانع للتخثر. و تعود أهمية تقدير HbA_1C لمدى مراقبة المريض لمستوى السكر في الدم، و مدى نجاعة العلاج المتبع خلال مدة زمنية تتراوح بين 2–3 شهور.

مبدأ التفاعل:

اتبعت طريقة التقدير على الجهاز *BIO-RAD* D-10™ Ref 220-0101

يعتمد برنامج D-10 للهيموغلوبين المجلكز على مبدأ التبادل الأيوني لكروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC.

تخفف العينات بطريقة آلية داخل الجهاز، ثم تحقن داخل خرطوشة التحليل.

يوزع بعدها الجهاز تدريج المحلول المنظم المبرمج الخاص بالأيون ذو الطاقة العالية للخرطوشة أين يفصل الهيموغلوبين اعتمادا على التداخل الأيوني مع مكونات الخرطوشة.

يعبر بعدها الهيموغلوبين المفصول من خلال خلية التدفق لمصفاة المطياف filter photometer أين تقاس تغيرات الإمتصاصية عند 415 nm.

تعالج النتائج بواسطة النظام الإعلامي المدمج، لكل عينة، يستعمل لهذا الغرض مستويان للتقدير الكمي للهيموغلوبين المجلكز HbA_1C. حيث يعرض كروماتوغرام و نشرة لكل عينة. تحسب مساحة A_1C باستخدام ألغوريتم Gaussse الأسي المعدل Algoritme Gaussien Exponentiel Modifié. الذي يعمل عل استثناء مساحة كل من A_1C غير الثابت و المرتبط بالكربميل و الإبقاء على الهيموغلوبين المجلكز HbA_1C.

2. المؤشرات المضادة للأكسدة

1.2. تقـــــدير فوق أكاسيد الدهون (MDA):

مبدأ التفاعل:

حمض ثيوباربتوريك Acide thiobarbiturique يتفاعل مع المالوندألدهيد في الوسط الحمضي عند درجة حرارة 95°م لمدة 30د، لينتج عن التفاعل مركب حمض ثيوباربيتوريك النشط، امتصاصيته يمكن قياسها عند طول موجة 534 nm لاستخراج تركيز مالوندألدهيد (Satoh, (1978 و (Ohkawa, et al, 1979).

تقـــدير (GSH):

2.2. مبدأ التفاعل:

ترتكز الطريقة على إرجاع أو اختزال المركب (DTNB) مع الجلوتاثيون GSH لإنتاج مركب أصفر. المركب المختزل يتناسب تركيزه مع تركيز GSH، و امتصاصيته يمكن قياسها عند طول موجة 405 nm حيث يقدر تركيز العينة بضرب الإمتصاصية × 2,22 (Beutler, et al, 1963).

3.2. تقـــدير نشاط الأنزيم Catalase

مبدأ التفاعل:

الأنزيم يتفاعل مع كمية معلومة من H_2O_2 يتم توقيف التفاعل بعد دقيقة باستعمال مثبط للأنزيم Catalase inhibitor.

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2\,H_2O + O_2$$

و في وجود أنزيم Peroxidase، فإن المتبقي من H_2O_2 يتفاعل مع (DHBS) و المركب (4AP) لإنتاج مركب ملون ذو كثافة لونية تتناسب عكسيا مع كمية الأنزيم Catalase في العينة الأصلية Aebi, (1984) و (Fossati, et al, 1980).

$$2H_2O_2 + DHBS + 4AP \xrightarrow{(Px)} \text{Quinoneimine Dye} + 4H_2O$$

تحضن العينات لمدة 10 دقيقة عند 37°م داخل حمام مائي، و تقرأ إمتصاصبة العينات A مقابل العينة +blanc و A القياسي مقابل القياسي+blanc عند nm .510

4.2. تقديـــر TAC:

مبدأ التفاعل:

يتم قياس TAC أو الكفاءة الكلية المضادة للأكسدة بتفاعل العناصر المضادة للأكسدة في العينة مع كمية معلومة من H_2O_2 خارجي المصدر. العناصر المضادة للأكسدة في العينة تعمل على إزالة كمية من H_2O_2 المتاح، و من ثم يتم قياس المتبقي من H_2O_2 بالتفاعل التلويني الأنزيمي، الذي يشمل تحويل المركب 3,5 dichloro-2-hydroxybenzensulphonate إلى ناتج ملون (Koracevic, et al, 2001).

5.2. تقــدير الفيتامين C:

مبدأ التفاعل:

تفاعل الأكسدة و الإختزال Redox لحمض الأسكوربيك مع المركب الملون 2,6 dichlorophenol indophenol في الوسط الحمضي يتضمن إزالة التلوين، في حين يؤكسد الأسكوربات إلى déhydroascorbate. مع العلم أن الفيتامين في الدم و البول الطازجين يتواجد في صورة أسكوربات بشكل رئيس.

يتم قياس الإمتصاص الضوئي للعينة و blanc مقابل الماء المقطر عند طول الموجة 520nm (Harris, Ray, 1935).

الدراســة الإحصائية

الجزء الإكلينيكي:

تم إجراء التحليل الإحصائي لنتائج الجزء الإكلينيكي، والذي يتعلق بالتغيرات البيوكيميائية وبعض المؤشرات البيولوجية المتعلقة بالإجهاد التأكسدي عند المرضى المصابين بداء السكري النوع الثاني باستخدام اختيار T-Test طبقاً لــ Snedecor(Cochran, 1982) و Petrie, Watson, (1999)، واستخراج المعدل و الإنحراف المعياري (Mean ±; SD). تم احتساب الفرق المعنوي عند درجة احتمالية $p< 0.05$ طبقاً لــطريقة (Armitage, 1971).

الدراسة التجريبية على الجرذان

العقاقير و الجرعات

أ) الألوكسان Alloxan:

أستخدم عقار الألوكسان رباعي الماء، كمادة محدثة لداء السكري التجريبي على الجرذان، عبوة 50 جم، مستقدم من شركة Merck. Art 1020 الألمانية تذاب كمية منه في محلول citrate buffer, pH 7.4 و يتم حقن الجرعات المناسبة من الألوكسان المذاب فورا داخل تجويف البطن بمقدار 200 ملج/كلج لكل جرذ بحسب الوزن (Sochor, et al, 1984)،

ب) هرمون الأنسولين Protamine zinc Insulin Novo. يعطى اعتمادا على تركيز الجلوكوز في البول.

- الموارد البيولوجية

الحيوانات (الجرذان)

أجريت الدراسة التجريبية على 60 جرذا من نوع Albinos Wistar متوسط وزنها 200 جرام، قسمت الجرذان عشوائيا إلى أربع مجاميع (15 جرذا في كل مجموعة) كما يلي:

- المجموعة الأولى: T مجموعة الجرذان السليمة التي لا تتلقى أي عقار أو علاج ، تستخدم كشواهد أو ضوابط.
- المجموعة الثانية: DT مجموعة الجرذان التي تتلقى جرعة الألوكسان و لا تعالج بهرمون الأنسولين تستغل كضوابط مصابة بداء السكري.

- المجموعة الثالثة:)D1(مجموعة الجرذان التي تتلقى جرعة الألوكسان، و تخضع للعلاج بالأنسولين فور ظهور ارتفاع في جلوكوز الدم بعد الصوم الليلي.
- المجموعة الرابعة:)D2(مجموعة الجرذان التي تتلقى جرعة الألوكسان، و تخضع للعلاج بالأنسولين بعد مضي أربعة أسابيع من ارتفاع في جلوكوز الدم بعد الصوم الليلي.

لتتلقى مجموعة)D1(العلاج بهرمون الأنسولين Protamine zinc Insuline Novo بجرعات فور ظهور ارتفاع الجلوكوز في الدم إلى أكثر من 200 مج/دل(و مجموعة)D2(بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض، بالاعتماد على اختبار إطراح الجلوكوز في البول كمؤشر على ارتفاعه في الدم بالكواشف النوعية، لتقييم مدى تأثير مدة المرض على المؤشرات المدروسة تحت العلاج بالأنسولين، Katyare and Satav, (2005) فالمجموعة)D1(يعتبر مرضها من النوع الحاد و الثانية)D2(يعتبر مرضها من النوع المزمن حسب Çakatay and Kayali, (2006) Wilcox et al, (1968)، بينما استغلت المجموعة DT المصابة بداء السكري غير المعالجة بالأنسولين كضوابط مريضة لمقارنة اضطراب المؤشرات المدروسة مع الضوابط السليمة و المريضة المعالجة بالأنسولين فور و بعد مضي أربعة أسابيع من ظهور المرض.

جمع عينات الدم

تمت عملية سحب الدم من الجرذان بعد صوم ليلي، بعد ان كانت تتغذي بحرية *ad libitum*، حيث يتم سحب الدم، في أنابيب 3 ملل على EDTA كمانع للتخثر، من الجيب الأنسي الداخلي للعين لسهولة خروج الدم (Hoffman, 1963).

تم تعريض عينات الدم لعملية الطرد المركزي 3000د/دقيقة لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 4 مْ تم بعدها شفطت البلازما لتقدير المؤشرات البيوكيميائية التالية: الجلوكوز، الجليسريدات الثلاثية، الكولسترول، الفوسفولبيدات و الدهون الكلية.

تم شفط طبقة الخلايا البيضاء العالقة للإبقاء على كريات الدم الحمراء التي عرضت لعملية الغسيل ثلاث مرات بمحلول الفوسفات الملحي (PBS) *P*H = 7.4, (0.02 M phosphate; 0.123 M NaCl)، تكون بعدها جاهزة لتقدير المؤشرات المضادة للأكسدة التالية GPx, GR, SOD و CAT و ناتج فوق الأكسدة الدهنية (MDA).

1. المؤشرات البيوكيميائية

تم تقدير كل من الجلوكوز البلازمي، الجليسريدات الثلاثية البلازمية و الكولسترول البلازمي بنفس الطرق السابق ذكرها في الدراسة الإكلينيكية.

1. 1 تقدير فوسفولبيدات الدم:

تمت عملية تقدير الفوسفولبيدات بالطريقة الأنزيمية اللونية Takayama, et al, (1977) باستعمال Amino-4-antipyrine يتحول بعد أكسدته بجزيء الأكسجين إلى Quinoneimine ذو اللون الوردي، تتوقف شدته على تركيز الفوسفولبيدات داخل العينة

بدلالة H_2O_2. تقاس شدة اللون عند الطول الموجي 505 nm.

1) Phospholipide + H_2O $\xrightarrow{\text{Phospholipase}}$ Choline + acide phosphatidique + acide lysophosphatidique N acyl sphingosyl phosphate
2) Choline + $2O_2$ $\xrightarrow{\text{Choline oxidase}}$ Betaine + $2H_2O_2$
3) $2H_2O_2$ + Phenol + Amino- 4- antipyrine $\xrightarrow{\text{Peroxidase}}$ Quinoneimine +$2H_2O$

1. 2 تقدير دهون الدم الكلية:

تم تقدير الدهون الكلية باستخدام مركب الـ Vanilline بتركيز 1,2 المرافق لحمض الفوسفوريك بتركيز 800 ml/L وحمض الكبريتيك المركز كهاضم للبروتين. و في وجود المركبات المذكورة تتفاعل الدهون الكلية مكونة معقدا وردي اللون تتناسب شدته مع تركيز الدهون الكلية في البلازما، حيث تقاس الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 530 nm (1962) ,Zöellner, Kirsch.

2. المؤشرات المضادة للأكسدة

2. 1 تقدير نشاط (GPx):

مبدأ التفاعل:

تقدير النشاط أنزيم GPx هو حساب غير مباشر لنشاط الأنزيم، حيث الجلوتاثيون المؤكسد GSSG المنتج عند اختزال فوق الأكسيد العضوي بواسطة GPx يعاد تجديده إلى صورته المختزلة GSH 2 بواسطة الأنزيم Glutathione reductase كما يبينه التفاعل التالي:

R-O-O-H + 2 GSH $\xrightarrow{\text{GPx}}$ R-O-H + GSSG + H_2O

GSSG + $NADPH_2$ $\xrightarrow{\text{Glutathione reductase}}$ 2GSH + $NADP^+$

أكسدة NADPH إلى $NADP^+$ يصاحبها انخفاض في الإمتصاصية عند 340 nm

معطيا متوسطات لنشاط الأنزيم. إنقضاء المعامل المولي الخاص بـــ NADPH يقدر بـــ 6220 M^{-1} / cm عند nm340.

التفاعل الأنزيمي يستهل بإضافة مادة التفاعل H_2O_2 ثم تسجل الإمتصاصية عند 340 nm. سرعة انخفاض الإمتصاصية عند هذا الطول الموجي تتناسب مباشرة مع نشاط الأنزيم في العينة (Paglia and Valentine 1967).

الإجراء

تغسل كريات الدم الحمراء بمحلول ملحي بارد (10 v/1 v)، تفجر كريات الدم الحمراء بعد ذلك بإضافة أربعة (4) أحجام من الماء المقطر المبرد منزوع الأيونات. يعرض المحتوى لعملية الطرد المركزي 4000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق عند 4°C لتجمع بعد ذلك الطبقة العليا الشفافة من الأنبوب التي تتم عليها عملية قياس نشاط الأنزيم. يرج المحلول جيدا ثم يسجل إنخفاض الإمتصاصية عند 340 nm / دقيقة إلى غاية 3 دقائق مقابل عينة الماء المقطر منزوع الشوارد. فللإمتصاصية الأولى لا يجب أن تتعدى 1.5 /دقيقة و الإمتصاصية الموالية لا تتعدى 0.05/دقيقة و هذا يتم مراقبته بتخفيف عينة موافقة.

حساب النشاط:

تحدد سرعة الإنخفاض في النشاط عند الإمتصاصية 340 nm في الدقيقة بحساب الفرق في الإمتصاصية بين 60-120 ثانية.

يحول صافي الإمتصاصية / دقيقة للعينة إلى المستهلك من NADPH

(nmol/min/mL) باستخدام العلاقة التالية:

$$1\ U/g\ Hb = 1nmol\ NADPH / min/ g\ Hb = \frac{A_{340}/min}{00622,0}$$

$$\text{حساب النشاط الأنزيمي} (U/gHb) = \frac{A_{340}/min}{0,00622} \times 121 \times \text{معامل التخفيف}$$

2 .2 تقدير نشاط SOD:

مبدأ التفاعل:

يعتمد التفاعل على قدرة الأنزيم على تثبيط عملية اختزال المركب الوسيط

phenazine methosulfate لصبغة nitroblue tetrazolium, (Nishikimi, et al, 1972)**.**

الإجراء

تفجر كريات الدم الحمراء بإضافة أربعة أحجامها من ماء المثلج المستعمل في

HPLC، يعرض المحتوى لعملية الطرد المركزي g × 10000 لمدة 15 دقيقة عند 4°C

تجمع بعد ذلك الطبقة العليا الشفافة في الأنبوب لتتم عليها عملية قياس نشاط الأنزيم.

تخفف العينة بغرض إعطاء نسبة تثبيط مئوية بين 30%–60%.

تقاس زيادة الإمتصاص ية عند 560 nm لمدة 5 دقائق لكل من المحلول الضابط (Δ

A control) والعـــــينة (Δ A sample).عند درجة حرارة 25 °C.

حساب النسبة المئوية للتثبيط

$$100 \times \frac{\Delta\ A\ control - \Delta\ A\ sample}{\Delta\ A\ control}$$

حيث Δ A control التغير في الإمتصاصية عند 560 nm بعد 5 دقائق من إضافة (PMS)

في غياب العينة.

Δ A sample التغير في الإمتصاصية عند 560 nm بعد 5 دقائق من إضافة (PMS) في وجود العينة.

حساب النشاط: U/gm Hb = Inhibition % x 3,75 × L/ g Hb مستعمل.

2. 3 تقدير نشاط: GR

مبدأ التفاعل:

ينشط أنزيم GR تفاعل اختزال المركب GSSG في وجود القدرة الإختزالية $NADPH_2$ الذي يتأكسد بدوره إلى $NADP^+$، يحسب إنخفاض الإمتصاصية عند طول موجة 340 nm (Goldberg, Spooner, 1983).

$$NADPH + H+ + GSSG \xrightarrow{GR} NADP^+ + 2GSH$$

الإجراء

تفجر كريات الدم الحمراء بإضافة أربعة مرات حجمها من الماء المثلج المستعمل في HPLC.

يعرض المحتوى لعملية الطرد المركزي g × 10000 لمدة 15 دقيقة عند 4°C

تجمع بعد ذلك الطبقة العليا الشفافة من الأنبوب التي تتم عليها عملية قياس نشاط الأنزيم.

توج الأنابيب جيدا، تترك عند درجة الحرارة 25 م°، ثم تقرأ الإمتصاصية الأولى مقابل عينة الهواء عند طول الموجة 340 nm، تعاد القراءة بعد دقيقة، ثم بعد 5 دقائق للحصول على التغير في الإمتصاصية في الدقيقة.

الحساب:

يحسب نشاط الأنزيم U/ g Hb حسب العلاقة:

نشاط الأنزيم (U / g Hb) = 4019 × A 340 nm / min

2. 4 تقدير نشاط أنزيم الكتلاز : Catalase تمت بنفس الطريقة المذكورة في الدراسة الإكلينيكية. غسيل و تفجير كريات الدم الحمراء تمت بالطرق المذكورة في الأنزيمات السابقة.

2. 5 تقدير القدرة الإختزالية: GSH تمت بنفس الطريقة المذكورة في الدراسة الإكلينيكية غسيل و تفجير كريات الدم الحمراء تمت بالطرق المذكورة في الأنزيمات السابقة.

الدراســـة الإحصائية

الجزء التجريبي:

تم إجراء التحليل الإحصائي للبيانات للجزء التجريبي والذي يتعلق بالمؤشرات الخاصة بالإجهاد التأكسدي عند الفئران المصابة بداء السكري المحرض بالألوكسان بواسطة اختيار التباين One Way Analysis of Variance (One way ANOVA) واستخدام اختبار دنكن (Duncan) لتحديد الاختلافات الاحصائية بين متوسطات المجاميع المختلفة في كل فترة من فترات للتجربة، وقد تم احتساب الفرق المعنوي عند درجة احتمالية $p<0.05$ طبقاً لــطريقة (Armitage, 1971).

وتم استخراج المعدل و الخطأ التجريبي (Mean ± Standard error; SE).

مدلول المعطيات الإكلينيكية و التجريبية المقاسة يمكن التعبير عنه كما يلي:

غير معنوي عندما $p > 0.05$

(*)معنوي عندما $p < 0.05$

(**)معنوي عالي عندما $p < 0.01$

(***) معنوي عالي جدا عندما $p < 0.001$

حيث p درجة الإحتمال التي تعكس الفرضية صفر.

النتائج

تنقسم النتائج المتحصل عليها إلى قسمين هما:

أولاً: النتائج الإكلينيكية

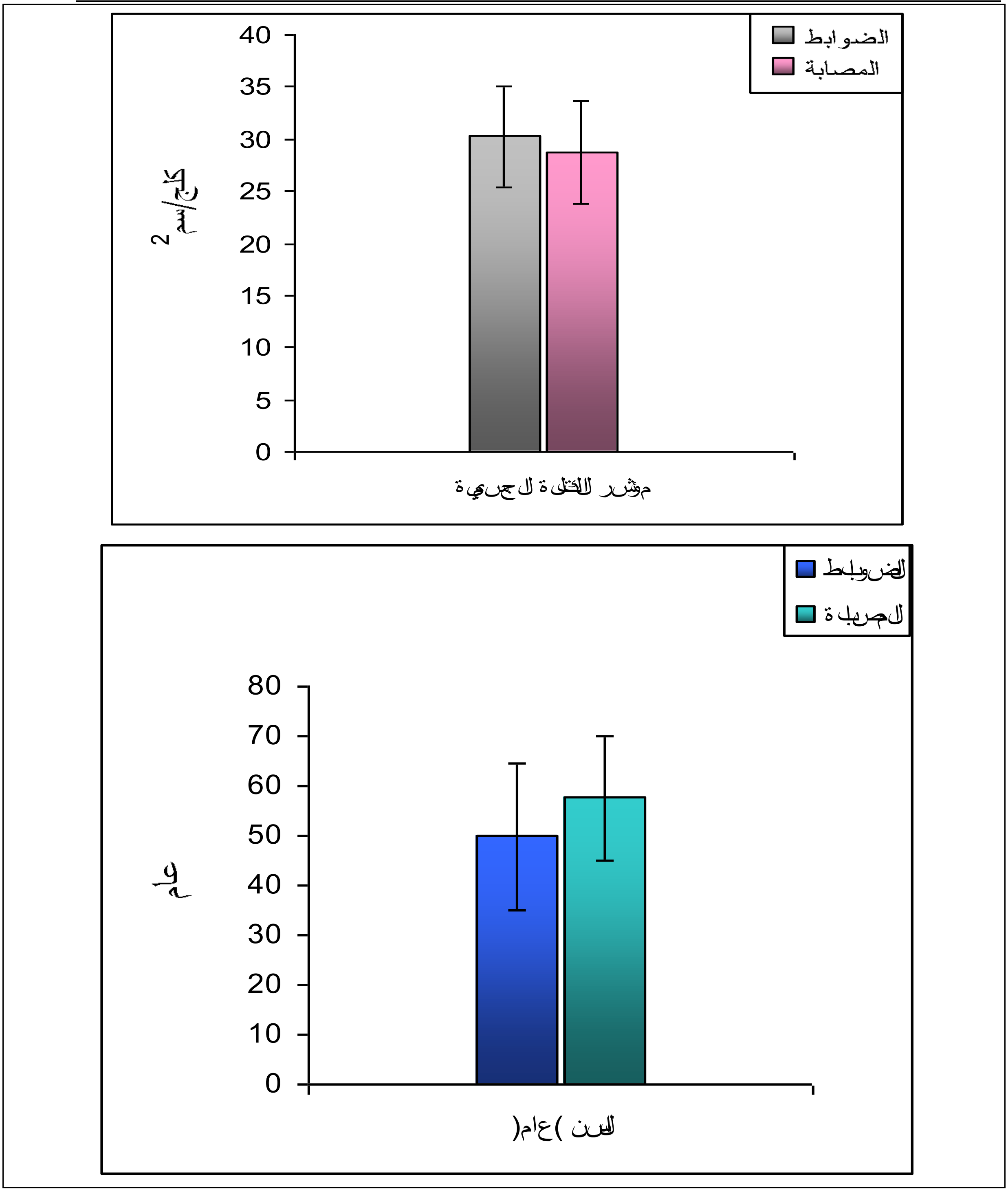
فيما يلي إستعراض النتائج لمقارنة المؤشرات البيولوجية فيما بينها وبين الإجهاد التأكسدي عند المجموعة المصابة بداء السكري والضوابط (الأصحاء).

1. **العمر و مؤشر الكتلة الجسمية:**

يوضح الجدول (4) الفئة العمرية متقاربة إلى حد ما نظراً للإختيار العشوائي، وكلهم من البالغين، وبالنسبة لمؤشر الكتلة الجسمية (BMI)، وقد وجد أنه بالرغم من القيم العالية نسبياً لدى المجموعة الضابطة نتيجة تباين الوزن، فإنها تبقى ضمن الحدود المقبولة ماعدا بعض الأفراد الشواذ الذين لا يقاس عليهم، فيما تبقى الأغلبية ضمن الحدود الطبيعية، وكذلك ظهر زيادة غير معنوية في مؤشر الكتلة الجسمية لمجموعة المرضى المصابين بداء البول السكري النوع الثاني مقارنة بالمجموعة الضابطة، ويرجع ذلك بسبب شذوذ الوزن الزائد نسبياً عند عدد قليل من المجموعة الضابطة وزيادة الوزن في المجموعة المرضى يوضحه [**الجدول** (4) و **الشكل** (8)].

الجدول)4(: المتوسط ± الإنحراف المعياري للعمر ومؤشر الكتلة الجسمية في المجموعة الضابطة)عدد =11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(.

المجموعة / المؤشرات	الضوابط	المرضى بداء السكر النوع الثاني
السن (عام)	49.80 ± 14.88 (27.00 – 73.00)	57.57 ± 12.39 (35.00 – 82.00)
الجنس (ذكر /أنثى)	(6 / 5)	(9 / 20)
مؤشر الكتلة الجسمية BMI (كلغ/م^2)	30.27 ± 4.87 (25.21 – 38.94)	28.70 ± 4.98 (20.96 – 41.02)
مدة المرض (عام)	----	1 - 20



شكل: (8) يوضح متوسط العمر (عام) ومؤشر الكتلة الجسمية (كلج/م^2) في المجموعة الضابطة (عدد =11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29).

التحاليل الإكلينيكية:

تناولت الدراسة مختلف المؤشرات البيوكيميائية الأكثر ارتباطاً بداء السكري ومضاعفاته، ويتعلق الأمر بتركيز الجلوكوز البلازمي، و الهيموغلوبين المجلكز (HbA_1C) كمؤشر يدل على مدى متابعة المريض لحالة سكر الدم خلال فترة تتراوح بين 3–4 شهور، ومن ثم سلامة الأيض عنده خلال هذه الفترة.

كذلك تم دراسة المؤشرات الدهنية؛ الجليسريدات الثلاثية (TG)، الكوليسترول، البروتينات الليبيدية عالية الكثافة (HDL-c)، البروتينات الليبيدية منخفضة الكثافة (LDL-c)، للوقوف على مدى إمكانية تطور الإضطرابات الممكن حدوثها نتيجة العجز المسجل في استخدام الجلوكوز عند المصابين بداء السكري، والمضاعفات التي تنتج والمصاحبة لداء السكري، كتصلب الشرايين، وتقدير الكرياتنين لاختبار مدى سلامة الكليتين من المضاعفات واليوريا (البولينا) لاختبار سلامة هدم البروتين.

وفيما يلي استعراض النتائج:

1. جلوكوز الدم (ملج/ديسيلتر):

وجد زيادة معنوية عالية في مستوى سكر الدم ($P < 0.01$) في مجموعة المرضي مقارنة بالمجموعة الضابطة [**الجدول (5) و الشكل: (9)**].

2. الهيموغلوبين المجلكز (%):

أظهرت النتائج زيادة معنوية في نسبة الهيموغلوبين المجلكز ($P < 0.05$) في مجموعة المرضي مقارنة بالمجموعة الضابطة [جدول: (5) والشكل: (9)].

3. اليوريا (البولينا) (ملج/ديسيلتر):

وجد زيادة غير معنوية في مستوى اليوريا في بلازما مجموعة المرضي مقارنة بالمجموعة الضابطة [**الجدول (5) و الشكل: (9)**].

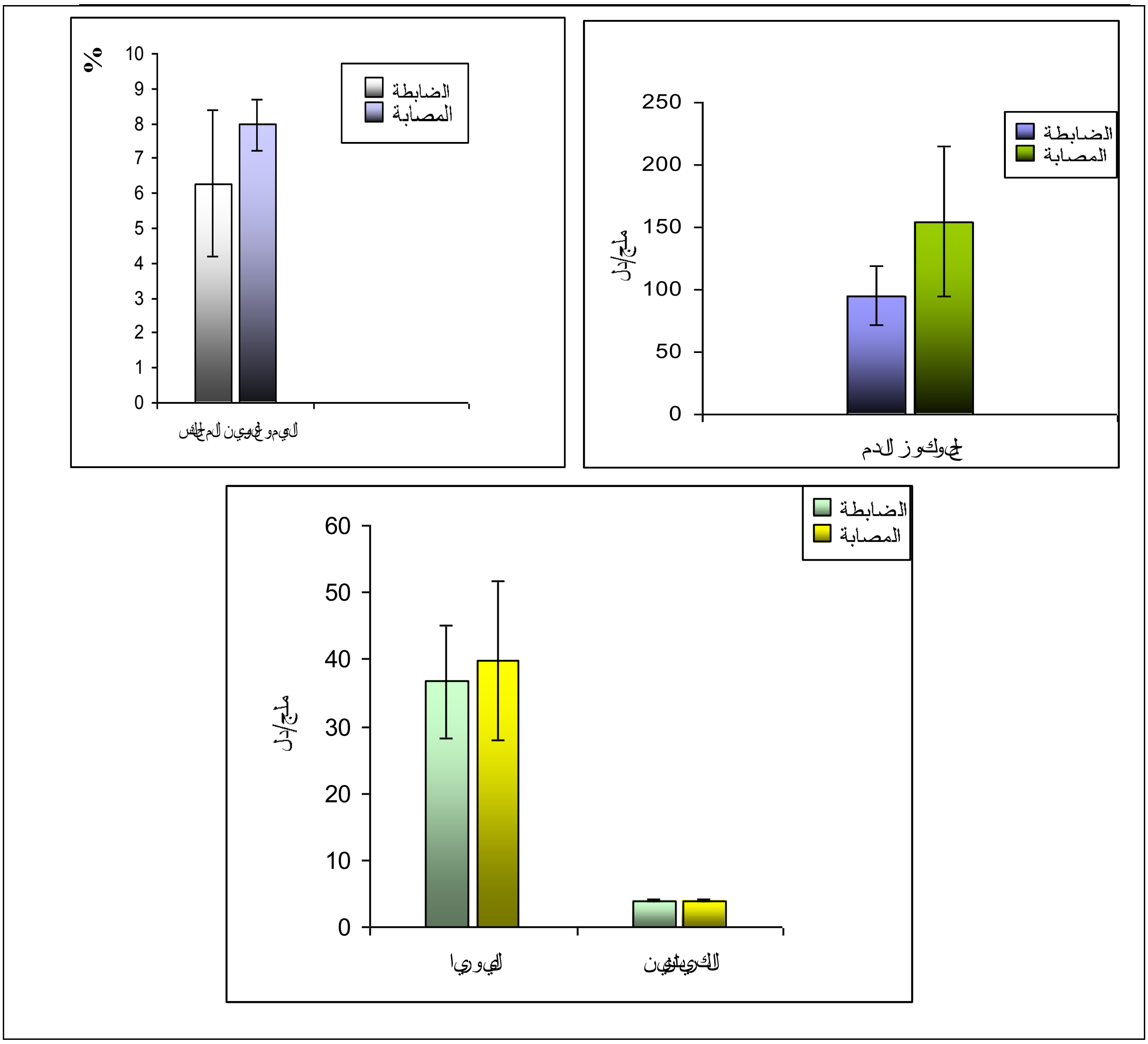
4. الكرياتنين (ملج/ديسيلتر):

لا يوجد فرق معنوي في مستوي الكرياتينين في البلازما بين المجموعتين الضابطة والمصابة بالرغم من تشتت قيمه عند المرضى، إلا أنه يبقى ضمن الحدود المقبولة، [**الجدول (5) و الشكل: (9)**].

الجدول)5(: المتوسط ± الإنحراف المعياري لبعض المؤشرات الكيميائية الحيوية في بلازما المجموعة الضابطة)عدد =11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(.

المجموعة / المؤشرات	الضابطة	المصابة بداء السكر النوع الثاني
جلوكوز الدم (ملج /ديسيلتر(	95.27 ± 23.80 (73.00 – 151.00)	154.52** ± 59.93 (76.00 – 277.00)
الهيموغلوبين المجلكز HbA1c)%(	6.27 ± 0.75 (4.92 – 7.60)	7.96* ± 2.09 (5.00 – 12.60)
اليوريا)ملج /ديسيلتر(	36.70 ± 8.44 (26.00 – 54.00)	39.79 ± 11.78 (21.00 – 71.00)
الكرياتنين)ملج /ديسيلتر(	1.14 ± 0.18 (0.92 – 1.48)	1.12 ± 0.03 (0.90 – 1.61)

* دلالة معنوية عند الاحتمالية $P< 0.05$ و **دلالة معنوية عالية عند الاحتمالية $P< 0.01$



الشكل: (9): يوضح متوسطات كل من الجلوكوز (ملغ/ديسيلتر)، و الهيموغلوبين المجلكز (HbA1c) (%)، اليوريا (ملغ/ديسيلتر)، الكرياتنين (ملغ/ديسيلتر) في بلازما المجموعة الضابطة (عدد =11) و المجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29).

5. دهون الدم الكلية:

5. 1. جليسريدات الدم الثلاثية)ملج/ديسيلتر(:

وجد انخفاض غير معنوي في الجليسريدات الثلاثية لدى المجموعة المصابة نسبياً إذا ما قورنت بالمجموعة الضابطة، ومع ذلك تبقى حدوده مرتفعة عند المرضى)46.00 – 198.00 ملج/ديسيلتر) **[الجدول)6(الشكل (10)].**

5. 2. كوليستيرول الدم)ملج/ديسيلتر(:

وجد انخفاض غير معنوي في الكوليستيرول لدى المجموعة المصابة نسبياً إذا ما قورنت بالمجموعة الضابطة، وحدوده مرتفعة عند المر ضى)134.00 – 267.00 ملج /ديسيلتر)]**الجدول)6(و الشكل (10)].**

5. 3. البروتينات الليبيدية عالية الكثافة؛ HDL-c)ملج/ديسيلتر(:

لوحظ انخفاض غير معنوي)$P < 0.05$(في البروتينات الليبيدية عالية الكثافة لدى المجموعة المصابة بداء البول السكري النوع الثاني مقارنة بالمجموعة الضابطة، وتشتت المتوسطات عالياً عند المصابين)204.00 – 25.00 ملج/ديسيلتر) مما يدل على الإضطراب الحادث في الدهون لديهم]**الجدول)6(و الشكل (10)].**

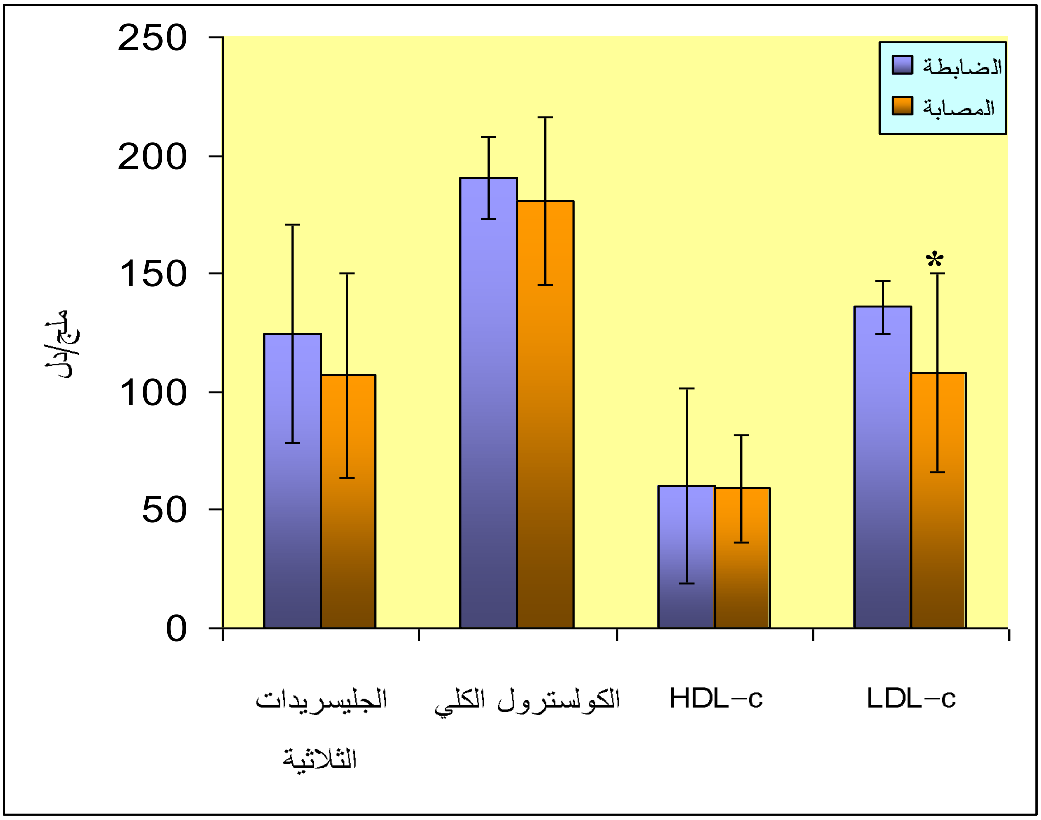
5. 4. البروتينات الليبيدية منخفضة الكثافة LDL-c)ملج/ديسيلتر):

أظهرت النتائج وجود زيادة معنوية في البروتينات الليبيدية منخفض الكثافة لدى المجموعة المصابة بداء البول السكري النوع الثاني مقارنة بالمجموعة الضابطة **[انجذول)6(ونشكم)10(].**

الجدول (6) المتوسط ± الإنحراف المعياري لبعض مؤشرات الدهون في مصل المجموعة الضابطة)عدد =11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(.

المجموعة / المؤشرات	الضابطة	المصابة بداء السكر النوع الثاني
الجليسريدا الثلاثية)ملغ/ديسيلتر(	124.45 ± 46.37 (49.00 – 201.00)	106.90 ± 43.09 (46.00 – 198.00)
الكولسترول الكلي)ملغ/ ديسيلتر(	190.55 ± 17.65 (152.00 – 208.00)	180.66 ± 35.11 (134.00 – 267.00)
البروتينات الليبيدية عالية الكثافة)HDL-c( )ملغ/ ديسيلتر(	41.67 ± 41.20 (23.00 – 164.00)	43.64 ± 22.91 (24.00 – 139.00)
البروتينات الليبيدية منخفضة الكثافة)LDL-c( )ملغ/ ديسيلتر(	135.75 ± 10.98 (113.00 – 155.00)	108.04 ± 41.99 * (25.00 – 204.00)

* دلالة معنوية عند الاحتمالية $p < 0.05$



الشكل (10): يوضح متوسطات كل من الكوليستيرول الكلي (ملج/دل)، الجليسريدات الثلاثية (ملج/دل)، البروتينات الليبيدية عالية الكثافة (HDL-c) والبروتينات الليبيدية منخفضة الكثافة (LDL-c) (ملج/دل) في بلازما المجموعة الضابطة (عدد =11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29).

6. الإجهاد التأكسدي:

بالإضافة إلى المؤشرات السابقة انصب إهتمامنا أكثر حول المؤشرات المتعلقة بالإجهاد التأكسدي، موضوع البحث للوقوف على مدى تطوره، الذي كثيراً مايرتبط بتطور داء السكري أو تفاقم مضاعفاته، واضطراب أيض الدهون، حيث تكون مصدراً لمختلف المضاعفات التي يعاني منها المصابون بهذا الداء بسبب عدم اتزان هذه المؤشرات ومضاداتها الطبيعية، داخلية المصدر أو الخارجية في الجسم. وهذه المؤشرات هي:

- فوق أكاسيد الدهون (LP_x) التي تمثلها (MDA) وهي مؤشرات نوعية لفوق أكسدة الدهون.
- الجلوتاثيون المختزل (GSH) العامل المختزل لفوق الأكاسيد داخلي المصدر.
- أنزيم الكتلاز (Catalase; CAT).
- الكفاءة الكلية لمضادات التأكسد (TAC)
- الفيتامين ج (Vitamin C).

وفيما يلي إستعراض النتائج الجدول: (7) الشكل (11) :

6. 1. المالونديالدهيد (فوق أكاسيد الدهون) (MDA) (نانومول/مللي):

وجد زيادة معنوية عالية ($P < 0.01$) في تركيز المالونديالدهيد (MDA) لدى المجموعة المصابة مقارنة بالمجموعة الضابطة، وحدوده مرتفعة عند المرضى (134.00 – 267.00 ملج/ديسيلتر) **[الجدول: (7) و الشكل (11)].**

6. 2. جلوتاثيون المختزل (GSH) (مللي مول/لتر):

سجل إنخفاض معنوي ($P < 0.001$) في تركيز الجلوتاثيون لدى المجموعة المصابة مقارنة بالمجموعة الضابطة **[الجدول: (7) و الشكل (11)].**

6. 3. نشاط أنزيم الكتلاز (Catalase; CAT) (وحدة/لتر):

أظهرت النتائج إنخفاضاً معنوية ($P < 0.05$) في نشاط أنزيم الكتلاز لدى المجموعة المصابة مقارنة بالمجموعة الضابطة [**الجدول:** (7) **و الشكل** (11)].

6. 4. الكفاءة الكلية لمضادات التأكسد (TAC) (مللي مول /لتر):

وجد إنخفاضاً واضحاً جداً ($P < 0.001$) في الفيتامين ج (Vitamin C) لدى المجموعة المصابة مقارنة بالمجموعة الضابطة [**الجدول:** (7) **و الشكل** (11)].

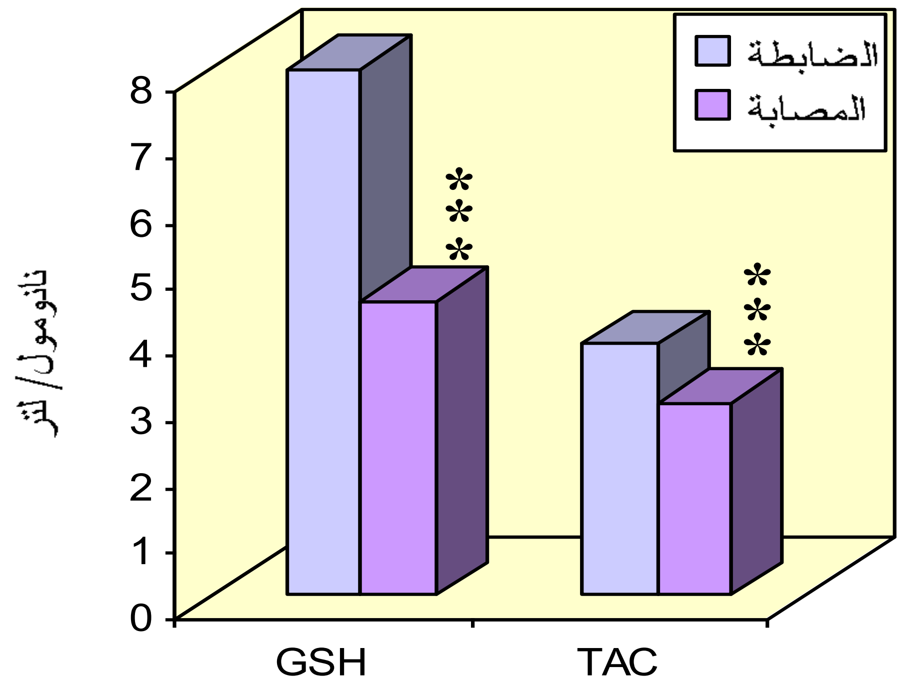
6. 5. فيتامين ج (Vitamin C) (ملج/لتر):

وجد أن تركيز فيتامين ج كعنصر مهم وعامل مضاد لفوق الأكسدة الدهنية خارجي المصدر، تناقص بشكل ملفت جداً ($P < 0.001$) في المجموعة المصابة بداء البول السكري النوع الثاني مقارنة بالمجموعة الضابطة [**الجدول:** (7) **و الشكل** (11)].

الجدول:)7(المتوسط ± الإنحراف المعياري لبعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي في بلازما المجموعة الضابطة)عدد =11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(.

المجموعة / المؤشرات	الضابطة	المصابة بداء السكر النوع الثاني
المالونديالدهيد (MDA))واوىهل/ مەم(	42.87 ± 4.54 (29.47 – 45.26)	51.21 ± 8.65 ** (34.74 – 71.58)
انجەىتلثٍىنانمختزل (GSH))مموِل نتر(	7.99 ± 3.10 (4.44 – 11.10)	4.45 ± 1.32*** (2.22 – 6.66)
أنزيم الكتلاز (CAT))وحذةن/تر(	317.81 ± 60.82 (262.73 – 490.62)	283.80 ± 31.10* (231.90 – 356.56)
الكفاءة الكلية لمضادات التأكسد (TAC))مە ەً هلن/تر(	3.81 ± 0.48 (2.71 – 4.59)	2.91 ± 0.48*** (1.95 – 3.95)
فيتامين ج (Vitamin C))ملغ/تر(	54.83 ± 7.53 (40.59 – 68.47)	26.86 ± 5.10*** (15.17 – 38.95)

* =دلالة معنوية عند الاحتمالية $p < 0.05$ ** = دلالة معنوية عالية عند الاحتمالية *** = $p<0.01$ و دلالة معنوية عالية جداً عند الاحتمالية $p < 0.001$.



الشكل)11(يوضح متوسطات كل من الجلوتاثيون المختزل)GSH(مللي مول/لتر ، الكفاءة الكلية لمضادات التأكسد)TAC(مللي مول/لتر في بلازما المجموعة الضابطة)عدد = 11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(.

الجدول: (8) المتوسط ± الإنحراف المعياري SD لكل من الجلوكوز، الهيموغلوبين المجلكز، الجلوتاثيون المختزل، والمالونديالدهيد في دم و بلازما المجموعة الضابطة (عدد = 11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29).

المجموعة / المؤشرات	الضابطة	المصابة بداء السكر النوع الثاني
جلوكوز (ملغ/ديسيلتر)	95.27 ± 23.80 (73.00 – 151.00)	154.52 ± 59.93 ** (76.00 – 277.00)
الهيموغلوبين المجلكز (HbA1c) (%)	6.27 ± 0.75 (4.92 – 7.60)	7.96 ± 2.09* (5.00 – 12.60)
الجلوتاثيون المختزل (GSH) (مايكرومول/لتر)	7.99 ± 3.10 (4.44 – 11.10)	4.45 ± 1.32*** (2.22 – 6.66)
المالونديالدهيد (MDA) (نانومول/ مل)	42.87 ± 4.54 (29.47 – 45.26)	51.21 ± 8.65 ** (34.74 – 71.58)

* دلالة معنوية عند الاحتمالية $p < 0.05$ ** = دلالة معنوية عالية عند الاحتمالية $p < 0.01$ = *** و دلالة معنوية عالية جداً عند الاحتمالية $p < 0.001$.

ثانيا:النتائج التجريبية

1- الوزن:

من الشكل (12) يتبين أن معدل وزن الجرذان الشواهد كان أعلى بكثير ± 207 (7.20 جم) من الفئتين اللتين أصيبتا بداء السكري التجريبي (7.08 ± 176.22 جم) و (5.43 ± 176.43 جم) حيث استعادت الجرذان المصابة بعد علاجها بالأنسولين وزنها تدريجيا، و ظهر ذلك بوضوح لدى الفئة التي طال عندها المرض، بينما الفئة التي عولجت فور حدوث المرض لم تستعد الزيادة في وزنها إلا عند الأسبوع الرابع.

2- جلوكوز الدم:

يتضح من الشكل (13) إرتفاع مستوى الجلوكوز بصورة معنوية لدى الفئتين المصابتين بداء السكري التجريبي، و كان حادا فور حدوث المرض (22.88 ± 355.00 ملج/دل)، و استقر ارتفاعه بعدما طالت مدة المرض (19.92 ± 275.00 ملج/دل) مما يبين أن المرحلة الأولى من الإصابة هي مرحلة حادة. ليعتدل مستواه بعد العلاج بالأنسولين لدى الفئتين بصورة معنوية، بخاصة الفئة التي طال لديها المرض (بعد 4 أسابيع من حدوث المرض) و التي إعتبرت حالة داء السكري لديها مزمنة Wilcox, et al, (1968).

3- جليسريدات الدم الثلاثية:

يوضح الشكل (14) أن الجليسريدات الثلاثية إرتفعت بشكل كبير لدى الفئة التي طال لديها المرض مقارنة مع الفئة التي لم يطل عندها المرض (11.50 ± 142.43 ملج/دل)، و بعد تقديم العلاج بالأنسولين تراجعت التراكيز إلى مستواها الطبيعي لدى المجموعتين و بشكل متساوي.

4- كولسترول الدم:

الكولسترول إنخفض بشكل واضح لدى المجموعة التي طال عندها المرض كما يبينه الشكل)**15**(، (بعد أربعة أسابيع)، بينما كان مرتفعا خلال المراحل الأولى من داء السكر التجريبي، إذ تبين الأرقام تجانس التراكيز لدى المجموعتين بعد العلاج بالأنسولين، مع انخفاض لدى المجموعة التي طال لديها المرض، عند نهاية الأسبوع السادس ± 57.67 (7.69 ملج/دل) من العلاج بالأنسولين، ثم إرتفع إلى مستواه الطبيعي.

5- فوسفولبيدات الدم:

تبين منحنيات الشكل **(16)** أن تركيز الفوسفولبيدات إنخفض لدى المجموعة التي طال عندها المرض (B2)، بينما كان أعلى عند المجموعة التي لم يطل عندها المرض (B2) عن المعدل الطبيعي (1,81 ± 138 ملج/دل) وهذا يبين مدى ارتباط هذه المكونات الدهنية بحالة المرض حاد أو مزمن.

6- دهون الدم الكلية:

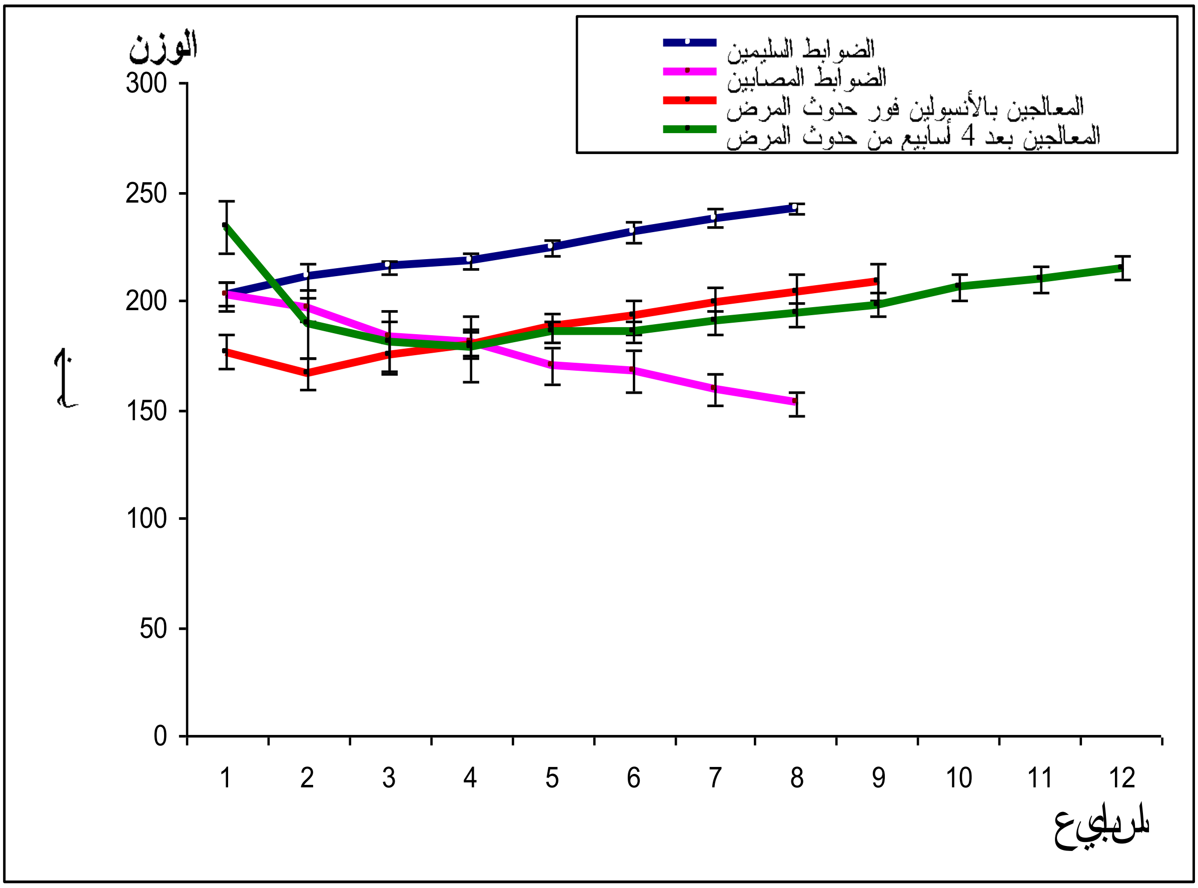
من الشكل **(17)** يتضح أن التركيزات كانت عالية (11.83 ± 438.22 ملج/دل) فور حدوث المرض (المرحلة الحادة) بينما تراجعت (12.40 ± 382.57 ملج/دل) بعد مضي أربعة أسابيع من حدوث المرض (المرحلة المزمنة)، مما يظهر سرعة تأثر المكونات الدهنية بمدى باضطراب أيض الجلوكوز.

الإجهاد التأكسدي:

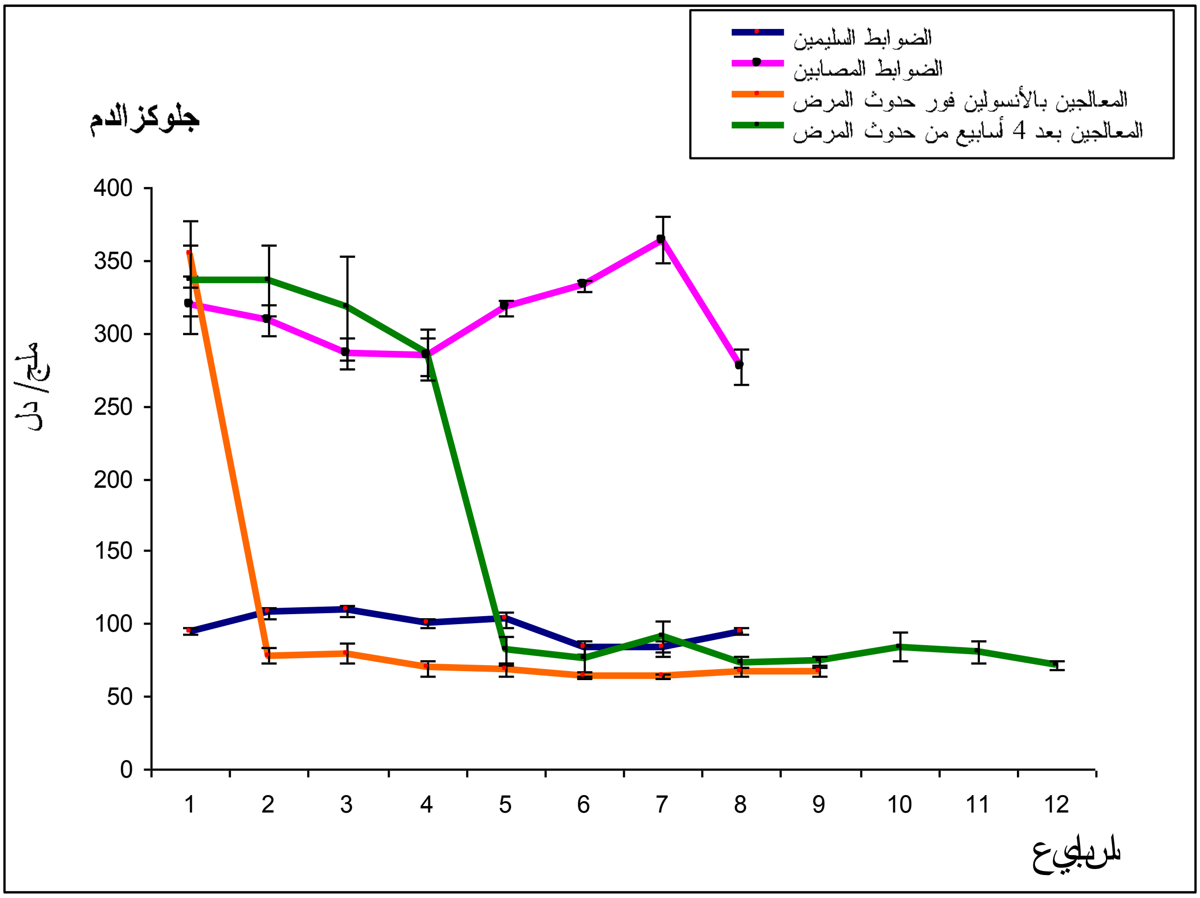
حالة الإجهاد التأكسدي بدليل المؤشرات المبينة في الشكل)**18**(عند الجرذان السليمة (الضوابط السليمة) كان مستواها أعلى مقارنة بالجرذان المصابة بداء السكر

التجريبي، إذا ما استثني نشاط أنزيم SOD الذي كان منخفضا عند الجرذان السليمة 0.22) (وحدة/جم Hb 0.05 ± و ارتفع عند المجموعة المصابة بداء السكري التجريبي 0.04 ± 0.46) (وحدة/جم Hb Hb في الأسبوع (0(و (0.08 ± 0.44 وحدة/جم Hb) في الأسبوع (8(، ليعود فينخفض ثانية عند المجموعة المعالجة بالأنسولين، بعد 8 أسابيع من حدوث المرض Hb) (0.04 ± 0.25 وحدة/جم.

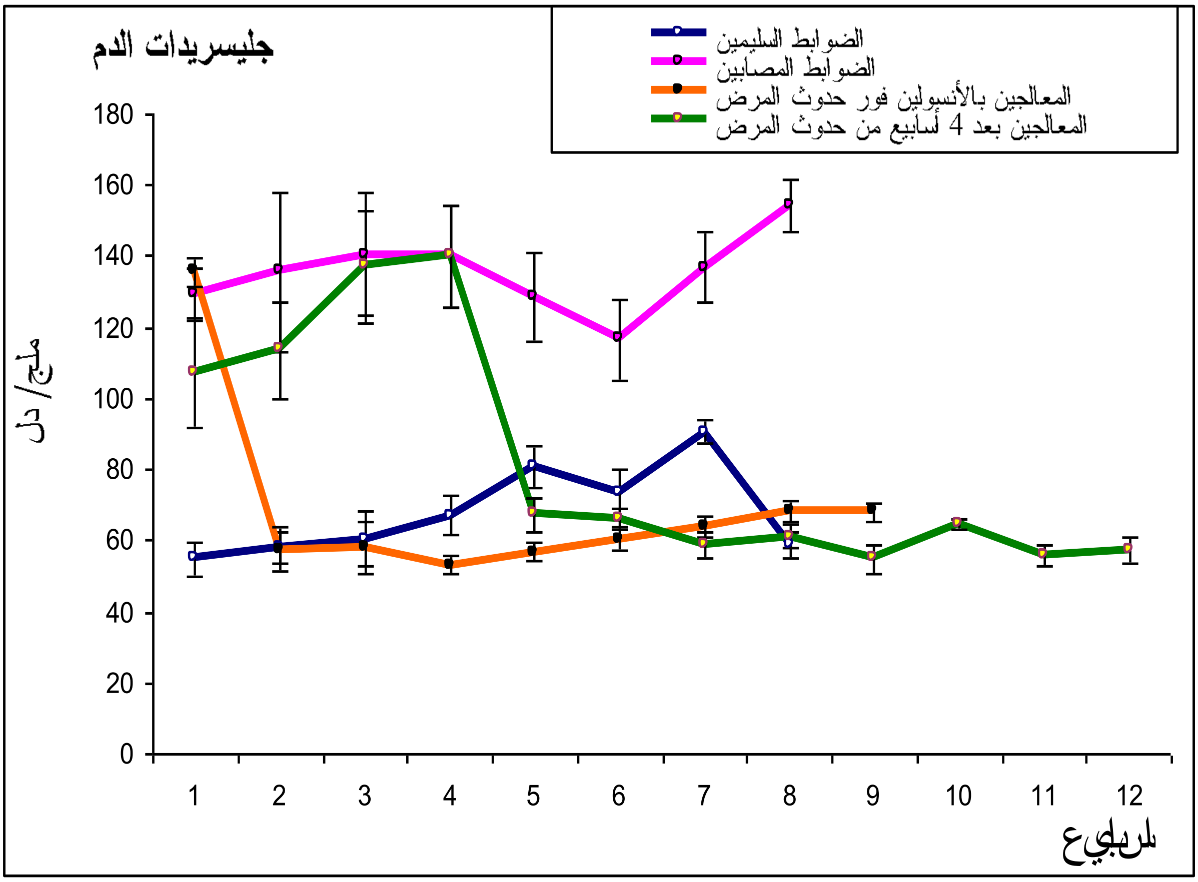
و ما يمكن ملاحظته من الشكل)19(هو عودة نشاط كل الأنزيمات المضادة للأكسدة إلى نشاطها الطبيعي بعد إخضاع الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي للعلاج بالأنسولين، لكن بقت مستوياتها رغم ذلك دون قيم الضوابط، باستثناء نشاط أنزيم SOD الذي كان أعلى بمدلول غير معنوي عند الفئة المعالجة بالأنسولين.



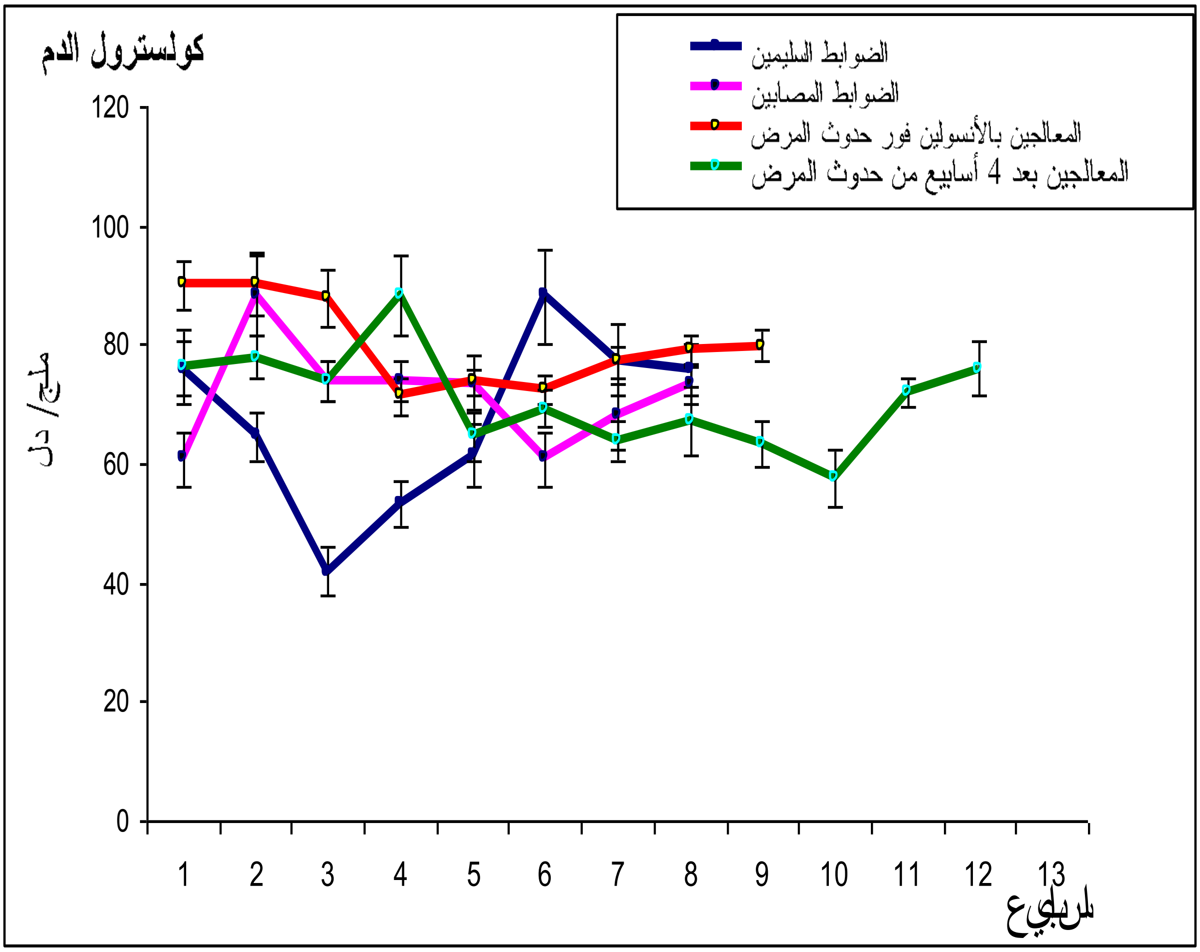
الشكل (12) تغيرات الوزن بالجرامات عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضوابط السليمة و الضوابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض



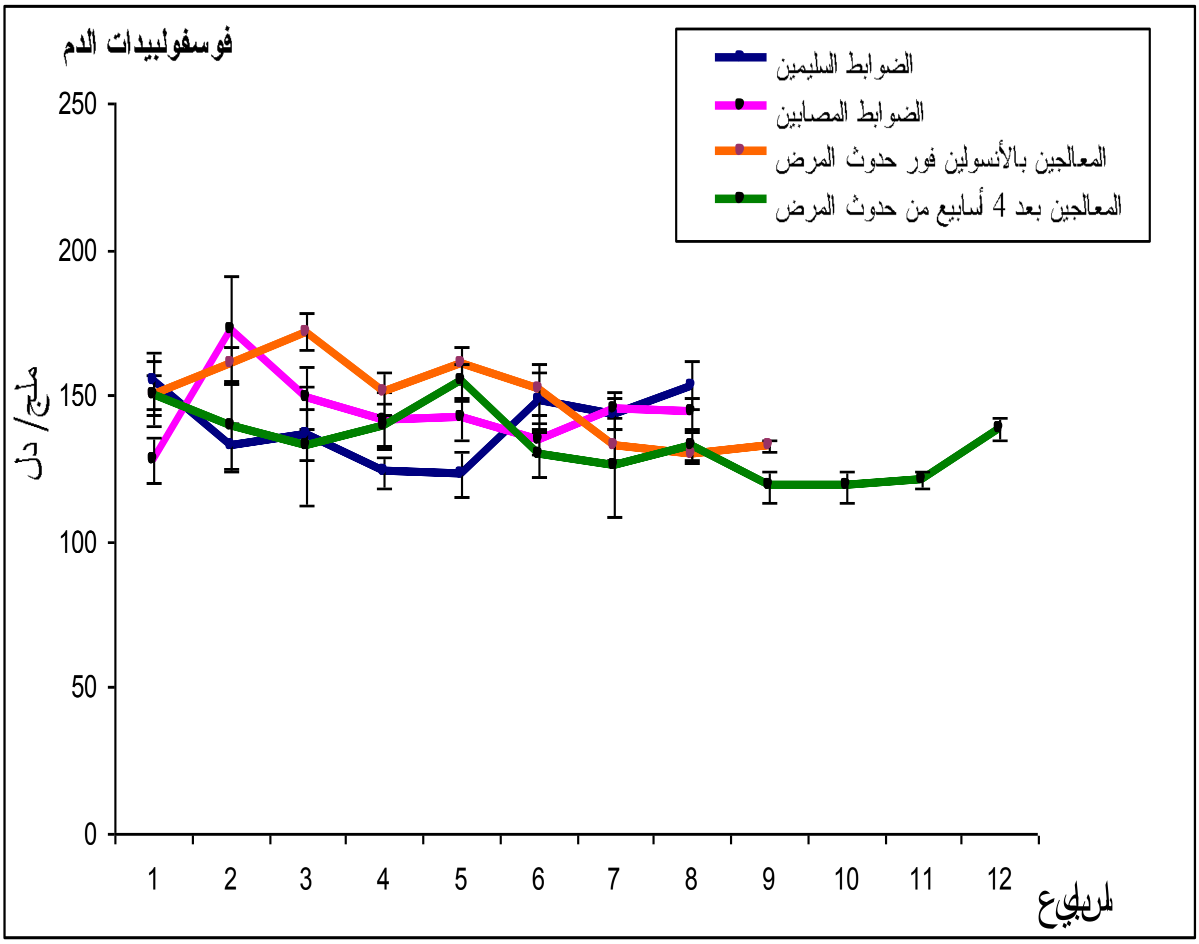
الشكل (13) تغيرات جلوكوز الدم م لج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضوابط السليمة و الضوابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض



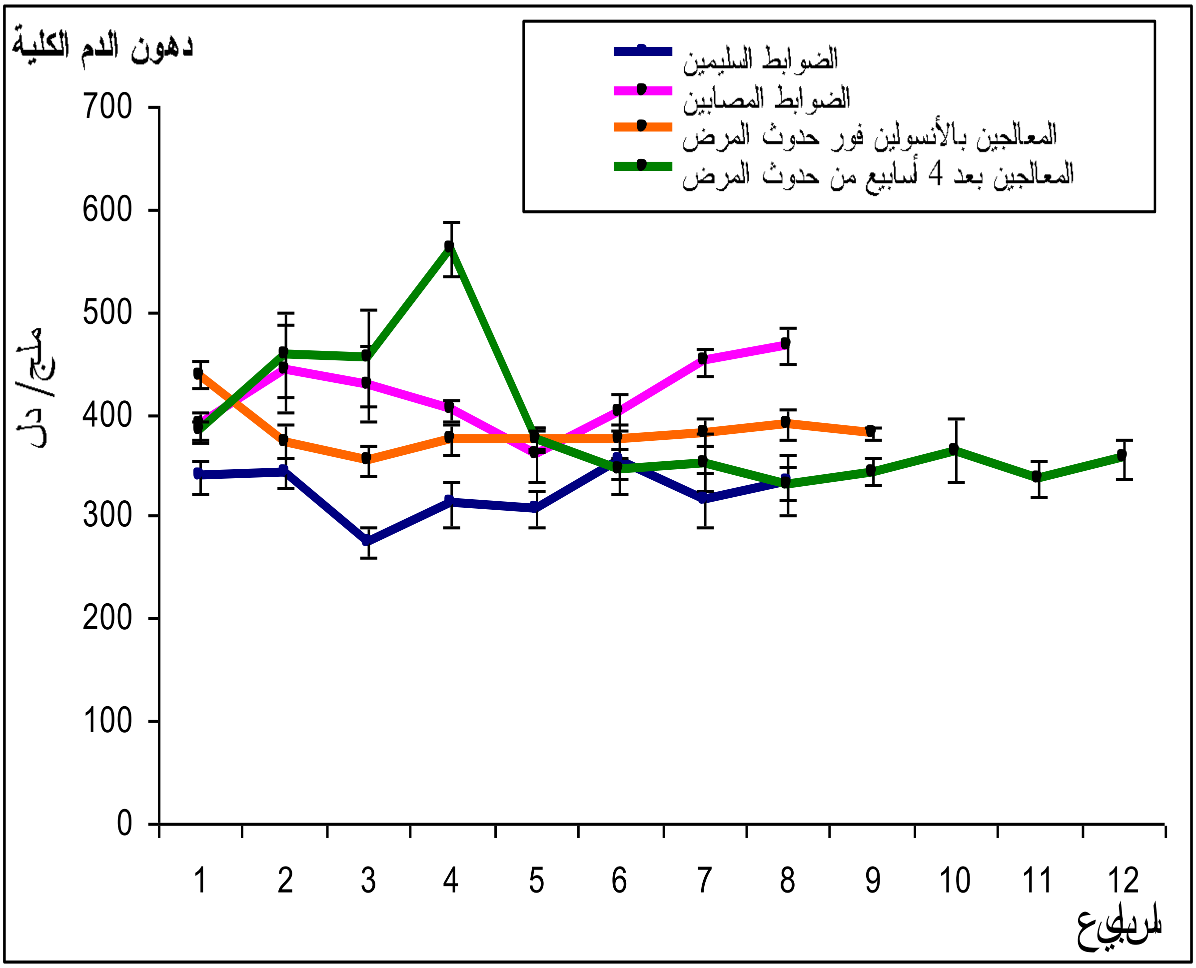
الشكل (14) تغيرات جليسريدات الدم الثلاثية م لج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان ال ضوابط السليمة و الضوابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض.



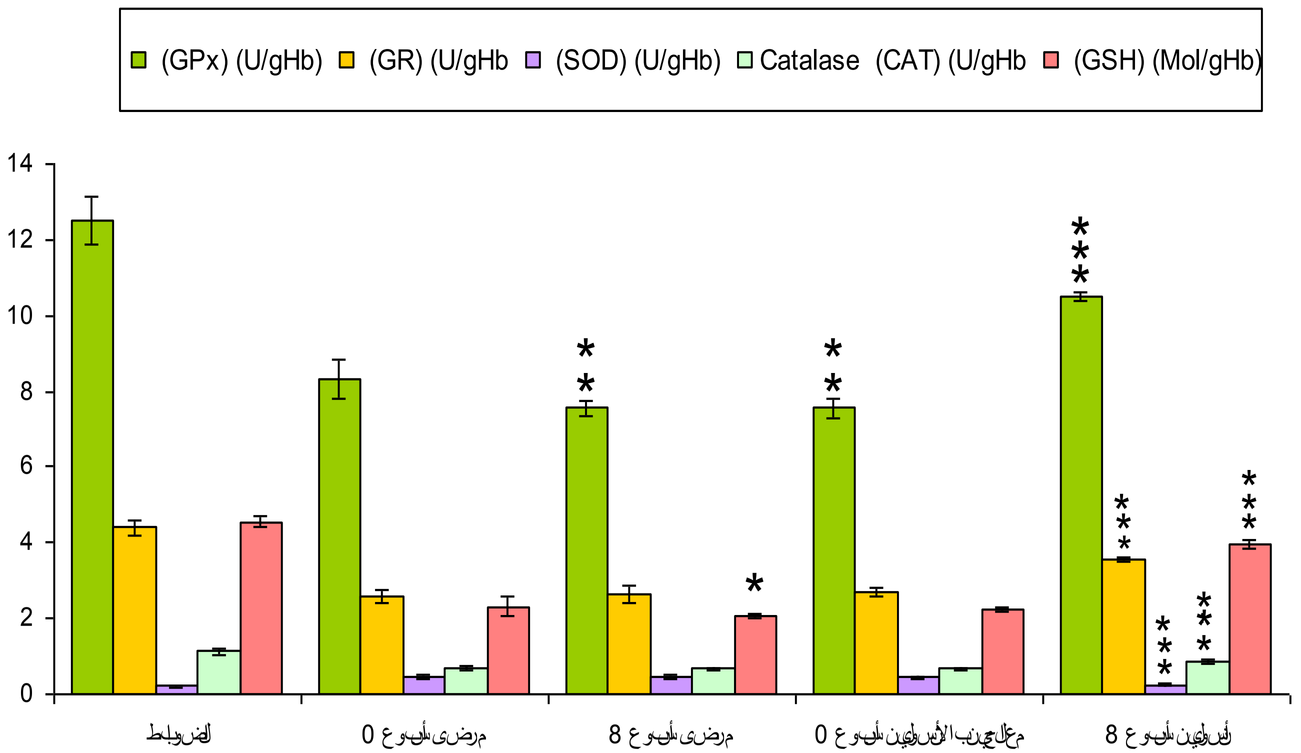
الشكل (15) تغيرات كولسترول الدم م لج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضوابط السليمة و الضوابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض.



الشكل (16) تغيرات فوسفولبيدات الدم ملج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضوابط السليمة و الضوابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض.



الشكل (17): التغير في مستوى دهون الدم الكلية م لج/دل، مع ارتفاع عال لدى مجموعة الضوابط المريضة، و كان منخفضا بشكل معنوي لدى فئة ال ضوابط السليمة.أما المجموعتين المعالجتين بالأنسولين فكان معتدلا.



الشكل(18) : توضح التغيرات لبعض المؤشرات المضادة للأكسدة (في بلازما مجموعة الضوابط السليمة الضوابط المريضة غير المعالجة بالأسولين GSH؛ CAT؛ إنزيم SOD؛ إنزيم GR؛ إنزيم GPx إنزيم والمصابة والمعالجة بالأنسولين فور بداية الإصابة و بعد 8 أسابيع من حدوث المرض.

* = معنوية عند $p<0.05$ ** = معنوية عالية عند $p<0.01$ و *** = معنوية عالية جدا عند $p<0.001$

مناقشة النتائج

مناقشة النتائج

A) الدراســــة الإكلــينيكية

يشكل الإجهاد التأكسدي في داء السكري بنوعيه الرئيسيين، المعتمد على الأنسولين)النوع الأول(و غير المعتمد على الأنسولين)النوع الثاني(عائقا في التخلص أو التخفيف من المضاعفات الثانوية التي تصاحب هذا المرض، بالنظر إلى ما يرافقها من اعتلال للأعضاء الحيوية مثل الكلى، الأوعية الدموية، القلب، الجهاز العصبي و العين و الوفيات دون تمييز بين السن، الجنس و العرق، و يرجع ذلك بالدرجة الأولى حسب Laakso, Lehto (1997) و Zargar (1999) إلى إحداث مضاعفات وعائية تصل نسبتها إلى 80% عند المصابين بداء السكري خاصة النوع الثاني موضوع دراستنا.

تزداد المضاعفات، خاصة عند تقادم المرض و بالتالي التقدم في السن أو عدم انضباط العلاج بسبب جهل العناية و اللامبالات، يضاف إلى هذا احتمال عدم انتظام النظام الغذائي الذي يعتبر حجر الزاوية في مراقبة داء السكري. باعتباره مرض أيضي بالدرجة الأولى. و تعزي عديد الدراسات، Baynes,(1995)، Bonnefont-Rousselot et al., (2000) Anderson et al., (2001) Quilliot et al., (2005) و Saxena et al., (2005)، التي اهتمت بداء السكري النوع الثاني و مضاعفاته، ذلك إلى:

1- فرط ارتفاع مستوى جلوكوز الدم، بعد صوم فيزيولوجي، فوق عتبة المستوى الطبيعي < 126 ملج/دل المتفق عليه من قبل كل من WHO, (1998).

2- اضطراب أيض الدهون، الإرتفاع المفرط لهرمون الأنسولين، التي تساهم

جميعها في الإرتفاع المفرط للأنواع الأكسيجينية النشطة ROS منها الجذور الحرة، التي تكون سببا في ظهور حالة الإجهاد التأكسدي Fabryova, Cagan, (1995) Ceriello (2005) و Firoozrai et al., (2007).

إن ما يميز إضطراب أيض الدهون النوعي لداء السكري، هو الإرتفاع في تركيز الجليسريدات الثلاثية و انخفاض الليبوبروتينات عالية الكثافة HDL Howard (1987) و Taskinen (1990)

إعتمادا على ما ذكر، أجريت هذه الدراسة بهدف الوقوف على تطور حالة الإجهاد التأكسدي عند المصابين بداء السكري خاصة النوع الثاني، لدى عينة من الأفراد القاطنين بالشرق الجزائري مقارنة بنظرائهم السليمين (الضوابط) باعتماد معاينة بعض المؤشرات ذات الصلة بالإجهاد التأكسدي (نواتج فوق الأكسدة الدهنية MDA و القدرة الإختزالية GSH، أنزيم CAT، فيتامين ج و السعة الكلية المضادة للأكسدة)TAC). حيث بالرغم من الأهمية القصوى التي يكتسيها الموضوع، إلا أنه لم يتم العثور على دراسات تطرقت لظاهرة الإجهاد التأكسدي عند هذه الفئة من المرضى بداء السكري من الجزائريين، إذا ما استثنينا أطروحة دكتوراة Lachili (2001) التي تطرق فيها جزئيا إلى موضوع المرأة الحامل المصابة بداء السكري.

و بالنظر إلى أهمية الموضوع، أجرينا بالتوازي دراسة تجريبية تكميلية على الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي المحرض بمادة الألوكسان، كتكملة للدراسة الإكلينيكية بغرض الإحاطة بالأنظمة المختلفة المضادة للأكسدة داخلية المنشأ (أنزيمات

SOD, CAT, GPx و GR) بالإضافة إلى القدرة الإختزلية (GSH) و مدى ارتباطها بمضاعفات المرض، في أفق تناولها بدراسات معمقة مع العلاج بمضادات الأكسدة الإضافية من فيتامينات و عناصر معدنية نادرة، أو العلاج بعقاقير مزدوجة المفعول (مخفضة لمستوى للجلوكوز في الدم و مضادة للإجهاد التأكسدي) كما يراه Baynes, (1995)، للوقوف على مدى نجاعة هذا العلاج عند البشر، و بالتالي التقليل من المضاعفات الملازمة لداء السكري مثلما هو معمول به في بلدان أخرى Bonnefont-Rousselot et al., (2000), Anderson et al., (2001) و (Quilliot et al., 2005).

مؤشر الكتلة الجسمية BMI:

في هذه الدراسة لم يلاحظ فرق معنوي في مؤشر الكتلة الجسمية عند الفئتين و هو ما يتفق مع نتائج (2007) Firoozrai et al., و (2000) Sekeroglu et al., حيث قد يعزى ذلك إلى عدم تجانس مؤشر الكتلة الجسمية عند بعض الأفراد الفيئتين و ليس لدى الفئة نفسها (أصحاء و مرضى(4.87 ± 30.27 و 4.98 ± 28.70 كلج/م^2) على التوالي، مع ذلك يبقى معدل هذا المؤشر أعلى من المعدل المرجعي 23 كلج/م^2، فعند فئة المرضى بداء السكري النوع الثاني يكون عاليا بدلالة غير معنوية و هذا ما يتفق مع نتائج كل من Lee et al., (2005), Shimada et al., (2005) Farvid et al., (2005), و Medina et al., (2007) Stefanovic et al., (2008)، و هو ما قد يفسر تأثير زيادة مؤشر الكتلة الجسمية على نشؤ داء السكر النوع الثاني.

أما عن مدى ارتباط هذا المؤشر بحالة الإجهاد التأكسدي عند المرضى بداء السكري، لم يشر Harris (1992) عند دراسته لتنظيم الأنزيمات المضادة للأكسدة إلى تأثير مؤشر الكتلة الجسمية على حالة الإجهاد التأكسدي بقدر ما يؤثر كل من عامل السن، العوامل الهرمونية، نوع النسيج و العناصر المعدنية المساعدة.

يتضح من الجدول)4(أن مؤشر الكتلة الجسمية BMI في دراستنا كان أكثر تشتتا عند المرضى منه عند الضوابط و هي نفس الملاحظ التي أظهرتها دراسة Lee et al., (2005)، عندما قارن بين السليمين (الضوابط) و المصابين بداء السكري النوع الثاني، حيث بين أن 74 % من المرضى كانوا يعانون من زيادة في الوزن مقارنة بـــ 57% من

السليمين، بينما 37 % من المرضى كانوا إما سمان أو مفرطي السمنة، بينما عند مرضانا تراوحت القيم ما بين)41.02 – 20.96 كلج/م^2) مع أن المتوسط كان أقل منه بقليل عن الأفراد الضوابط، مع الأخذ بعين الإعتبار الفئة العمرية التي قد يرج ع لها السبب في تشتت القيم. و لم يكن هناك فرق معنوي، ما يوحي بأن المرضى قد يكونون غير منضبطي العلاج، و تتفق نتائج دراستنا مع نتائج (Anderson et al., (2001) 0.15 ± 28.9 و 0.15 ± 29.6 كلج/م^2) عند المرضى و السليمين على التوالي، حيث استخدم هذا المؤشر كضابط للزيادة في الوزن عند المصابين بداء السكر النوع الثاني المعالجين ببعض العناصر المعدنية الأثرية.

المؤشرات البيوكيميائية:

بالنسبة لمؤشرات الإقصاء و الإحتواء إعتمدنا (الكرياتنين و اليوريا) كدليل على سلامة وظيفة الكليتين، و بالتالي يتضح من الجدول)5(أن الفئتين لا تعانيان من المضاعفات الكلوية (Molnar et al., (2000، Kassab et al., (2003) حيث تبقى التركيزات ضمن الحدود الطبيعية بالنسبة لكل من للكرياتنين > 12 ملج/دل Anderson et al., (2001) و (Save, et al., 2006) اللذين إستعانا بها كمؤشر على سلامة وظيفة الكليتين و مثلها اليوريا.

جلوكوز الدم و الهيموغلوبين المجلكز

تركيزات الجلوكوز المصلي بعد صوم ليلي عند المرضى موضوع الدراسة ، بقي مميزا بارتفاعه عن الحد المسموح به المبين سابقا > 126 ملج/دل، مقارنة بالضوابط بدلالة

معنوية عالية $p < 0.01$ و هو ما ينعكس على نسبة الهيموغلوبين المجلكز HbA_1C،

كمؤشر قوي على مدى انضباط العلاج، بارتفاع معنوي متوقع $p < 0.05$ مقارنة بالضوابط

(% 2.09 ± 7.96, % 0.75 ± 6.27) على التوالي، ذلك ما يتفق مع نتائج Medina et al., (2007)، مما قد يعكس ربما عدم انضباط العلاج إلى حد ما لدى هذه الفئة من المرضى بداء السكري على الأقل خلال الثلاثة شهور الأخيرة قبل إجراء التحاليل. و هذا ما بينته نتائج (Kassab et al., 2003)، Farvid et al., (2005) و Seckin et al., (2006) و التي كانت أعلى من نتائجنا، و من ثم يمكن اعتبار المرضى موضوع الدراسة أقل عرضة للمضاعفات المبكرة المتعلقة بداء السكري، مثلما أشارت إليه دراسة سابقة قامت بها مجموعة DCCT سنة 1993 و 1998 مبينة أهمية تنظيم مستوى جلوكوز الدم للوقاية من مضاعفات الأوعية الدقيقة المصاحبة لداء السكري. و من جهته استنتج Save et al., (2006) أن الوصول إلى معدل الجلوكوز الطبيعي المثالي عند معظم المرضى بداء السكري أمر من الصعب بلوغه.

و لدراسة علاقة الإجهاد التأكسدي بتطور المرض، أشارت دراسة سابقة Jain et al., (1989)، أجريت على أغشية كريات الدم الحمراء لمرضى داء السكري، إلى الإرتباط الإيجابي للتأثير التدميري لفوق أكسدة الدهون الغشائية و نواتجها (MDA) بنسبة الهيموغلوبين المجلكز HbA_1C (مؤشر انضباط مستوى جلوكوز الدم) عند المرضى غير منضبطي العلاج، و يرجع ذلك حسب Siems et al., (1995) إلى النسبة العالية للأحماض

الدهنية غير المشبعة، المشكلة لفوسفولبيدات الغشائية، التي قد تكون هدفا سهلا أكثر من غيرها من الأحماض الدهنية لتأثير الجذور الحرة.

و يؤيد Komosińska–Vassev et al., (2005) ذلك بملاحظته لارتفاع مستويات البروتينات المجلكزة، من بينها نسبة HbA_1C عند ارتفاع تركيزات جلوكوز الدم، الذي رافقه ارتفاع في الإجهاد التأكسدي و يؤكده الإنخفاض في مستويات العوامل الأنزيمية و غير الأنزيمية المزيلة للجذور الحرة، و العكس مع الضوابط، مما يبين العلاقة المتعدية لمدى ارتباط حالة الإجهاد التأكسدي بفوق الأكسدة الدهنية.

بينما في دراسته المقارنة بين حالة الإجهاد التأكسدي و علاقتها بمستوى جلوكوز الدم في داء السكري النوع الأول و تغير تركيز الدهون خلال ثلاثة مراحل: الصوم، بعد التغذية و بعد الإمتصاص، نفى Manuel-y-Keenoy et al., (2005) وجود الإرتباط بين كل من نسبة مؤشر انضباط الجلوكوز HbA_1C مع حالة الإجهاد التأكسدي بعد الصوم.

و على النقيض من ذلك، و في دراسة تجريبية على الجرذان المصابة بداء السكري بغرض دراسة التأثير التثبيطي لكل من Spermidine و L-arginine على ارتباط الجلوكوز بالهيموغلوبين و فوق أكسدة الدهون، إستنتج Méndez, Balderas, (2005) وجود إرتباط إيجابي بين نسبة HbA_1C و تركيز نواتج فوق الأكسدة الدهنية التي تعتبر بدورها مؤشرا لحالة الإجهاد التأكسدي، و هو ما أظهرته دراستنا، مما يسمح باستنتاج أن الإرتفاع في جلوكوز الدم تصاحبه زيادة في حدوث الإجهاد التأكسدي.

المؤشـــــــرات الدهنية:

الجليسريدات الثلاثية، الكولسترول الكلي ، البروتينات الدهنية عالية الكثافة –

كوليستيرول)HDL-c(، البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة –كوليستيرول)LDL-c(، هي

المكونات الدهنية ذات الصلة بالمضاعفات المصاحبة لداء السكري كتصلب الشرايين

الواسعة و الضيقة حسب (Isomaa et al., 2001)، Taskinen, (2003)، Phillips et al.,

(2004) و(2006) Mastorikou et al.,.

جليسريدات الدم الثلاثية:

الجلسريدات الثلاثية، تعد عامل خطر لحدوث المضاعفات الوعائية القلبية عند

مرضى داء السكري حسب ما ورد في دراسة (1998) Durrington, و Tushuizen et al.,

(2005)، و عند المرضى موضوع الدراسة الشكل (10)، تبقى ضمن المجال الطبيعي

)43.09 ± 106.90 ملج/دل)، ربما يرجع ذلك لضبط مستوى الجلوكوز عندهم مقارنة بنتائج

(1986) Grundy; Anastasia,)25 ± 178 ملج/دل) و(2005) Shimada et al.,) ± 157.6

158.4 ملج/دل) و (2007) Medina et al.,)59.0 ± 161 ملج/دل)، أما نتائج Farvid et al.,

(2005) أظهرت مستويات عالية)1.19± 198 ملج/دل) بالرغم من إضافة المغذيات

الصغرى للمرضى المصابين بداء السكري النوع الثاني، حيث تلقت مجموعة منهم 30

ملج من المغنزيوم و 30 ملج من الزنك و مجموعة أخرى 200 مجم من الفيتامين **ج** و

100 وحدة دولية من الفيتامين E وآخر مجموعة تلقت مزيجا من المكونات السابقة، أما

(1998) Black et al.، (2001) Davidson et al., و (2006) Save et al., أمكنهم

التخفيض منها بالعلاج بـــ Atorvastatine بإعطاء الأخير 10 ملج / يوم للمرضى بداء السكري المصحوب باضطراب في أيض الدهون، حيث انخفضت بعدما كانت مرتفعة، في حين لاحظ Levy et al., (1998 b) إرتفاع مستوى الجليسريدات الثلاثية المصحوب بـــارتفاع جلوكوز الدم (75 ± 157 ملج/دل) و (58 ± 159 ملج/دل) على التوالي و ذلك خلال الإصابة بالذبحة الصدرية.

و من جهتهما سجل كل من Anderson et al., (1999) و Kassab et al., (2003) إرتفاعا معنويا للجليسريدات الثلاثية البلازمية عند مرضى داء السكري (1.04 ± 180 ملج/دل) مقارنة بالضوابط (0.60 ± 0.87 ملج/دل) في حين لم يسجل (Van Wijk et al., 2005) ذلك في دراسته.

و جذير بالملاحظة أن إضطراب أيض الجلوكوز يصاحبه إضطراب الأيض الدهني عند المصابين بداء السكري بسبب فرط إنتاج الجليسريدات الثلاثية في الأمعاء حسب Haidari et al., (2002) و Rubin et al., (2006) من جهة، و الإنتاج العالي لـــ VLDL في الكبد و انخغاض نشاط أنزيم lipoprotéine lipase من جهة أخرى Adeli et al., (2001).

و بالمقابل يرى Sniderman et al., (2001) أن عاملا مشتركا آخر إضافيا عند المصابين بداء السكري، قد يكون هو المسؤول عن المضاعفات الوعائية-القلبية، هو اضطراب أيض بعض أنواع ليبوبروتينات الدم، التي تعتبر عاملا منشئا لتصلب الشرايين

و بسبب فرط ارتفاع الجليسريدات الثلاثية و آبوبروتين Hypertriglycéridémie B Hyperapo B، و من ثم فالمؤشرات الأولى لهذه الحالة هي الإرتفاع المفرط في الجليسريدات الثلاثية، الإنخفاض في HDL-c و الإرتفاع في LDL-c.

و يمكن أن يكون هناك إرتباط إيجابي بين نسبة الهيموغلوبين المجلكز HbA_1C و مستوى الجليسريدات الثلاثية، بحكم ارتباط مستوى هذه الأخيرة بأيض الجلوكوز و هو ما أشارت إليه فعلا دراسة أخرى (Beylot, Gracia, (1983, عندما ربط العلاقة بين مستوى الدهون في مصل المرضى بداء السكري و اعتلال الأوعية الدقيقة و Haidari et al., (2002) و Rubin et al., (2006) الذين اهتما من جهتهما بدراسة التعدد الشكلي للجين المنتج للبروتين الناقل للجليسريجات الثلاثية و علاقته بداء السكري النوع الثاني مما يبين العلاقة الوثيقة بين هذين المؤشرين، و من ثم أهمية انتظام العلاج عند المصابين بداء السكري النوع الثاني و دعمه بالمغذيات الصغرى لتفادي ظهور الأعراض الخطيرة متوسطة و بعيدة المدى حسب Kassab et al., (2003).

كولسترول الدم:

يعد الكولسترول المصلي الكلي، حسب Wirta et al., (1996). من عوامل خطر تطور الإصابة الكلوية، ففي دراستنا يظهر أن عند العينة المدروسة، يبقى لديها ضمن المجال الطبيعي، مع انخفاضه الطفيف عند المرضى (35.11 ± 180.66 ملغ /دل) بالمقارنة مع الضوابط (17.65 ± 190.55 ملغ/دل)، حيث تتفق هذه النتائج مع نتائج Levy et al., (1998 b)، Farvid et al., (2005) و Shimada et al., (2005) الذين درسوا العلاج

بمضادات الأكسدة عند المصابين بداء السكري النوع الثاني و تأثيره على المضاعفات الناتجة عن الإجهاد التأكسدي.

مما سبق يمكن التكهن بنقص في عملية إنتاج الأنواع الأكسيجينية النشطة ROS عند المصابين بداء السكري، حيث بين Ruhe, McDonald, (2001) في دراسته أن الإرتفاع المفرط في كل من الجليسريدات الثلاثية و الكولسترول المصليين يسهل من إنتاجها خاصة عند المرضى البدينين، مستنتجا بذلك أن السمنة ترتبط بدرجة زيادة الإجهاد التأكسدي، مما قد يفترض أن مؤشر الكتلة الجسمية له تأثيره على الإجهاد التأكسدي، و هو ما لم يشر إليه Harris (1992).

في الوقت الذي أشار فيه Anderson et al., (1999) إلى تقارب تركيزات الكولسترول (0.17 ± 4.74 ,0.16 ± 4.69 مللي مول) عند المصابين بداء السكري و الضوابط على التوالي ، فإن نتائج Grundy et al., (1986) تظهر إرتفاعا في مستوى الكولسترول عند أولئك الذين يعانون من فرط في الجليسريدات الثلاثية.

في حين تتفق نتائجنا جزئيا مع تلك التي ظهرت في دراسة Saxena et al., (2005) و Medina et al., (2007) خصوصا ما يتعلق بفوق الأكسدة الدهنية، و التي تعتبر برأي كل من Baynes, (1991) و Giugliano et al., (1996) من مسببات مضاعفات الأوعية الواسعة عند مرضى داء السكري.

البروتينات اللبيدية خفيفة الكثافة LDL-c:

يعتبر LDL من أهم نواقل الكولسترول و الجليسريدات الثلاثية.

من النتائج المبينة يتضح أن هذه البروتينات الناقلة للدهون LDL-c، إنخفضت معنويا عند فئة المرضى $p < 0.05$، (41.99 ± 108.04 ملج/دل) منسجمة مع الإنخفاض في الكولسترول الكلي (35.11 ± 180.66 ملج/دل) عند نفس الفئة، و هذا ما يتطابق مع نتائج (Levy et al., 1998 b) و (Medina et al., 2007) .

مقارنة بالمرضى، يلاحظ ارتفاع غير معنوي للـــ LDL-c عند فئة الضوابط إلا أنه يبقى ضمن الجال الطبيعي قد يعزى ذلك إلى ارتباط أيض هذه البروتينات عند أحد أفراد هذه الفئة بالجانب الوراثي أو التعدد الشكلي (Polymorphisme) للجين المنتج للبروتين الناقل، المرتبط باضطراب أيض الدهون حسب Rubin et al., (2006).

و مقارنة أيضا مع ما توصل إليه Grundy et al., (1986) عند دراسته لتأثير عديد أسترات السكروزعلى أيض البروتينات الدهنية و الكولسترول عند الأفراد البدينين المصابين و غير المصابين بداء السكري النوع الثاني، حيث لاحظ إنخفاضا في مستوى الجليسريدات الثلاثية البلازمية عند المصابين بداء السكري مقيدي الحريرات الغذائية مع أو بدون أسترات السكروز، و إنخفاضا في مستوى كل من الكولسترول الكلي و LDL-c أثناء التغذية على أسترات السكروز أكثر منه عند تقييد الحريرات الغذائية، و مع ذلك فإن نتائج مرضانا تبقى ضمن المجال الطبيعي مقارنة بنتائجه، ما يشير إلى احتمال انتظام العلاج عندهم، بينما عند غير المصابين (الضوابط) فتتفق مع معدلات ضوابطنا.

من جهة أخرى، ما يبين أن هؤلاء المصابين بداء السكري النوع الثاني، مضبوط لديهم مستوى الجلوكوز إلى حد كبير هو انخفاض كل من TG, TC و LDL-c و هو ما تؤكده دراسة Grankvist et al., (1981). بينما يعزي Kassab et al., (2003) إنخفاض هذه النواقل إلى الدرجة العالية لأكسدتها بواسطة الخلايا البلعمية Macrophages عند المصابين بداء السكري.

و في دراسة تجريبية لملاحظة التأثير التثبيطي لكل من Spermidine و L-arginine على فوق أكسدة الدهون، لاحظ Méndez, Balderas, (2005) إرتفاعا مستمرا بدلالة معنوية $P < 0.001$ في مستوى LDL بعد اليوم الثامن إلى اليوم العشرين، إلا أن هذا الإرتفاع أمكن تخفيضه بعد إعطاء Spermidine و L-arginine.

البروتينات اللبيدية عالية الكثافة HDL-c:

هذا النوع من البروتينات الدهنية حاملة الكولسترول عالية الكثافة يمثل مخزون الكولسترول المتنقل غير الضار Bon cholestérol فعند الفئة السليمة (الضوابط) تتفق نتائجنا 41.20 ± 41.67) ملج/دل) مع ما توصل إليه Grundy et al., (1986) (43 ± 2.0 ملج/دل) و أكدته قبله دراسة Wolf, Grundy. (1983) اللذين أوضحا أن فقدان الفائض في الوزن كان له أثر إيجابي على أيض البروتينات الدهنية بما فيها ارتفاع مستوى HDL-c و هو ما بينه Medina et al., (2007) (55.6 ± 2.8 ملج/دل)، و نفس الملاحظة تنطبق مع فئة المصابين بداء السكري في دراستنا $p < 0.05$، حيث بين الثاني أن الأفراد المصابين بداء السكري المتلقين للعلاج بمخفضات جلوكوز الدم إنخفضت لديهم مستويات المؤشرات

الدهنية بما فيها HDL-c بالرغم من بقاء مستوى جلوكوز الدم أعلى مقارنة مع الضوابط.

و تتفق نتائج فئة المصابين (22.91 ± 43.64 ملج/دل) كذلك مع ما توصل إليه Shimada et al., (2005) (17.1 ± 55.1 ملج/دل) و هي مستويات ضمن المجال الطبيعي المحدد بـــ > 38 ملج/دل، و تتماشى هذه النتائج مع التركيز المنخفض للكولسترول الكلي عند الفئتين، و الذي يكون فعلا منخفض التركيز في HDL-c.

و استنادا لهذه النتائج فإنه يستبعد حسب Banyou-Bredent, Szmidt-Adjide, (1990) و Sniderman et al., (2001) احتمال تعرض المرضى موضوع الدراسة إلى خطر تصلب الشرايين، على الأقل في الفترة الراهنة، بسبب انخفاض نسبة الكولسترول الكلي / البروتينات عالية الكثافة -(Chol-T/ HDL-c) (1.53 ± 4.13) ومعه انخفاض مستوى الجليسريدات الثلاثية.

و في نفس السياق Méndez, Balderas, (2005) التجريبي لمعرفة تأثير L-argenine و Spermidine على ارتباط الجلوكوز بالهيموغلوبين و فوق الأكسدة الدهنية عند الجرذان المصابة بداء السكري التجريبي، لاحظ إنخغاضا في مستوى HDL-c إبتداءا من اليوم الثاني عشر إلى اليوم العشرين، و الذي قد يرجع حسبه إلى انخفاض أكسدة الدهون تحت تأثير كلا المركبين المذكورين.

يتضح مما سبق أن المرضى موضوع الدراسة يستبعد تعرضهم لحدوث مضاعفات تصلب الشرايين، و هذا بسبب انخفاض المؤشرات الدهنية سابقة الذكر، و قد يعزي هذا إلى احتمال توافق العلاج و انتظامه على الأقل خلال الشهور التي سبقت الدراسة.

الإجهاد التأكسدي:

لقد أصبح اليوم من المؤكد أن الإرتفاع المفرط للجلوكوز في الوسطين داخل و خارج الخلويين عاملا منشئا للإجهاد التأكسدي، المحدد حسب Giugliano et al., (1996) و Opara, (2002) Bonnefont-Rousselot et al., (2004 b) باضطراب الإتزان بين انخفاض مضادات الأكسدة و زيادة بادئات الأكسدة. و يبدو حسب Ceriello (2003) أن الإرتفاع المفرط لجلوكوز الدم، يعمل على فرط إنتاج فوق أكسيد الأكسجين $O_2^{\bullet}$ داخل سلسلة النقل الإلكتروني في الميتوكندري، الذي يعتبر أول خطوة لتنشيط المسارات المسؤولة على المضاعفات المرضية لداء السكري. هذا ما يقود إلى الإهتمام أكثر بربط العلاقة الوثيقة بين الإجهاد التأكسدي و مراقبة الإرتفاع المفرط للجلوكوز في الجسم.

فالدراسات الحديثة، بينت تأثر نشاط الأنزيمات المزيلة للجذور الحرة حسب Gurler et al .,(2000), Seghrouchni et al., (2002) و Donma et al, (2002), بمدى مراقبة الجلوكوز في الجسم عند المصابين بداء السكري، حيث سجل انخفاض نشاط عدد من الأنزيمات المسؤولة على إزالة الجذور الحرة مثل CAT, GPx, GR، في حين كان نشاط أنزيم SOD أعلى بصورة معنوية عند المصابين بداء السكري النوع الثاني معتمدا على مدى مراقبة الجلوكوز و وجود إعتلال الأوعية الدموية بنوعيها الضيقة و الواسعة. أما مضادات الأكسدة غير الأنزيمية مثل GSH و الجزيئات الحاملة للوظيفة الكبريتية (الثيولية) و بعض الفيتامينات مثل الفيتامين **ج** و **هـ** كان انخفاضها معنويا داخل كريات

الدم الحمراء عند المصابين بداء السكري النوع الثاني مقارنة بالضوابط.

إن دراسة مؤشرات الإجهاد التأكسدي؛ و مضادات الأكسدة مثل: الجلوتاثيون المختزل GSH، نشاط إنزيم الكتلاز (CAT)، السعة الكلية لمضادات الأكسدة (TAC)، مستوي فيتامين)ج(بالإضافة إلى تأثيره م على تركيز ناتج فوق أكسدة للدهون Peroxidation lipidique المتمثل في Malondialdehydes (MDA) الذي يعتبر بمثابة الإنذار على مدى تطور المضاعفات المرضية المصاحبة لداء السكري حسب Steinberg, Lewis, (1997)، خصوصا منها تصلب الكبيبات الكلوية Chang et al., (2005). فإن حالة الإجهاد التأكسدي تبقى مرتبطة بعوامل فيزيولوجية متعددة، فبعد الصوم مثلا، لا ترتبط حسب Manuel-y-Keenoy et al., (2005) بمؤشرات انضباط الأيض مثل HbA_1C بينما يرى كل من Komosińska–Vassev et al., (2005) و (Méndez, Balderas, 2005) عكس ذلك.

تبين هذه الدراسة أن حالة الإجهاد التأكسدي، الذي يعتمد على تقييمه من خلال عديد المؤشرات، من أهمها ناتج فوق الأكسدة الدهنية MDA و السعة الكلية المضادة للأكسدة TAC الذين اعتمد عليهما Manuel-y-Keenoy et al., (2005)، في تقييم الإجهاد التأكسدي عند المصابين بداء السكري، تبدو بالنسبة للمؤشر الأول من خلال النتائج، منخفضة بمدلول عالي $p < 0.01$ عند المرضى مقارنة بالسليمين)الضوابط((42.87 ± 4.54 نانومول/ مللي) و (8.65 ± 51.21 نانومول/ مللي) على التوالي، في حين انخفض

المؤشر الثاني TAC عند نفس المرضى بمدلول عالي جدا $p < 0.001$ و هو ما يتفق أيضا مع نتائجه خاصة بعد مرحلة امتصاص الغذاء.

كما بين من قبله Samiec et al., (1998) من خلال دراسته المقارنة على مستويات القدرة الإختزالية GSH عند المسنين، المصابين بتلف لطخة العين و المصابين بداء السكري كمؤشر آخر على حالة الإجهاد التأكسدي، أنها تنخفض بعد أكسدتها إلى GSSG بمدلول معنوي $p < 0.05$ و هو ما أكدته نتائج دراستنا 3.10 (± 7.99 مللي مول / لتر و 1.32 ± 4.45 مللي مول / لتر) عند السليمين و المرضى على التوالي.

و يوضح Huang et al., (2007) أن الإجهاد التأكسدي له دور في إحداث عجز وظيفة القلب المبكر عند المرضى بداء السكري، بسبب الإختلال الحاصل على مستوى مضادات الأكسدة الأنزيمية، حيث لاحظ زيادة نشاط أنزيم الكتلاز CAT داخل نسيج قلب الجرذان المصابة مقارنة بالسليمة، ما يوحي بزيادة مادة تفاعله H_2O_2 (إحدى الأنواع الأكسيجينية النشطة) المنشئة للإجهاد التأكسدي، و من ثم احتمال تعرض خلايا عضلة قلب الجرذان المصابة للتأثير التدميري المزمن بسبب هذا الجزيئ، الذي يعد وسيطا هاما لإحداث التلف النسيجي.

يستدل من خلال نتائج الجدول)7(و الشكل)11(المتحصل عليها، أن النظام الدفاعي المضاد للإجهاد التأكسدي عند المجموعة المصابة بداء السكري مقارنة بالمجموعة الضابطة قد انخفض بمدلول معنوي عالي جدا $p < 0.001$.

ويستدل على ذلك من خلال الإرتفاع المسجل في تركيز MDA، الذي يتزامن و إنخفاض نشاط الأنزيم Catalase، وكتكملة للمؤشرين السابقين تمت معاينة مؤشر آخر ذو أهمية بالغة في الإجهاد التأكسدي و هو القدرة الإختزالية داخلية المصدر GSH المحيد للإجهاد التأكسدي.

من جهة أخرى، فإن تركيز الفيتامين **ج** كعنصر مهم وعامل مضاد لفوق الأكسدة الدهنية (Santos et al., (2008 خارجي المصدر، تناقص بشكل ملفت عند المرضى بداء السكري 5.10 ± 26.86 ملج/لتر مقارنة بالضوابط 7.53 ± 54.83 ملج/لتر على التوالي، ما يدل على احتمال عدم اتزان الغذاء المتبع من قبلهم، كما يمكن أن يفسر أيضا الإرتفاع الواضح للجذور الحرة عندهم و من ثم استهلاك الفيتامين **ج** في تحييد هذه الأخيرة مما أدى إلى تناقصه. ما يؤكد النتائج المتحصل عليها، من جهة ومن جهة أخرى يبين التراجع الواضح لهذه المضادات التأكسدية عند المصابين بداء السكري مقارنة بالضوابط.

هذا ما يدفعنا إلى التفكير بأن العلاج المخفض لجلوكوز الدم، يظل رغم ذلك بعيدا عن تحقيق الأهداف المرجوة منه في التقليل من مضاعفات داء السكري و قد يعود هذا إما إلى:

1- قصور العلاج Insuffisance du traitement.

2- إهمال المتابعة من طرف المريض نفـــسه Par négligence du malade.

مما يسمح بالقول بضرورة اتباع الحمية الغذائية المتوازنة بالمغذيات الصغرى الإضافية،

خاصة المضادة للأكسدة، كتكملة للعلاج الإعتيادي.

فوق أكسدة الدهون:

إلى اليوم، و نظرا لسهولتها و مصداقية نتائجها، فإنه يعتمد على تقدير (MDA) كمؤشر على درجة فوق أكسدة الدهون داخل الأوساط البيولوجية Lepage et al., (1991), Esterbauer et al., (1991), Valonzuela, (1991) و (Firoozrai et al., 2007).

إن فوق الأكسدة الدهنية ممثلة في الناتج النهائي (MDA) تبدو في دراستنا أعلى بكثير عند المصابين بداء السكري النوع الثاني منه عند الضوابط بمدلول عالي $p < 0.01$ و هو ما يؤكده (1987) Mooradian, Morley, (1994) Gallou et al.، و Thompson, Godin, (1995) حيث يعزيه الأول و الثالث إلى الإضطراب الحاصل في أيض المغذيات الصغرى عند المصابين بداء السكري بينما يعزيه الثاني إلى إلى شدة حدوث فوق الأكسدة الدهنية. مما يوحي بتعرض الدهون إلى عملية أكسدة متناسقة موازاة مع الإرتفاع في جلوكوز الدم بسبب استغلالها كمصدر طاقوي بديل عن الجلوكوز خاصة في الأنسجة الغنية بالميتوكندريا، و هو ما قد يبين الإرتباط الوثيق بين فرط ارتفاع تركيز جلوكوز الدم بعد الغذاء و الإنتاج المفرط للجذور الحرة Ceriello (2005) و من ثم حدوث الإجهاد التأكسدي و هو ما لاحظه كل من Szaleczky et al., (1999) مستدلا على ذلك بزيادة ارتباط البروتينات بالجلوكوز عند ارتفاع تركيز هذا الأخير عند مرضى داء السكري، من بينها بروتينات بعض الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل الكتلاز (Yan, Harding, 1997)، مما يؤدي إلى تعطيل وظيفة الأنزيم و (Manuel-y-,Keenoy et al., 2005),

Robertson (2006) و Alamdari et al., (2007) حيث استدل هذا الأخير من خلال نتائج تقديره لمعدل بادئات التأكسد ممثلة في (H_2O_2) و مضادات الأكسدة ممثلة في (حمض اليوريك) على زيادة الإجهاد التأكسدي عند المصابين بداء السكري النوع الثاني مقارنة بالضوابط.

و بين بدوره Greismacher et al., (1995) في دراسته أن المصابين بداء السكري من النوع الثاني يظهرون ارتفاعا عاليا في نواتج فوق أكسدة الدهون MDA و هذا ما أيدته دراسة Firoozrai et al., (2007) عند غير منتظمي العلاج أو معتدلي العلاج (6,5 % < HbA_1C < 8,5 %) و أكدته نتائج دراسة الفئة المتناولة في دراستنا، كما لاحظ Méndez, Balderas, (2005) وجود إرتباط إيجابي بين نسبة HbA_1C و نواتج فوق أكسدة الدهون و هي نفس الملاحظة التي أبداها Ercayas et al., (2004) على المصابين بداء السكري النوع الأول، وعلى النقيض من ذلك لا يرى Varvarovska et al., (2003) أي ارتباط بين مستوى MDA و نسبة HbA_1C عند استعراضه دراسة علاقة مؤشرات الإجهاد التأكسدي و داء السكري النوع الأول عند الأطفال.

في حين يعتقد Noberasco et al., (1991) الذي اهتم بدراسة فوق أكسدة الدهون و علاقتها بالجلوكوز و الهيموغلوبين المجلكز عند المصابين بداء السكري و Gallou et al., (1993) الذي اهتم بدراسة ناتج فوق الأكسدة الدهنية عند النوعين الأول و الثاني من داء السكري، أن مراقبة مستوى الجلوكوز عند لأفراد المصابين بداء السكري ليس هو العامل الأولي المؤثر على فوق أكسدة الدهون.

أما Ceriello et al., (1997 a) فلقد أوضح من جهته عند دراسته للإصابة الكلوية، عند المصابين بداء السكري، المصحوبة بارتفاع تركيز LDL المصلي و الدهون الكلية، قد يكونان هما المحددين لمستوى MDA لديهم، حيث لاحظ Agarwal, (2003) كمية عالية منها تطرح خاصة في بول المصابين بالتصلب الكبيبي الكلوي من المرضى بداء السكري و عند الفئران المصابة به أيضا .Deng, Yu ,(1999) مما يبين أن الإعتلال الكلوي ذو صلة وثيقة بالإجهاد التأكسدي عند المرضى بداء السكري الذين يعانون من تصلب الكبيبات الكلوية Chang et al., (2005) و هي نفس التغيرات النسيجية التي تمت ملاحظتها على كلى الفئران المصابة بداء السكري التجريبي بالألوكسان Benrebai, El Hawary, (1994).

من الجدول: (8) يبدو أن داء السكري كان له تأثيره الواضح بالنسبة لزيادة أكسدة الدهون عند فئة المصابين (8.65 ± 51.21 نانومول/ ملل) مقارنة بالسليمين)الضوابط((4.54 ± 42.87 نانومول/ ملل)، بزيادة قدرت بـــ 21 % و هو ما دأبت إليه الدراسات الحديثة Jakus et al., (2000)، Varvarovska et al., (2003) و Huang et al., (2007) التي بينت إرتفاع مستوى MDA عند الإصابة بداء السكري كمؤشر اعتيادي لتقييم درجة فوق أكسدة الدهون، و التي فسرت على أساس أن ارتفاع جلوكوز الدم يحفز حدوث تفاعلات فوق الأكسدة الدهنية.

بينما بين Preziosi et al., (1998) في دراسته لتأثير إضافة العناصر المغذية

النادرة على مؤشرات النظام المضاد للتأكسد، أجراها على مجموعة أفراد سليمين، بأنه لا يوجد فارق بين تركيز MDA المصلي بين فئة الذكور و الإناث ما قد يعني أن الإجهاد التأكسدي لا يتأثر بالجنس، فإن Firoozrai et al., (2007) يعتقد عكس ذلك عند دراسته لتأثير الإجهاد التأكسدي على كريات الدم الحمراء عند المصابين بداء السكري النوع الأول، حيث لاحظ ارتفاع MDA عند الإناث المصابات و انخفاضها عند نظرائهن الذكور، مما يعني حسبه وجود علاقة بين إنتاجها و الجنس، و بالمقابل لاحظ إرتباطا إيجابيا بين السن و تركيز MDA عند المرضى و الضوابط على السوى. أما عن تأثير مدة المرض على تركيز مؤشر فوق الأكسدة الدهنية MDA فإن(2006) Hsu et al., يرى بأنه يرتبط إيجابيا بمدة المرض، مما يستدعي تقديم العلاج مبكرا لتعطيل نشوء المضاعفات المرتبطة بداء السكري.

الجلوتاثيون المختزل GSH :

تعتبر GSH القدرة الإختزالية داخلية المصدر ذات الكفاءة العالية في تحييد الجذور الحرة و من ثم تأكسدها إلى GSSG. إن انخفاض مستواها معنويا $p < 0.001$ عند فئة المصابين بداء السكري موضوع الدراسة بنسبة 45% مقارنة بالضوابط(1.32 ± 4.45 و 3.10 ± 7.99 مللي مول/لتر) على التوالي، يعتبر دليلا آخر مهما على زيادة الإجهاد التأكسدي عند المصابين و هو ما أجمع عليه كل من Samiec et al., (1998)، Felliet-Coudray et al., (1999) و Ananthan et al., (2004) حيث يضيف الأول أن الإنخفاض الحاصل في تركيز GSH البلازمي، يضاف إليه الإنخفاض في جهده الإختزالي.

و من الشكل)12(يتضح أن حالة الإجهاد التأكسدي ترتبط ارتباطا إيجابيا بمستوى الجلوكوز في الجسم، فيلاحظ إرتفاع معنوي في مستوى الجلوكوز $p < 0.01$ و معه الهيموغلوبين المجلكز عند فئة المرضى $p < 0.05$، يقابله هبوط معنوي للقدرة الإختزالية GSH $p < 0.001$ و ارتفاع معنوي في مستوى MDA $p < 0.01$ وهو ما يتفق مع ما نتائج كل من، Felliet-,Coudray et al., (1999)، وAnanthan et al., (2004) في دراستهما، حيث بينا إنخفاض تركيز GSH و هبوط نشاط الأنزيمات المضادات للأكسدة منها أنزيمي GPx المستعمل لــ GSH كعامل مساعد للتخلص من فوق أكاسيد الأحماض الدهنية و أنزيم الكتلاز المخلص من فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 على التوالي Masella, et al., (2005)، و يفسر هذا على أساس نضوب NADPH بسبب زيادة نشاط أنزيم Aldose reductase المستهلك له خلال الإرتفاع المفرط للجلوكوز في الجسم، مما يتسبب في اضطراب دورة تجديد GSH, إضافة إلى الإنخفاض الذي سجله Komosińska-Vassev et al., (2005) في نشاط أنزيم GR المسؤول على اختزال GSSG إلى جزيئتي GSH عند المجموعة المصابة بداء السكري، مما يساعد في رفع حالة الإجهاد التأكسدي في الجسم Roger et al., (2002) و تتطابق نتائج دراستنا أيضا مع نتائج Martin-Gallan et al., (2003) و Stahlberg, Hietanen, (1991) في دراستهما على داء السكري النوع الأول عند الأطفال.

بينما نلاحظ في دراستنا أن المستوى الطبيعي للجلوكوز عند الضوابط يقابله

انخفاض في مستوى MDA و ارتفاع في مستوى القدرة الإختزالية GSH.

و لقد بين Pastore et al., (2003) أن كفاءة GSH في إعادة تجديد أهم مضادات الأكسدة كالفيتامين **ج و هـ** (Vitamine C et E) تعتمد على نسبة الصورة المأكسدة و المختزلة (GSSG/2GSH).

السعة الكلية المضادة للأكسدة TAC:

تشمل السعة الكلية المضادة للأكسدة النظامين الداخلي و الخارجي المصدر، و هما النظامين الأنزيمي و غير ألأنزيمي)الفيتامينات و العناصر المعدنية الأثرية (المضادين للأكسدة Irshad, Chaudhuri, (2002). فيلاحظ إنخفاض هذه السعة بمدلول عال جدا عند المرضى $p < 0.001$ و بنسبة مئوية قدرت بـــ (24 %) أقل منه في دراسة Kassab et al., (2003) التي قدرت بنسبة (30 %)، و من جهة ثانية تنطبق نتائجنا مع نتائج Stahlberg, Hietanen, (1991) Felliet-Coudray et al., (1999)، و Tanaka et al., (2002) Firoozrai et al., (2007) مقارنة بـالضوابط، حيث يعزي الأخير إنخفاض السعة الكلية المضادة للأكسدة للمراقبة غير الجيدة للجلوكوز في الجسم. و تتفق نتائج دراستنا من جهة أخرى مع مثيلاتها Komosińska-Vassev et al., (2005) الذي لاحظ الإرتباط العكسي لمؤشر ضبط الجلوكوز HbA_1C و جلوكوز الدم مع السعة الكلية المضادة للأكسدة.

أما Leinonen et al., (1998) لم تسجل تغيرا معنويا في تركيز السعة الكلية البلازمية المضادة للأكسدة عند المصابين بداء السكري النوع الثاني و الضوابط .vs 199-/+1250) 1224+/-198 microM) على التوالي من جهة، كما بينت من جهة أخرى عدم

وجود ارتباط بين هذه السعة المضادة للأكسدة و أعراض الإصابة التاجية القلبية و العجز الكلوي، في حين نتائج (Aguirre et al., (1998 في دراسته على الضرر التأكسدي على الأنسجة، (Telci et al., (2000 في دراسته لتأثير الضرر التأكسدي على البروتينات في داء السكري النوع الأول و (Chaudhry et al., (2007 في دراسته لتأثيرمخفضات الجلوكوز على تخفيض الإجهاد التأكسدي عند الجرذان المصابة بداء السكري الألوكساني أكدت كلها الإنخفاض المعنوي في السعة الكلية المضادة للأكسدة، و تتفق نتائجنا مع النتائج التي أظهرتها دراسة (Ceriello et al., 1997 a) و هي إنخفاض السعة الكلية المضادة للأكسدة عند المصابين بداء السكري.

(Firoozrai et al., (2007 أشار إلى عدم وجود أي ارتباط بين مؤشرات الإجهاد التأكسدي السابقة TAC، GSH، MDA و و كل من الجليسريدات الثلاثية و الكولسترول الكلي في بلازما الدم عند المرضى بداء السكري النوع الأول، و هذا يتفق إلى حد كبير مع نتائجنا، مما يدعو إلى اعتبار الإرتفاع المفرط للجلوكوز في الدم هو السبب في تفاقم الإجهاد التأكسدي بغض النظر عن نوع داء السكري.

أنزيم الكتلاز Catalase:

يلاحظ أن نشاط أنزيم الكتلاز انخفض بنسبة 10 % عند المرضى مقارنة بالضوابط و بمدلول معنوي $p < 0.05$ بالمقارنة مع المؤشرين السابقين TAC, GSH الجدول)7(و هذا يدعم الفرضية السابقة التي تفترض أن النظام المضاد للأكسدة في الجسم يعتمد بشكل كبير على مضادات الأكسدة خارجية المصدر (غير بروتينية) لآنها لا تتأثر بالجلكزة

الذاتية، كما أشارت إليه دراسة(Komosińska-Vassev et al., (2005 حيث لاحظ ان نشاط الأنزيم انخفض بنسبة % 30 عند المرضى المصابين بداء السكري النوع الثاني. و أشار نفس الباحث إلى أن نسبة إنخفاض نشاط أنزيم الكتلاز تزيد أكثر عند المرضى ضعيفي مراقبة الجلوكوز المصحوبة بالمضاعفات الوعائية منه عند جيدي مراقبة الجلوكوز عديمي الأعراض الوعائية و قد يعود هذا إلى زيادة ارتباط بروتين الأنزيم لا أنزيميا بالجلوكوز حسب (Yan, Harding, 1997).

كما تتفق نتائج دراستنا مع دراسة Stanely Mainzen Prince et al., (1998) Felliet-Coudray et al., (1999) و Ananthan et al., (2004)، حيث لاحظ الأول زيادة في نشاط الأنزيم تحت تأثير مستخلصات بذور نبات الكمون ذات التأثير المخفض لجلوكوز الدم و من ثم التقليل من حالة الإجهاد التأكسدي عند الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي بالألوكسان، هذا ما يبين الإرتباط العكسي بين تركيز الجلوكوز في الجسم و حالة الإجهاد التأكسدي.

و من جهة أخرى، أشار Santos et al., (2008) في دراسته لتأثير الفيتامين ج على تخفيض فوق الأكسدة الدهنية و زيادة نشاط أنزيم الكتلاز إلى ارتبط نشاط الأنزيم إيجابيا بالتغير في تركيز الفيتامين **ج** و هو ما يتفق مع نتائجنا.

الفيتامين ج Vitamine C:

من النتائج المتحصل عليها، نلاحظ أن تركيز الفيتامين **ج** إنخفض بنسبة 50% عند المرضى بداء السكري (5.10 ± 26.86 ملج/لتر) مقارنة بالضوابط (7.53 ± 54.83

ملج/لتر) و بدلالة معنوية عالية $p < 0.001$ وهو ما يبينه الشكل)11(و ما لاحظه أيضا VanderJagt et al., (2001) الذي سجل انخفاضا معنويا ($p < 0.02$) في مستوى هذا الفيتامين داخل كريات الدم البيضاء وحيدة النواة، عند المرضى المصابين بداء السكري النوع الأول، باعتبارها خلايا تعكس حالة الإجهاد التأكسدي في الجسم بسبب طول عمرها، و ربما يعزى هذا إما إلى استهلاك جزء كبير منه في إزالة فوق الأكاسيد الدهنية (الجذور الحرة)، إذا أخذنا بعين الإعتبار الدور التعاوني الفيتامين **ج** مع القدرة لإختزالية GSH في التخلص من الجذور الحرة Murray et al., (1993) أو إلى نقص استهلاك كميات كافية منه مع الغذاء أو طرحه بشكل مفرط في البول عند المصابين بداء السكري (Chertow, 2004).

و يؤكد Hegde et al., (2005) تجريبيا الإنخفاض المعنوي للفيتامين **ج** عند الفئران المصابة بداء السكري، المحرض بالألوكسان، غير المعالجة بمخفضات الجلوكوز وعودته إلى مستواه الطبيعي بعد إعطاء مخفضات جلوكوز الدم . و هو ما قد يدل على الإرتباط الإيجابي بين الإرتفاع المفرط في جلوكوز الدم و زيادة الإجهاد التأكسدي.

و من جهتهما يرجع كل من Dunn et al., (1990) و Ortwerth et al., (1992) سبب انخفاض مستوى الفيتامين **ج** في الجسم، إلى ارتباطه بمجاميع الأمين خاصة في الحمض الأميني Lysine، تنافسيا مع الجلوكوز، أثناء عملية الأكسدة الذاتية التي يحدثها الإرتفاع المفرط لجلوكوز في الدم. و مما سبق يمكن استنتاج الإنخفاض في مضادات

الأكسدة غير الأنزيمية عند الإصابة بداء السكري (1999) ,.Felliet-Coudray et al و (Ananthan et al., 2004).

في حين لم تسجل (1998) ,.Leinonen et al فرقا معنويا في تركيز الفيتامين ج عند المصابين بداء السكري النوع الثاني و نظرائهم من الضوابط، عند تناولها بالدراسة لعلاقة الإجهاد البلازمي الكلي المضاد للأكسدة و مرض الشرايين التاجية و العجز الكلوي عند مرض داء السكري النوع الثاني.

و في دراسة لتأثير الفيتامين ج على الإجهاد التأكسدي، أكدت نتائج ,.Santos et al (2008) ما تظهره دراستنا، من أن تركيز الفيتامين ج يتناسب طردا مع نشاط أنزيم Catalase، وعكسا مع ناتج فوق أكسدة الدهون (MDA) و هو ما تؤيده دراسة (2001) ,.Cederberg et al عند إضافته الفيتامين ج لإناث الجرذان الحوامل المصابة بداء السكري التجريبي. علما أن مساهمت الفيتامين ج حسب (Wayner et al., 1987) ضمن السعة الكلية المضادة للأكسدة في البلازما تتراوح بين 0 % – 25 %.

B) الدراســــة التجريبية:

إهتمت الدراسة التجريبية التي أجريت على نموذج من جرذان التجارب Albinos Wistar بدراسة المؤشرات الدهنية التي أجريت عند الإنسان فضلا على الفوسفولبيدات و الدهون الكلية مع جلوكوز الدم. بالإضافة إلى التعرف على حالة الإجهاد التأكسدي عندها، بحكم إحداث الإصابة بداء السكر التجريبي، بإعطاء جرعة من مادة الألوكسان المدمرة لجزر لانجرهانس في البنكرياس، محدثة ارتفاعا في مستوى جلوكوز الدم عند الجرذان. ثم إخضاع مجموعة من هذه الجرذان المريضة للعلاج بالأنسولين لثمانية أسابيع فور حدوث المرض (D1) كعينة نموذجية للنوع الأول لداء السكري لتعديل مستوى جلوكوز الدم عندها و مراقبة مدى عودة حالة الإجهاد التأكسدي إلى طبيعته مقارنة مع المجموعة المصابة بداء السكري و التي تخضع للعلاج بالأنسولين بعد مضي أربعة أسابيع من حدوث المرض (D2) كعينة نموذجية للنوع الثاني لداء السكري، كل ذلك حسب Wilcox et al., (1968) فأظهرت الدراسة النتائج المفترض وقوعها بمقارنة المجموعتين السابقتي الذكر بمجموعة الضوابط السليمة T و مجموعة الضوابط المريضة غير المعالجة بالأنسولين DT.

الوزن:

من الشكل (13) نسجل فقدا حادا و معنويا $p < 0.05$ في وزن الجرذان المصابة بداء السكري (الضوابط المريضة) غير المعالجة بالأنسولين موضوع دراستنا مع مضي الأسابيع إلى نهاية الأسبوع الثامن بعد الحقن بالألوكسان، بنسبة بلغت 21 %، و هو ما

سجله أيضا Méndez, Balderas, (2005) 9 ± 348 جم 17 ± 309 جم في بداية و نهاية التجربة على التوالي و Yan, Harding, (1997)، عند الجرذان المريضة غير المعالجة بمخفضات الجلوكوز على التوالي، و Sathishsekar, Subramanian, (2005) الذي سجل 170 جم في بداية المرض و أقل من 160 جم بعد 30 يوما من الحقن بـــ Streptozotocin، و يعود الفقد في الوزن حسب Chen, Ianuzzo, (1982) إلى احتمال تبديد البروتينات في إنتاج الطاقة بسبب عدم إتاحة الجلوكوز كمصدر لذلك. أما عند المجموعة المعالجة بالأنسولين فور حدوث المرض موضوع دراستنا، فإن الجرذان إستعادة وزنها بصورة متدرجة الشكل)13(وهو ما ينطبق مع نتائج Méndez, Balderas, (2005) عند الجرذان المصابة بداء السكري المعالجة إما بـــ L- argenine أو Spermidine حيث زادت أوزان الجرذان على التوالي من 19 ± 352 جم إلى 21 ± 362 جم و من 10 ± 299 جم إلى 14 ± 314 جم، و بالمثل لدى المجموعة المعالجة بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض، مما يبين إستجابة الجرذان للعلاج بالأنسولين، و من ثم عودة الأيض البنائي إلى طبيعته بسبب التحسن في أيض الجلوكوز، و يتفق هذا مع نتائج Patel, Katyare, (2006) الذي سجل في دراسته فقدا في الوزن قدر بـــ 16 % و 30 % في نهاية الأسبوع الأول و بعد شهر من حدوث المرض على التوالي، ثم استعادت الجرذان المريضة وزنها بعد العلاج بالأنسولين (6.7 ± 238.0 جم) إلى (7.2 ± 288.5 جم) مقارنة بنفس الفترة.

و يعتبر مرض المجموعة الخاضعة للعلاج بالأنسولين فور ظهور ارتفاع الجلوكوز في الدم بعد يومين من الحقن بالألوكسان نوعا حادا، مما يؤثر بشكل واضح على إضطراب الأيض عندها، مقارنة بالمجموعة التي طال عندها المرض و التي تعتبر حالة إصابتها مزمنة حسب (Wilcox et al., 1968).

جلوكوز الدم:

إن الفرط في ارتفاع جلوكوز الدم hyperglycémie عند المجموعتين)D1(و)D2(على التوالي يبدو واضحا الشكل)14(قبل مباشرة العلاج الأنسوليني و هو ما يتفق مع دراساتي (Platel, Srinivasan, (1995، Rao et al., (1999) عند الجرذان المصابة بداء السكري التجريبي المعالجة بمخفضات جلوكوز الدم *Momordica Cymbalaria.* و *Momordica charantia*

بعد مباشرة العلاج بالأنسولين، تراجع جلوكوز الدم إلى مستواه الطبيعي (78.22 ± 17.80 ملغ/دل مقابل 27.85 ± 81.86 ملغ/دل) بمدلول معنوي $p < 0.05$، عند نفس المجموعتين على التوالي، وهو دليل على تأثير العلاج بغض النظر عن المدة التي استغرقها المرض عند المجموعتين كما بينه الشكل)14(.

و يعود التأثير الحاد للألوكسان على خلايا β لتراكم جزيئات $O_2^{\bullet}$ السامة (أحد أنواع الأكسيجين النشطة ROS) داخل هذه الخلايا و من ثم تدميرها حسب Szkuldeshi (2001). و ينتج عن هذا التأثير هبوط حاد في مستوى جلوكوز الدم hypoglycémie في 48 ساعة الأولى بعد الحقن عند الجرذان بسبب تسرب كمية كبيرة من الأنسولين المخزن

من خلايا β ‎(1970) ,Okamoto، مما تسبب في حدوث غيبوبة نتج عنها نفوق عدد من الجرذان (29%) من العدد الإجمالي.

المؤشـــرات الدهنية

جليسريدات الدم الثلاثية:

يلاحظ من الشكل (15) أن الجليسريدات الثلاثية عند المجموعة (D2) التي طالت عندها مدة المرض كانت مرتفعة معنويا $p < 0.05$ بالمقارنة مع المجموعة (D1) التي أخضعت للعلاج فور ظهور إرتفاع جلوكوز الدم، و ذلك خلال الأسبوعين الأول و الثاني و هو ما قد يفسر على أساس إطلاق مزيد من الجليسريدات الثلاثية من النسيج الدهني بشكل واضح (11.50 ± 142.43 ملج/دل لتعويض العجز في إتاحة الجلوكوز مع مضي الوقت من حدوث المرض لاستخدامه كمصر بديل للطاقة عند المجموعة (D2) و يتفق هذا مع نتائج Dang et al., (1991)، Platel, Srinivasan, (1995)، Gupta et al., (1999)، Rao et al., (1999) Méndez, Balderas, (2005) و El-Batran et al., (2006) في حين سجل إنخفاض خلال الأسبوع الثالث عند المجموعة (D1) (7.86 ± 53.14 ملج/دل)، و قارب مستواها عند الجرذان الضوابط (10.20 ± 57.35 ملج/دل)، و قد يفسر هذا على أساس إتاحة الجلوكوز أكثر كمصدر للطاقة في الجسم خلال هذه الفترة القصيرة و هو حالة فيزيولوجية طبيعية.

ورغم عودة الجليسريدات الثلاثية إلى مستواها الطبيعي عند المجموعتين (D2) و (D1) بعد العلاج بالأنسولين، إلا أنه يلاحظ تذبذبها عند المجموعة (D2) مقارنة بنظيرتها

(D1)، و قد يرجع سبب ذلك ربما إلى تأثير طول فترة المرض الذي أحدث اضطرابا في أيض الدهون و هو التغير المميز في حالة داء السكري.

بينما يرى Wing, Robinson, (1968) و Patten, (1970) أن الإنخفاض في تخليق و نشاط أنزيم Lipoprotéine lipase في ا لنسيج الدهني هو الذي يؤدي إلي ارتفاع الجليسريدات الثلاثية في الدم بسبب عدم إلتقاطها من النسيج الدهني.

فلدى المجموعة (D1)، كانت التراكيز أقل مقارنة بالمجموعة التي طال عندها المرض (D2)، مما يبين أن أيض الجليسريدات الثلاثية قد تصبح أكثر اضطرابا عندما يصبح المرض مزمنا.

و بالفعل، فلقد أرجع Hirano et al., (1991) الإرتفاع المفرط للجليسريدات الثلاثية عند الإصابة بداء السكري، إلى الزيادة في الليبوبروتينات الغنية بالجليسريدات الثلاثية (TRL-TG)، و بما أن الأنسواين ينظم بكيفية حرجة أيض هذه الأخيرة خلال الإصابة بداء السكري، فإن الخلل في أكسدتها بسبب نقص الأنسولين يبقى هو السبب الرئيسي المؤدي لفرط ارتفاعها.

كولسترول الدم:

يلاحظ من الشكل (16) الإنخفاض المعنوي في متوسط كولسترول الدم $p < 0.001$ المسجل لدى المجموعة (D2)، بينما كان أعلى عند المجموعة (D1) (10.17 ± 68.34 ملج/دل – 8.82 ± 78.95 ملج/دل) بعد مباشرة العلاج بالأنسولين على التوالي، و كلاهما كان أعلى بالمقارنة بالضوابط السليمة (12.85 ± 67.17 ملج/دل) حيث تتفق نتائج دراستنا

مع نتائج كل من Platel, Srinivasan, (1995) Méndez, Balderas, ،Rao et al., (1999) (2005)، حيث سجل الأخير إنخفاضا معنويا في الكولسترول البلازمي عند المجموعة السليمة من

الجرذان مقارنة بنظيرتها المصابة بداء السكري التجريبي بالألوكسان (0.4 ± 63 ملج/دل مقابل 7.9 ± 82 ملج/دل) على التوالي و مدلول معنوي $p < 0.01$.

بعد تلقي الجرذان المريضة موضوع الدراسة، العلاج بالأنسولين إرتفع مستوى الكولسترول لدى المجموعة D2 بصورة متذبذبة، و هذا ما يتطابق مع نتائج Saudek, Brach, (1978) و Méndez, Balderas, (2005) مقارنة مع المجموعة)D1(، و قد يفسر هذا بإتاحة الفرصة لتخليق الكولسترول عند هذه الأخيرة بسبب تلقيها العلاج فورا بهورمون الأنسولين)البنائي(المحفز لتخليق الكولسترول ، و مع تقدم العلاج يلاحظ بداية تقارب التركيز عند المجموعتين)D1(و)D2(ابتداءا من الأسبوعين السابع و الثامن على التوالي (6.46 ± 79.17 ملج/دل- 7.21 ± 72.00 ملج/دل) و(7.81 ± 79.83 ملج/دل- 7.55 ± 73.00 ملج/دل).

مع الإشارة إلى إمكانية زيادة امتصاص الكولسترول الغذائي في أمعاء الجرذان المصابة بداء السكري حسب Uchida et al., (1974) و (Young et al., 1985).

و من جهته لم يلاحظ Bassi et al., (1996) أي اختلافات في تركيز الكولسترول الكلي البلازمي و الفوسفولبيدات البلازميين أثناء دراسته لعلاقة الكيتونية السكرية بمحتوى الفوسفولبيدات البلازمية من الأحماض الدهنية.

فوسفولبيدات الدم:

تعتبر الفوسفولبيدات مكونات دهنية بنائية، و من ثم فتأثير المرض على استقلابها ينعكس على نوعية مكوناتها من الأحماض الدهنية. ما تمت ملاحظته على الكولسترول الشكل (16) يمكن أن ينطبق على الفوسفولبيدات الشكل (17)، حيث سجل انخفاض تركيزها لدى المجموعة (D2) بوتيرة أكبر و بصورة معنوية عالية $p < 0.001$، فيما كان مرتفعا عند المجموعة (D1)، فقد يرجع سبب ذلك إلى تأثير العلاج المبكر خصوصا بالأنسولين الذي يعتبر هرمونا بنائيا بالدرجة الأولى، مما لم يسمح بانخفاضه مثلما حدث مع المجموعة (D2) و مقارنة بين الجرذان المصابة غير المعالجة بالأنسولين (الضوابط المريضة) و الضوابط السليمة، فإن تركيز الفوسفولبيدات كان مرتفعا معنويا $p < 0.001$ لدى المجموعة الأولى، مما يبين احتمال تأثر الأغشية الحيوية بالمرض و من ثم تدمير أغشيتها المكونة من نسبة عالية من الفوسفولبيدات، بواسطة الهيدروبيروكسيل hydroperoxyls التي تمتلك قدرة فائقة في اختراق الأغشية الحيوية و من ثم إحداث فوق الأكسدة الدهنية خلال فترة المرض و إطلاقها في الدم مما زاد في تركيزها فيه.

تتفق نتائج دراستنا مع دراسة Hirano et al., (1991) الذي أكد فيها الإرتفاع بمقدار 3–4 مرات تركيز الفوسفولبيدات عند الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي مقارنة بنظيرتها السليمة، و ذلك عند دراسته لمدى ارتباط نقص الأنسولين بالإرتفاع المفرط للجليسريدات الثلاثية و الدهون. حيث بين أن العلاج بالأنسولين يساعد على تسوية الإضطراب الحاصل للدهون عند نقص الأنسولين في داء السكري منها الفوسفولبيدات البلازمية،

خاصة أنها من المكونات الرئيسية المثبتة للأغشية الحيوية.

و بما أن الفوسفولبيدات تعتبر دهونا بنائية للأغشية الحيوية، ف إن تذبذبها لدى المجموعة)D2(قد يرجع لزيادة تأكسد مكوناتها من الأحماض الدهنية غير المشبعة بسبب الإجهاد التأكسدي عند هذه المجموعة بسبب طول فترة المرض.

عند دراسة نسبة الفوسفولبيدات / الكولسترول لدى المجموعة)D1(و)D2(كانت متقاربة جدا 1.85 % و 1.87 % بعد مضي ثمانية أسابيع من العلاج بالأنسولين على التوالي، و كانت أعلى عند المجموعة المصابة بداء السكري غير الخاضعة للعلاج بالأنسولين (الضوابط المريضة) 2.01 % ما يؤكد إلى حد ما إضطراب أيض الكولسترول و الفوسفولبيدات، و هما مكونان مهمان للأغشية الحيوية، و من ثم تأثر الأغشية بعدم انتظام أو غياب العلاج عند الإصابة بداء السكري، و الذي قد ينسب أيضا إلى عامل الإجهاد التأكسدي المتلف للخلايا. و هو ما يتطابق مع ما توصل إليهPatel, Katyare, (2006.

و من جهتهم بين كل من Dang et al., (1991)، Kumar, Menon, (1993) و Pari, Venkateswaran, (2004) أن تأثر الفوسفولبيدات كان أوضح على نوعية الأحماض الدهنية المكونة لها منه على تركيزها، فيتناقص كل من arachidonate, docosatetraenoate (n-6), و docosapentaenoate (n-6) و يرتفع تركيز كل من linoleate و docosahexaenoate. بينما العلاج بلأنسولين أعاد تنظيم مستويات معظم الأحماض الدهنية ماعدا docosatetraenoate (n-6) و docosahexaenoat.

هذا ما فسره Patel, Katyare, (2006) بانعكاس المرض على نقص ميوعة الأغشية عند الحيوانات المصابة بداء السكري، و عودتها فقط عند المجموعة المتلقية للعلاج الأنسوليني.

و حسب Mastorikou et al., (2006) فإن انخفاض قدرة أيض الفوسفولبيدات HDL المؤكسدة عند المصابين بداء السكري النوع الثاني، ينتج عنها زيادة احتمال تطور الأمراض القلب–وعائية و هو ما بينه أيضا (Januszewski et al., 2005).

و أهم ملاحظة أبداها Ishankhodzaev et al., (1984) هو انخفاض مستوى فوسفولبيدات أغشية الميتوكندريا و تغير نوعيتها من الأحماض الدهنية في كبد الجرذان المصابة بداء السكري الألوكساني، مما أدى إلى تصلبها بسبب زيادة نسبة الكولسترول و الأحماض الدهنية المشبعة.

دهون الدم الكلية:

بالنسبة للدهون الكلية، فإن تركيزها في بلازما الدم يتبع مكوناتها المتناولة سابقا، و يلاحظ من الشكل (18) أن مستوياتها تظل عالية معنويا $p < 0.05$ عند المجموعة المصابة بداء السكري غير المعالجة بالأنسولين (الضوابط المريضة) مقارنة بين المجموعتين (D1) و (D2) (38.48 ± 388.56 ملج/دل)، (44.12 ± 362.78 ملج/دل) و (22.94 ±374.43 ملج/دل) على التوالي أما المجموعة السليمة (الضوابط المريضة) فكان تركيز الدهون الكلية عندها أقل منه مقارنة بالجموعات السابقة (45.22 ± 338.78 ملج/دل) كل هذا قبل مباشرة العلاج، هو ما يتطابق و نتائج(Platel, Srinivasan, (1995، Rao et al., (1999) و

El-Batran et al., (2006) حيث كانت عند الأخير محصورة بين (23.8 ± 547.5 ملج/دل) و (31.1 ± 670.8 ملج/دل) عند الجرذان الضوابط و المصابة بداء السكر التجريبي على التوالي بمدلول معنوي $p < 0.001$.

يبدو من خلال ما سبق أن ارتفاع جليسريدات الدم الثلاثية ساهم إلى حد كبير في ارتفاع الدهون الكلية، و من ثم فارتفاع معدل هذه الأخيرة يمثل قاسما مشتركا هاما مع ارتفاع جلوكوز الدم، حيث لاحظنا إرتباطا قويا بين تركيز جلوكوز الدم عند الشواهد السليمة (5.50 ± 95.00 ملج/دل) و تركيز كل من الجليسريدات الثلاثية و الدهون الكلية على التوالي (13.91 ± 54.89 ملج/دل) (45.22 ± 338.78 ملج/دل) مقارنة بنفس المؤشرات عند الضوابط المريضة (14.31 ± 319.67 ملج/دل) و (12.15 ± 84.44 ملج/دل) و (38.48 ± 388.56 ملج/دل) هو ما ينطبق و دراسة كل من (Nikkila, 1973), Schonfeld et al., (1974) و Bennion, Grundy, (1977) Sosenko, (1980) و (Platel, Srinivasan, 1995).

و بتلقي العلاج بجرعات مناسبة لضبط مستوى جلوكوز الدم إنخفض مستوى الجليسريدات الثلاثية و هو ما توصل إليه (Bennion, Grundy, 1977). مع الإشارة إلى أن نسبة الإنخفاض لم تكن بنفس درجة إنخفاض جلوكوز الدم، و ذلك قد يعزى لطبيعة تأثر الجلوكوز بالأنسولين أسرع من تأثر الجليسريدات الثلاثية.

الإجهاد التأكسدي:

أكدت عديد الدراسات Jang et al., (2000) و Giugliano et al., (1996) أن مرض السكر المزمن يرفع من حالة الإجهاد التأكسدي، بسبب تضاعف إنتاج الجذور الحرة، التي تسبب بدورها تدميرا للبنية الخلوية (Yadav et al., 1997).

و في دراسات حديثة مماثلة، تبين إرتباط ما سبق مع انخفاض نشاط الأنزيمات المزيلة لهذه الجذور الحرة Donma et al., (2002) ,Gurler et al.,(2000) و (Seghrouchni et al., 2002).

الأعراض السريرية و المؤشرات البيوكميائية الخاصة بمختلف الأعضاء و الأنسجة المستهدفة، تستدعي كثيرا من الدراسة المعمقة و المستفيضة، بغرض تقدير الإجهاد التأكسدي و معرفة تأثيرات مضادات الأكسدة المختلفة. إن إجراء الدراسات على البشر تكتسي نوعا من الصعوبة بسبب أن الإجهاد التأكسدي يعتبر عاملا واحدا مشتركا مسؤولا عن الإضطراب الأيضي الذي يحدث عند المصاب بداء السكري. فمثلا الإرتفاع المفرط لجلوكوز الدم، الإرتفاع المفرط لضغط الدم و اضطراب أيض الدهون لا يمكن أن تبقى بدون علاج، لذلك فإنه من الصعب فصل التأثيرات الإيجابية للعوامل الدوائية المضادة للأكسدة، عن تأثيرات العوامل الدوائية المخفضة لجلوكوز الدم، الدهون و المضادة لارتفاع ضغط الدم. لذلك فالدراسة التجريبية على الأنواع الحيوانية قد تفيد في هذا الجانب، حيث تسمح بتجريب العلاج النوعي المضاد للأكسدة، ومن ثم تثمين تأثيرها على الأعضاء و الأنسجة و مستوى جلوكوز الدم.

إن فهم الآليات الجزيئية للإجهاد التأكسدي و التدمير الناتج عنه سيوفر نظرة آفاقية للدور النوعي لمضادات الأكسدة في مختلف الإصابات المرضية. لذلك يسير التطور في هذا المجال نحو نوعيات علاجية لتسوية منشئات الإجهاد التأكسدي.

و لتسليط الضوء على مختلف المواقع التي تكون عرضة للإجهاد التأكسدي، قمنا بدراسة أهمها تأثرا بالأنواع الأكسيجينية و الجذور الحرة و هي كريات الدم الحمراء عند الجرذان المصابة بداء السكري التجريبي الألوكساني غير المعالجة بالأنسولين ك ضوابط مريضة، و المصابة التي تلقت العلاج بالأنسولين مقارنة بال ضوابط السليمة خلال ثمانية أسابيع.

بعد تحريض المرض عند الجرذان بجرعة (200 ملج/كلج وزن الجسم(، من مادة الألوكسان رباعي الماء، أختيرت المجموعة)D2(لإجراء التقديرات على نشاط الأنزيمات المضادة للتأكسد GPx, GR, Catalase, SOD و القدرة المختزلة GSH داخل كريات الدم الحمراء كما يبينه الشكل (19)، بحكم أنها المجموعة التي يتشابه عندها المرض مع النوع الثاني المتناول عند الإنسان حسب (Wilcox et al., 1968) و مقارنتها بالضوابط المريضة (غير الخاضعة للعلاج بالأنسولين).

لوحظ انخفاض نشاط النظام الأنزيمي المضاد للأكسدة بشكل معنوي عند الضوابط المريضة الشكل (19)، باستثناء نشاط أنزيم الـــ SOD الذي كان عاليا بصورة معنوية $p < 0.05$ مقارنة بالجرذان الضوابط السليمة.

أما بعد العلاج بالأنسولين بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض، تبين عودة معظم المؤشرات المدروسة إلى المستوى الذي لا يختلف كثيرا عن تلك الخاصة بالجرذان الضوابط السليمة.

و ما يؤكد نجاعة العلاج بالأنسولين عند المجموعة (D2)، هو بقاء تركيز نفس المؤشرات عند الضوابط المريضة غير المتلقية للعلاج بالأنسولين عند تركيزها المنخفض و عودته إلى مستواه القريب جدا من الطبيعي عند المجموعة (D2).

أنزيم (GPx) Glutathion Peroxidase:

يتبين من القيم الخاصة بنشاط الأنزيم GPx الشكل (19) المسؤول على إزالة الجذور فوق الهيدروكسيلية باستخدام GSH كمرافق أنزيمي مختزل، أن نشاطه انخفض بشكل معنوي في كريات الدم الحمراء عند مجموعة الضوابط المريضة مقارنة بمجموعة الضوابط السليمة قبل و بعد ثمانية أسابيع من حدوث المرض (0.51 ± 8.34 وحدة/جم Hb)، (0.22 ± 7.55 وحدة/جم Hb) (0.63 ± 12.5 وحدة/جم Hb) على التوالي و $p < 0.05$، و هذا يتفق مع نتائج دراسة كل منذ El Missiry, El Gindy, (2000) و Kassab et al., (2003) حيث لاحظ الأخير إنخفاضا في نشاط الأنزيم عند المصابين بداء السكري النوع الثاني مقارنة بالضوابط لكن بشكل غير معنوي (800 ± 4078 و 886 ±4267 وحدة دولية / لتر دم كلي) على التوالي، و ظهر الإنخفاض فقط عند المرضى المبدون لأعراض عصبية. أما Tribe, Poston, (1996) عند مقارنتهما لنشاط الأنزيم GPx في النوعين من داء السكري (الأول و الثاني)، سجلا إرتفاعا في نشاط الأنزيم البلازمي، في حين كان

النشاط ثابتا أو منخفضا في كريات الدم الحمراء في النوع الأول، أما في النوع الثاني فكان مرتفعا.

في دراستنا عند المجموعة)D2(إسترجع الأنزيم نشاطه (0.10 ± 10.5 وحدة / جم Hb) بعد ثمانية أسابيع من العلاج بالأنسولين لكن بقي دون قيمة نشاطه عند مجموعة الضوابط السليمة (0.63 ± 12.5 وحدة / جم Hb)، و أعلى من الضوابط المريضة ± 7.55 (0.22 وحدة / جم Hb) و مدلول معنوي $p < 0.01$ خلال فترة العلاج. فيتبين مما سبق، أن نشاط هذا الأنزيم مرتبط إلى حد كبير بمدى تنظيم تركيز جلوكوز الدم، بحيث يستمر ارتباط بروتين الأنزيم بالجلوكوز لا أنزيميا، مما يفقده نشاطه مادام مستوى السكر في الدم أعلى من الحد الطبيعي و أكدته دراسة Komosińska-Vassev et al., (2005) الذي سجل نسبة إنخفاض (15%) عند المرضى منتظمي العلاج عديمي المضاعفات الوعائية، مقابل (36%) عند غير منتظمي العلاج عديمي المضاعفات الوعائية؛ و Chaudhry et al., (2007) الذي يؤكد إنخفاض نشاط الأنزيم إلى إرتباطه بالجلوكوز و من ثم فقدانه لخاصيته التفاعلية، و من جهة ثانية فإن تأثير داء السكري على نشاط الأنزيم GPx يتغير بحسب النوع و طبيعة النسيج الذي يضم الأنزيم Valko et al., (2007)، و هو ما أظهرته أيضا دراسة(Yadav et al., (1997. بينما يرى Prechl et al., (1997) من زاوية أخرى أن نشاط الأنزيم لا يتغير مهما كانت مدة المرض و تؤيده دراستي كل من Forsberg et al., (1996) و Firoozrai et al., (2007) حيث لم يسجل الأخير تأثيرا لمستوى جلوكوز الدم

(96.7 ± 203 ملج/دل)، (11 ± 89.1 ملج/ دل) على نشاط الأنزيم GPx (4.5 ± 50.72 وحدة / جم Hb)، (5.6 ± 52.2 وحدة / جم Hb) عند المرضى و السليمين على التوالي. إلا أن التفسير الذي يبدو أكثر واقعية بالإضافة إلى الإرتباط بالجلوكوز، قد يعود انخفاض نشاط الأنزيم أيضا لانخفاض تركيز مرافقه الأنزيمي GSH، الذي ينخفض بدوره أثناء داء السكري.

أنزيم (GR) Glutathion Reductase:

يلاحظ من نتائج الشكل (19) حدوث انخفاض في نشاط الأنزيم GR إلى ما يعادل النصف في بلازما المجموعة المصابة بداء السكري غير المعالجة بالأنسولين (الضوابط المريضة) مقارنة بمجموعة الضوابط السليمة (0.23 ± 2.66 وحدة / جم Hb) و ± 4.40 (0.21 وحدة / جم Hb) على التوالي، إلا أنه استعاد نشاطه عند المجموعة)D2(المعالجة بالأنسولين بعد ثمانية أسابيع من العلاج بالأنسولين (0.05 ± 3.56 وحدة / جم Hb) بشكل معنوي $p < 0.05$، و مع ذلك يظل أيضا دون المستوى الطبيعي مقارنة ب الجرذان الضوابط السليمة.

و أوضح Valko et al., (2007) من جهته، أن تعديل مستوى جلوكوز الدم، بالعلاج المخفض له، لا يحدث تغييرا في نشاط أنزيم GR و هذا ما تدعمه أيضا دراسة Komosińska-Vassev et al., (2005) و من ثم يبدو أن انخفاض نشاط الأنزيم لا يلعب أي دور في إحداث المضاعفات المتعلقة بداء السكري.

و على العكس من ذلك، بينت دراسة سابقة مماثلة Yadav et al., (1997) أن

نشاط الأنزيم في أنسجة الكبد، الكلى و القلب يرتفع عند الجرذان المصابة بداء السكري ثم يعود فينخفض بالعلاج بالأنسولين، كما لاحظ Chaudhry et al., (2007) إنخفاض نشاط الأنزيم في كل أنسجة الحيوانات المصابة بداء السكري بالألوكسان. و من جهة أخرى يتبين أن زيادة نشاط الأنزيم GR تحت تأثير العلاج بالأنسولين يتوافق مع زيادة تركيز القدرة الإختزالية GSH، مما يدل على أن العلاج المخفض لجلوكوز الدم قد يضبط مضادات الأكسدة عند المصابين بداء السكري. علما أن أنزيم GR مسؤول على انخفاض نسبة GSSG/GSH و ذلك بزيادة تحويل الصورة المؤكسدة GSSG إلى الصورة المختزلة GSH، و من ثم المساهمة في إعادة النظام المضاد للأكسدة إلى طبيعته. و كما هو الحال مع أنزيم الكتلاز، فإن أنزيم GR بدوره يتأثر بارتفاع جلوكوز الدم عند المصابين بداء السكري، حيث يرتبط بروتين الأنزيم بالجلوكوز لا أنزيميا، مؤديا إلى تشويه تركيبه و من ثم انخفاض نشاطه، و هذا هو ربما التفسير الذي يمكن الإرتكاز عليه في توضيح عودة نشاط الأنزيم تحت العلاج بالأنسولين كمخفض لجلوكوز الدم، و من ثم تقليل ارتباط بروتين الأنزيم بالجلوكوز و عودة نشاطه إلى حالته الطبيعية (Lyons, 1991).

أنزيم SOD:

يتبين من الشكل (19) أن أنزيم SOD هو الوحيد الذي زاد نشاطه عند المجموعة المصابة بداء السكري مقارنة بالضوابط السليمة (0.06 ± 0.44 وحدة/جم Hb) و (0.22 ± 0.03 وحدة دولية / جم Hb) على التوالي و بدرجة معنوية $p < 0.05$ و هذا يتفق مع ما

توصل إليه (2005) Komosińska-Vassev et al., و (2007) Chaudhry et al., حيث سجل الأول زيادة في نسبة نشاط الأنزيم بمقدار 81 %، و بين أن نشاط الأنزيم يزيد عند المرضى الذين يعانون أكثر من المضاعفات الوعائية و من عدم انضباط مستوى جلوكوز الدم في آن واحد، و يقترح تفسيرا لذلك، بأن هذا الإرتفاع في نشاط الأنزيم يعد رد فعل تكيفي للإجهاد التأكسدي، يعكس حسب (1993) Lu et al., و (1999) Frank et al., فرط إنتاج الجذور الحرة و زيادة في تخليق الأنزيم، و ذلك للوقاية من إنتاج فوق أكسيد الأزوت $NO^{\bullet}$ كما بينه كل من (1994) Tesfamariam, و (2000) Li, Förstermann, مما يؤكد استفحال الإجهاد التأكسدي بسبب زيادة نشاط SOD و من ثم الزيادة في إنتاج H_2O_2 الذي يستمر ارتفاعه بسبب الإنخفاض المقابل في نشاط الأنزيم المحول لـ H_2O_2 إلى جزيئتي ماء و هو أنزيم الكتلاز الذي انخفض نشاطه كما يبينه الشكل (19)، عكس ما يعرف عن أن الأنزيمات المضادة للأكسدة ينخفض نشاطها في داء السكري، و من ثم و جود إرتباط إيجابي بين كل من مستوى جلوكوز الدم و نسبة HbA_1C و هوما أظهرته نتائج دراستنا. أما (1991) Lyons, (2003) Kassab et al., فقد سجلا إنخفاضا في نشاط الأنزيم SOD بنسبة 14 % مقارنة مع نشاطه عند الضوابط السليمة، و ينطبق ذلك مع نتائج (1999) Felliet-Coudray et al., و (2004) Ananthan et al., حيث يرجع ذلك حسب (1997) Kennedy, Lyons, إلى ارتباط بروتين الأنزيم بالجلوكوز لا أنزيميا، بسبب فرط زيادة مستوى الجلوكوز في داء السكري، و هو ما لاحظه (2000) Sekeroglu et al.,

الذي درس تأثير العلاج بالحمية الفذائية على بعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي الأنزيمية في مصل و أغشية كريات الدم الحمراء عند عينة من المصابين بداء السكري النوع الثاني. أما عند المجموعة موضوع دراستنا و المتلقية للعلاج بالأنسواين يعود فينخفض نشاط الأنزيم بعد ثمانية أسابيع مقارنة بالمجموعة غير المعالجة بالأنسولين $p < 0.05$، أما Kesavulu et al., (2000) لم يسجل أي تغير في نشاط هذا الأنزيم.

و في دراسة موازية Aria, (1980) على الأفراد المصابين بداء السكري، غير منتظمي العلاج المخفض لجلوكوز الدم، ظهر لديهم إنخفاض في نشاط أنزيم SOD كريات الدم الحمراء ربما دائما بسبب ارتباط الجلوكوز ببروتين الأنزيم، مما أفقده نشاطه، و تبين دراسة أخرى أن نشاط الأنزيم داخل كريات الدم الحمراء إنخفض عند المصابين بداء السكري الذين تجاوزت عندهم مدة المرض 10 سنوات مقارنة مع حديثي العهد بالمرض (Prechl et al., 1997).

أما على مستوى نسيجي القلب و الكليتين فكان نشاط الأنزيم عاليا، ربما يعود ذلك حسب Yadav et al., (1997) و Kakkar et al., (1998) إلى التحول المزدوج dismutation لجزيء $O_2^{\bullet}$ مادة تفاعل الأنزيم.

و يعتقد Chaudhry et al., (2007) من ناحيته، أن الزيادة في نشاط الأنزيم SOD عند المصابين بداء السكري، يعتبر آلية تكيف لحماية أنزيمي catalase و GPx ضد التثبيط بواسطة $O_2^{\bullet}$، و هذا ما أكدته دراسة Oliveira et al., (1999) الذي بين أن الإرتفاع

الحاد للجلوكوز يرتبط إيجابيا بزيادة نشاط أنزيم SOD في جزر لانجرهانز عند الجرذان المصابة بداء السكري، في الوقت الذي لاحظ فيه (2000) El Missiry, El Gindy, في دراسة تجريبية على ذكور الجرذان المحرضة بالألوكسان أنخفاضا معنويا في نشاط الأنزيم في نسيج الكبد، مما قد يبين أن نشاط الأنزيم أثناء داء السكري يزيد أو ينقص نشاطه بحسب نوع النسيج.

أنزيم الكتلاز

يبين الشكل (19) إنخفاض نشاط انزيم الكتلاز داخل كريات الدم الحمراء بنسبة 41% عند الجرذان المصابة بداء السكري ال ضوابط و بمعنوية $p < 0.05$ مقارنة بالضوابط (0.03± 0.66 وحدة /جم Hb)، (0.08± 1.12 وحدة /جم Hb) على التوالي، مما يعني زيادة مستوى فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 المدمر للأغشية الحيوية. حيث سجل من جهته (2005) ,.Komosińska-Vassev et al، نسبة انخفاض في نشاط الأنزيم بمقدار 30%، خصوصا مع تزامن انخفاض نشاط الأنزيم GPx. و بعد العلاج بالأنسولين بينت دراستنا زيادة في نشاط أنزيم الكتلاز بـــنسبة 22 %، مقارنة بالمجموعة المصابة غير المعالجة (الضوابط المريضة) و بدلالة معنوية $p < 0.05$، عكس ما لاحظه Yadav et al., (1997) حيث لم يحدث تغيرا معنويا في نشاط الأنزيم.

و على النقيض من ذلك، ترى دراسة مماثلة على المصابين بداء السكري النوع الثاني إرتفاعا في نشاط الأنزيم catalase (Kesavulu et al., 2000).

كما لاحظ من جهته Prechl et al., (1997) عدم تغير نشاط أنزيم catalase داخل

كريات الدم الحمراء بتقادم أو حداثة المرض. و مهما يكون فإنه لا يمكن في الوقت الراهن على الأقل تحديد مدى العجز المناسب في النظام الأنزيمي المضاد للأكسدة، و ما هو الدور الذي يمكن أن يلعبه مثل هذا العجز في تطور مضاعفات داء السكري.

أما Koya et al., (2003) بين أن حالة الإجهاد التأكسدي تحدث أيضا داخل الكبيبات الكلوية Glomérules عند الجرذان المصابة بداء السكري، دون أن يحدث ضررا بالأنزيمات المضادة للأكسدة في هذا النسيج مثل CAT, GPx و SOD. علما أن أنزيم الكتلاز يتأثر بدوره بشدة ارتفاع مستوى جلوكوز الدم، حيث يؤدي ارتباطه غير الأنزيمي بالجلوكوز إلى انخفاض نشاطه، و عودته إلى نشاطه بعد تعديل مستوى الجلوكوز في الدم بمخفضات الجلوكوز (Yan, Harding, 1997) و هوما تمت ملاحظته في الدراسة الإكلينيكية.

القدرة الإختزالية GSH:

يعتبر كل من Jones et al., (2000) و Nogueira et al., (2004) النسبة GSH/GSSG أحسن مقياس لدرجة الإجهاد التأكسدي داخل الجسم. ففي دراستنا لوحظ نقص أو إنخفاض مستوى القدرة الإختزالية عند الجرذان المصابة بداء السكر التجريبي بمدلول $p < 0.05$ مقارنة بالجرذان الضوابط (2.09 ± 0.06 مول/جم Hb)، (4.55 ± 0.16 مول/جم Hb) على التوالي، و هو ما لوحظ في الدراسة الإكلينيكية عند الإنسان، و بالعلاج بالأنسولين إرتفع مستوى GSH (3.95 ± 0.11 مول/جم Hb)، و بذلك يكون قد

اقترب من القيمة الطبيعية عند مجموعة ال ضوابط السليمة، و هذا يتفق مع نتائج دراسة كل من Yue et al., (1989) Seghrouchni et al., (2002) ، , Bravi et al., (2006) و El Missiry, El Gindy, (2000) هذا الأخير لاحظ انخفاض محتواها في كبد الجرذان المصابة بداء السكري المحرض بالألوكسان و نفس الملاحظة بينها Chaudhry et al., (2007) عند الجرذان المصابة بداء السكري و المعالجة بمخفضات الجلوكوز في الدم.

من جهة أخرى بينت دراسة Jacquot et al., (1990) و Terada et al., (1992) أن ارتفاع GSH لا يعود بالضرورة إلى نشاط GR لأن تحفيز الأنزيم بالأنسولين لم يغبر من نشاطه، و مهما يكن فإن أنزيمات أخرى بإمكانها القيام برفع مستوى GSH مثل أنزيمي thioredoxin, protein disulfide isomerase و thioltransferase.

أما Jain, McVie, (1994) يرى في انخفاض GSH كريات الدم الحمراء مؤشرا إضافيا جيدا لتقدير مدى طول عدم مراقبة إضطراب جلوكوز الدم عند المرضى.

و لم يلاحظ Yadav et al., (1997) عند دراسته لتأثر الأنسجة عند الجرذان المصابة بداء السكري بظاهرة الإجهاد التأكسدي، فوق أكسدة دهنية في كل من نسيج الكبد و الكليتين، عكس ما حدث مع نسيج القلب.

أما Çakatay, Kayali, (2006) أوضح من جهته أن مستوى مؤشرات فوق الأكسدة في المتوكندريا مثلا، والإتزان التأكسدي في البلازما متلازمان في مرض السكر المزمن.

الإستنتـــــاج و الآفـــاق

نستنتج مما سبق من نتائج أن تأثير إرتفاع جلوكوز الدم في حالة داء السكري يحرض على زيادة إنتاج المزيد من العناصر الأكسيجينية النشطة ذات التأثير المدمر في الجسم، مقارنة بالحالة الطبيعية. هذا ما يدفعنا إلى التفكير في مزيد من تسليط الضوء على مدى أهمية العلاج المتبع عند المرضى بداء السكري عموما و النوع الثاني بالخصوص، بغرض التقليل من ارتفاع الجلوكوز في الدم، سواء بتقديم الإنسولين أو بإعطاء العقاقير المخفضة للجلوكوز في الدم و/أو إتباع الحمية المناسبة لكل مصاب، يظل بعيدا عن تحقيق الأهداف المرجوة منه، في تفادي أو على الأقل تعطيل ظهور الأعراض المصاحبة للمرض و التي يعود معظمها إلى تأثير الإجهاد التأكسدي المحرض بالأنواع الأكسيجيمية النشطة، أهمها الجذور الحرة. و قد يعود هذا إما إلى:

1- عجز العلاج في حد ذاته في التأثير المزدوج.

2- إهمال من طرف المريض نفسه من حيث عدم اتباع النصائح و التوجيهات المطلوبة من المعالج.

و هو ما يشكل الآفاق التي نطمح لدراستها مستقبلا للوقوف على مدى استفادة المريض من العلاج الدوائي و/أو العقاقيري اللازم للمصاب بداء السكري.

من ناحية أخرى، يستنتج من هذه الدراسة أيضا، أن الإعتماد على التحاليل الروتينية (الإعتيادية)، كتقدير جلوكوز الدم و المكونات الدهنية و البروتينية ذات الصلة

ببعض المضاعفات المصاحبة للمرض، يبدو أنه يبقى منقوصا بالنظر إلى طبيعة الداء الذي يوصف بالمزمن، مما يستدعيى بالتالي النصح بإجراء التحليل النوعية للإجهاد التأكسدي لتحديد طبيعة العلاج النوعي لكل مرحلة من المرض، خصوصا إذا علمنا بأن حالة الإجهاد التأكسدي تتناسب شدة تطورها مع تقادم المرض.

هذا ما يدفعنا إلى التأكيد على ضرورة اتباع الحمية الغذائية المتوازنة بالعناصر، خاصة منها العناصر النادرة (الأثرية) المضادة للأكسدة، كتكملة للعلاج الموصوف من المعاين للمرض، حتى يدخل المريض ضمن دائرة الأمان من المضاعفات المصاحبة للمرض و التي تشكل في ذاتها خطرا مضاعفا للمريض.

الملحق

تقـــدير الفيتامين ج (C)

الكيماويات:

1 - محلول منظم Tampon 100 mM/L

2 - DCPIP 1.0 mM/L

طريقة العمل

	Blanc ml	العينة ml
العــينة	–	**0.1**
المـــاء المقطر	0.1	–
المحلول المنظم R1	0.5	0.5
DCPIP	1.0	1.0

تخـــلط العينات جيدا. يتم قياس الامتصاص الضوئي للعينة و blanc مقابل الماء المقطر عند طول الموجة 520 nm. الاستقامة الخطية لغاية mg/L350 و ثبات اللون ساعة واحدة.

الحـــساب:

فيتامين C في العينة(mg/L) = $A_{blanc} - A_{\text{العينة}} \times 410 \times$ التخفيف

A = Absorbance

تقـــدير Catalase

الكيماويات:

1	المحلول المنظم: -Tampon Phosphate pH 7,0 -Détergent	100 mM/L
2	-H_2O_2 (substrat et standard -Dilué x 1000 avant utilisation	100 mM/L
3	Chromogène -inhibiteur.	–
4	-Peroxidase -4-Aminoantipyrine -Préservatif	> 2000/L 2 mM/L

طريقة العمل

المحاليل / الكيماويات	العينة+blanc ml	العينة ml	$blanc+H_2O_2$ ml	H_2O_2 ml
العينة	0.05	0.05	_	_
الماء المقطر	0.05	_	0.10	0.05
R1	0.50	0.50	0.50	0.50
R2	_	0.10	_	0.10
تحضن لمدة دقيقة واحدة عند 25°م بعدها تضاف				
R3	0.20	0.20	0.20	0.20
R4	0.50	0.50	0.50	0.50

تحضن العينات لمدة 10 دقيقة عند 37°م، و تقرأ العينات A العينة مقابل العينة +blanc و A القياسي مقابل القياسي+blanc عند 510 nm، ثبات اللون ســـاعة واحدة.

تقـــدير Glutathione reduced

الكيماويات:

1R	TCA	500 mmol/L
2R	Buffer محلول منظم	100 mmol/L
3R	DTNB	100 mmol/L

طريقة العمل:

المحاليل / الكيماويات	العـــينة ml	Blanc ml
العينة	0.1	-
الماء المقطر	0.5	0.5
R1	0.5	0.5
يرج المحتوى جيدا، يترك مدة ✳ د عند درجة حرارة الغرفة، يرج عند 3000 د ف د لمدة 15 دقيقة ثم يؤخذ السائل الأعلى		
السائل العلوي	0.5	0.5
2R	1.0	1.0
R3	0.1	0.1
يرج المحتوى جيدا، تقاس الامتصاصية بعد 5–10 د عند طول الموجة 405 nm العينة مقابل blanc. الاستقامة الخطية لغاية 120 mg/dl		

تقديــر Total Antioxidant Capacity:

الكيماويات:

R1	مادة التفاعل H_2O_2 يخفف 1000 مرة قبل الاستعمال
R2	Chromogène ملون
R3	أنزيم + منظم (Tampon)

طريقة العمل:

يخفف R1 1000 مرة فورا قبل استخدامه)10 µl + 10ml ماء مقطر) يتلف بعد الاستعمال.

كيماويات العمل: تخلط أحجام متساوية من R2 و R3 قبل العمل فورا.

المحاليل / الكيماويات	Blanc ml	العينة ml
الماء المقطر	0.02	_
العينة	_	0.02
R1	0.5	0.5
يخلط جيدا ثم يحضن 10 د عند 37°م		
كيماويات العمل	0.5	0.5
يخلط جيدا ثم يحضن 5 د عند 37°م		
تقرأ امتصاصية blanc A_B و العينة A_{SA} مقابل الماء المقطر عند 505 nm . الاستقامة الخطية لغاية 2 mM/L		

تقـــــدير فوق أكاسيد الدهون Malondialdehyde:

الكيماويات:

1	المحلول القياسي	10 nmol / mL
2	Chromogène Thiobarbituric acid Détergent Stabilisateur	25 mmol /L

طريقة العمل:

المحاليل / الكيماويات	العــينة ml	القياسي ml	Blanc ml
العــينة	0,2	–	–
القياسي	–	0,2	–
Chromogène	1,0	1,0	1,0
يرج جيدا، تغطى الأنابيب بالكويرات الزجاجية، تسخن داخل حمام ماء مغلي لمدة 30 د تبرد و تضاف إليها			
العــينة	–	–	0,2
يخلط محتوى الأنابيب، تقرأ امتصاصية العينة مقابل blanc و امتصاصية القياسي مقابل الماء المقطر عند 534 nm. ثبات اللون 6 ســاعات. الاستقامة الخطية لغاية 100 nM/mL			

تقدير GPx:

الكيماويات:

1	المحلول المنظم PH 7.0 محلول منظم فوسفاتي TRITON x-100	50 MM 1 %
2	NADPH lyophilisé Glutathion (GSH) Glutathion réductase B-nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate reduced	µmol 24 U 12 ≥ 4.8 µ mole
3	فوق أكسيد الهيدروجين 50 % تخفف 100 مرة قبل الاستخدام مباشرة	

طريقة العمل:

المحاليل الكيماويات	العينة ML
المحلول المنظم (R1)	1.0
)R2) NADPH	0.1
العينة	0.01
H_2O_2 (R3)	0.1

تغسل كريات الدم الحمراء بمحلول ملحي بارد (10 v/1 v)، تفجر كريات الدم الحمراء بعد ذلك بإضافة أربعة (4) أحجام من الماء المبرد منزوع الأيونات. يعرض المحتوى لعملية الطرد المركزي 4000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق عند 4°C لتجمع بعد ذلك الطبقة العليا الشفافة من الأنبوب التي تتم عليها عملية قياس نشاط الأنزيم.

يرج المحلول جيدا ثم يسجل انخفاض الامتصاصية عند 340 nm / دقيقة إلى غاية 3 دقائق مقابل عينة الماء منزوع الشوارد. الامتصاصية الأولى تقرأ في أقل من 1.5 دقيقة.

تقدير SOD

الكيماويات:

1	محلول منظم 8.5 PH
2	NBT
3	NADH
4	PMs

المحاليل 2، 3، 4، تضاف إليها 10 ملل من الماء المقطر، المحلول **4** يخفف 100 مرة قبل الاستعمال مباشرة.

العينة: بلازما الدم المأخوذ في وجود مانع التخثر (الطريقة)

الإجراء:

تفجر كريات الدم الحمراء بإضافة أربعة أحجامها من ماء المثلج المستعمل في HPLC، يعرض المحتوى لعملية الطرد المركزي 10000 X g لمدة 15 دقيقة عند 4°C تجمع بعد ذلك الطبقة العليا الشفافة في الأنبوب لتتم عليها عملية قياس نشاط الأنزيم.

تخفف العينة بغرض إعطاء نسبة تثبيط مئوية بين 30%–60%.

العينات المحاليل	BLANC ML	العينة ML
المحلول المنظم (R1)	1.0	1.0
(R2) NBT	0.1	0.1
(R3 NADH)	0.1	0.1
العـــــينة	_	0.05
الماء المقطر	0.05	_
	ترج العينات جـــيدا: يبدأ التفاعل بإضافة	
(R4) PMs	0.01	0.01

تقاس زيادة الامتصاص عند 560 nm لمدة 5 دقائق لكل من المحلول الشاهد (Δ A control) والعـــــينة (Δ A sample).عند درجة حرارة 25 °C.

تقدير: GR

NADPH + H+ + GSSG ⟶ $NADP^+$ + 2GSH

الكيماويات:

1	محلول منظمBuffer Phosphate de potassium Ph 7.5 EDTA	100 mmol/L 1 mmol / L
2	مادة التفاعل GSSG	50 mmol / L
3	NADPH	2 mmol / L

المحلول R2 يعاد بإضافة 12 ملل من المحلول المنظم R1 يمكن الإحتفاض به عند – 20 م° لمدة شهرين.

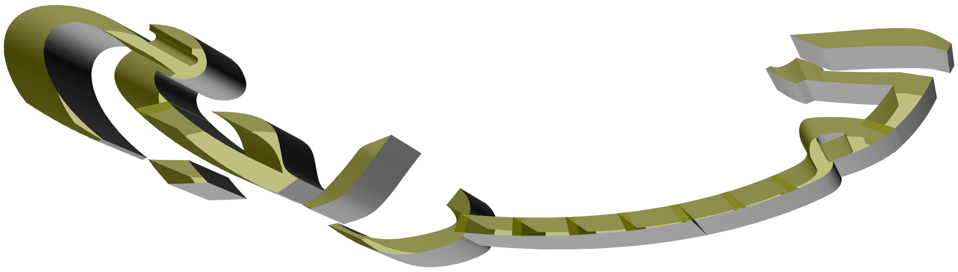
المحلول R3 يعاد محتواه بإضافة 10 ملل من الماء المعاد تقطيره، يمكن الاحتفاظ به عند – 20 م° لمدة شهرين.

العينة: بلازما الدم المأخوذ في وجود مانع التخثر (الطريقة)

الإجراء:

العــينة ML	0.050
Buffer (R1) ml	1.00
GSSG (R2) ml	0.10
NADPH (R3) ml	0.10

يرج الأنبوب جيدا، يترك عند 25 م°، تبدأ القراءة عند الفراغعند الطول الموجة 340 nm مع التشغيل المتزامن لعداد الزمن. تقرأ مرة ثانية، ثم بعد 5 دقائق نحصل على فرق الامتصاصية/ الدقيقة Δ A340 nm / min



المـــــــــــراجع

ADA, American Diabetes Association (2005)**:** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 28 (suppl. 1)**:** S37–S43

Adeli K, Taghibiglou C, Van Iderstine SC, Lewis GF, (2001)**:** Mechanisms of hepatic very low-density lipoprotein overproduction in insulin resistance. *Trends Cardiovasc Med*; 11(5)**:** 170–176

Aebi H, (1984)**:** Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105**:** 121–126

Agarwal R. (2003)**:** Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade. Am J Physiol Renal Physiol; 284**:** F863– F869

Aggett PJ, Comerford JG, (1995)**:** Zinc and human health. *Nutr Rev*;53 (suppl)**:** 16–22

Aguirre F, Martin I, Grinspon D, Ruiz M, Hager A, De Paoli T, et al (1998)**:** Oxidative Damage, Plasma Antioxidant Capacity, and Glucemic Control in Elderly NIDDM Patients. *Free Radical Biology and Medicine* 24 (4)**:** 580–585

Ahmed N, (2005)**:** Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications, *Diab. Res. Clin. Pract*. 67**:** 3–21

Alamdari DH, Paletas K, Pegiou T, et al (2007)**:** A novel assay for the evaluation of the prooxidant–antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clinical Biochemistry*. 40**:** 248–254

Alavaikko M, Elfving R, Hirvonen J, Jarvi J, (1973)**:** Triglycerides, cholesterol, and phospholipids in normal heart papillary muscle and in patients suffering from diabetes, cholelithiasis, hypertension, .and coronary atheroma. *J. clin. Path*. 26**:** 285–293

Allain CC, Poon LS, Chang CSG, Richmond W, and Fu. PC, (1974)**:** Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem*. 20**:** (4) 470–475

Ananthan R, Latha M, Pari L, Baskar C, Narmatha V, (2004)**:** Modulatory effects of *Gymnema montanum* leaf extract on alloxan induced oxidative stress in Wistar rats. *Nutrition*;20**:** 280–285

Anderson JW, Gowri MS, Turner J, Nichols L, Diwadkar VA, et al (1999)**:** Antioxidant Supplementation Effects on Low-Density Lipoprotein Oxidation for Individuals with Type 2 Diabetes Mellitus *Journal of the American College of Nutrition*. 18 (5)**:** 451–461

Anderson RA, Roussel AM, Zouari N, Mahjoub S, Matheu JM, Kekreni A, (2001): Potential antioxidant effect of zinc and chromium supplementation in people with type II diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Nutr*. 20 (3): 212–218

Aragno M, Tamagno E, Gato V, Brignardello E, Parola S, et al (1999): Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocin-treated rats against oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 26 (11/12): 1467–1474

Aragno M, Parola S, et al, (2000): Oxidative derangement in rat synaptosomes induced by hyperglycaemia: restorative effect of dehydroepiandrosterone treatment. *Biochem Pharmacol* 60: 389–395

Aria K, Iizuka S, Tada Y, Oikawa L, Taniguchi N, (1980): Increase in the glucosylated form of the erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase in diabetes and close association of the non-enzymatic glucosylation with the enzyme activity. *Biochim Biophys Acta*; 924: 292–296

Armitage P, (1971): –Statistical Methods in Medical Research." *Blackwell Scientific Publications*, London

Armstrong AM, Chesnutt JE, Gormeley MJ, Young IS (1996): The effect of dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newely diagnosed non insulin dependent diabetes. *Free Radic Biol Med*. 21(5): 719–726

Asgary, S, Naderi, GA, Sarraf Zadegan, N, Vakili, R, (2002): The inhibitory effects of pure flavonoids on in vitro protein glycosylation. *Journal of Herbal Pharmacotherapy* 2: 47–55

Atalay M, Laaksonen DE, (2002): Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *J. Sports Sci*. Med. 1: 1–4

Aviram M, (1999): Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease ? *Mol Med Today* 5: 381–386

Azzi A, (2007): Oxidative stress: A dead end or a laboratory hypothesis? Biochemical and Biophysical Research Communications 362: 230–232

Banyou-Bredent J, Szmidt-Adjide V, (1990):Cardiovascular risk factors associated with diabetes in an Indian community of Guadeloupe. A case control study. *Diabetes Metab*;25 (5): 393–398

Barroso I, (2005): Genetics of Type 2 diabetes. *Diabet. Med*. 22: 517–535

Bassi A, Avogaro A, Crepaldi C, Pavan P, Zambon S, Marin R, et al, (1996): Short-Term Diabetic Ketosis Alters n-6 Polyunsaturated Fatty Acid Content in Plasma Phospholipids. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 1650–1653

Bavdekar A, et al, (1999): Insulin resistance syndrome in 8-year-old Indian children:small at birth, big at 8 years, both? *Diabetes*. 48: 2422–2429

Baynes JW, (1991): Role of oxidative stress in development of complications

of diabetes, *Diabetes*. 40**:** 405–412

Baynes JW, (1995)**:** Mechanistic approach to diabetes. In: Inoannides C. FlTT fr. eds Reactive oxygenin the eatiology and complications of diabetes Eths Horwood Limited 203: 231

Baynes JW, Thorpe SR, (1999)**:** Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*. 48**:** 1–9

Bennion LJ, Grundy SM, (1977)**:** Effects of diabetes mellitus in cholesterol metabolism in man. *N, Engl J. Med*. 296 (24)**:** 1365-1371

Benrebai M, El Hawary MFS (1994)**:** Biological studies on lipid constituantsin blood serum of alloxan diabetic rats.Publication de l'université de Constantine. Revue sciences et technologie Séeie C N°5

Beutler E, Duron O, Kelly BM, (1963)**:** Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 61**:** 882–888

Beylot M, Gracia I, (1983)**:** Serum lipids in diabetes mellitus relation to equilibration and micro-angiopathy. *Diabete Metab*. 9**:** 199–203

Biesalski HK, (2004)**:** Diabetes preventive components in the Mediterranean diet *Eur J Nutr* [Suppl 1] 43**:** I/26–I/30

Bindokas VP, et al, (2003)**:** Visualizing Superoxide Production in Normal and Diabetic Rat Islets of Langerhans* *The Journal Of Biological Chemistry*. 278 (11)**:** 9796–9801

Black DM, Bakker-Arkema R, Heinonen T, et al, (1998)**:** Efficacy and safety of atorvastatin in hyperlipidemic patients with concurrent hypertension or non insulin dependent diabetes mellitus. *J Hypertens*. 16 (suppl 2)**:** S233

Boemi M, Leviev I, Sirolla C, Pieri C, Marra M, James RW, (2001)**:** Serum paraoxonase is reduced in type 1 diabetic patients compared to nondiabetic, first degree relatives: influence on the ability of HDL to protect LDL from oxidation. *Atherosclerosis* 155**:** 229–235

Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J, (2000)**:** Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab*. 26**:** 163–176

Bonnefont-Rousselot D, (2002)**:** Glucose and reactive oxygen species, Curr. Opin. *Clin. Nutr. Metab. Care* 5**:** 561–568

Bonnefont-Rousselot D, (2004 a)**:** The role of antioxidant micronutients in the prevention of diabetic complications. *Treat endocrinol* 3 (1)**:** 41–52

Bonnefont-Rousselot D, Beaudeux JL, Therond P, et al, (2004 b): Diabetes mellitus, oxidative stress and advanced glycation endproducts. *Ann Pharm*

Fr. 62 (3): 147–157

Bonora E, Muggeo M, (2001): Postprandial blood glucose as a risk factor for cardiovascular disease in type II diabetes: the epidemiological evidence. *Diabetologia*. 44: 2107–2114

Brandao-Neto J, Silva CAB, Rezende AA, Almeida MG, Sales VSP, Marchini JS, (2003): Zinc pharmacokinetics in insulin-dependent diabetes mellitus patients after oral zinc tolerance test. *Nutr. Res*. 23: 141–150

Bravi MC, Armiento A, Laurenti O, Cassone-Faldetta M, De Luca O, et al (2006): Insulin decreases intracellular oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism Clinical and Experimental* 55: 691–695

Brenner RR, (2003): Hormonal modulation of delta6 and delta5 desaturases: case of diabetes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 68: 151–162

Brownlee M, Vlassara H, Cerami A, (1984): Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Annals of Internal Medicine* 101: 527–533

Brownlee M, (2001): Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414: 813–820

Brownlee M, (2005): The pathophysiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54: 1615–1625

Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC, (2003): Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52: 102–110

Çakatay U, Kayali R, (2006): The evaluation of altered redox status in plasma and mitochondria of acute and chronic diabetic rats. *Clinical Biochemistry* 39: 907–912

Car N, Car A, Granic M, Skrabalo Z, Momcilovic B, (1992): Zinc and copper in the serum of diabetic patients. *Biol Trace Elem Res*. 32: 325–329

Carone D, Loverro G, Greco P, Capuano F, Selvaggi L, (1993): Lipid peroxidation products and antioxidant enzymes in red blood cells during normal and diabetic pregnancy. *Eur. J Obstet. Reprod. Biol.* 51(2): 103-109

Carty JL, Bevan R, Waller H, Mistry N, Cooke M, Lunec J, Griffiths HR: (2000): The effects of vitamin C supplementation on protein oxidation in healthy volunteers. *Biochem Biophys Res Commun* 273: 729–735

Catella-Lowson F, FitzGerald GA, (1996): Oxidative stress and platelet activation in diabetes mellitus, *Diab. Res. Clin. Pract. Suppl*. 30: S13–S18

Cavalot F, Petrelli A, Traversa M, Bonomo K, et al,. (2006): Postprandial

blood glucose is a stronger predictor of cardiovascular events than fasting blood glucose in type 2 diabetes mellitus, particularly in women: lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study. *J Clin Endocrinol. Metab.* 91**:** 813–819

Cederberg J, Siman CM, and Eriksson UJ (2001)**:** Combined treatment with vitamine E and C decreases and improves fetal outcome in experimental diabetic pregnancy**.** *Pediatr Res* 49 (6)**:** 755–762

Celik I, Yegin E, Odabasoglu F, (2002)**:** Effect of experimental diabetes mellitus on plasma lactate dehydrogenase and glutamic oxaloacetic transaminase levels in rabbits. *Turkish J. Biol*. 26**:** 151–154

Ceriello A, Guigliano A, Dello Russo P, and Lefebvre PJ, (1991)**:** Metabolic control may influence the increased superoxide generation in diabetic serum. *Diabetes Med* 8**:** 540–542

Ceriello A, Bortolotti N, Falletti E, Taboga C, Tonutti L, Crescentini A, et al, (1997 a)**:** Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. *Diabetes Care*; 20**:** 194–197

Ceriello A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E, et al, (1997 b)**:** Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care* 20**:** 1589–1593

Ceriello A, (2003)**:** New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a ‗causal'' antioxidant therapy, *Diab. Care* 26 (5)**:** 1589–1596

Ceriello A, (2005)**:** Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat ? *Diabetes*; 54**:** 1–7

Chang J-M, Kuo M-C, Kuo H-T, Chiu Y-W, and Chen H-C, (2005)**:** Increased glomerular and extracellular malondialdehyde levels in patients and rats with diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med*; 146**:** 210–215

Chattopadhyay J, Thompson EW, Schmid HH (1992)**:** Nonesterified fatty acids in normal and diabetic rat sciatic nerve. *Lipids* 27**:** 513–517

Chaudhry J, Ghosh NN, Roy K, Chandra R, (2007)**:** Antihyperglycemic effect of a new thiazolidinedione analogue and its role in ameliorating oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Life Sciences*. 80**:** 1135–1142

Chausmer AB, (1998)**:** Zinc, insulin and diabetes. *J Am Coll Nutr*. 17**:** 109–115

Chen YI, Risser TR, Cully M, Reaven GM, (1979)**:** Is the hypertriglyceridemia, associated with insulin deficiency, caused by decreased lipoprotein lipase activity ? *Diabetes* 28 (10)**:** 893–898

Chen V, Ianuzzo CD, (1982)**:** Dosage effect of streptozotocinon rat tissue enzyme activities and glycogen concentration. *Can J physiol pharmacol* 60 (10)**:**1251–1256

Chen MD, Lion SJ, Lin PY, Yang VC, Alexander PS, Lin WH, (1998): Effects of zinc supplementation on the plasma glucose level and insulin activity in genetically obese mice. *Biol. Trace Elem. Res*. 61 (3): 303–311

Chen H, Carlson EC, Pellet L, Moritz JT, Epstein PN, (2001): Overexpression of metallothionein in pancreatic beta-cells reduces streptozotocininduced DNA damage and diabetes. *Diabetes* 50: 2040–2046

Chertow B, (2004): Advances in diabetes for the millennium: vitamins and oxidant stress in diabetes and its complications. *Med Gen Med*. 6 (2):4

Cino M, Del Maestro RF, (1989): Generation of hydrogen peroxide by brain mitochondria : The effect of reoxygenation following post decapitative ischemia. *Arch. Biochem. Biophysics*. 269: 623–638

Coffey JT, Brandle M, Zhou H, Marriott D, Burke R, Tabaei BP, et al,. (2002): 10Valuing health-related quality of life in diabetes. *Diabetes Care*; 25: 2238–2243

Cornelli U, Terranova R, Luca S, Cornelli M, Alberti A, (2001): Bioavailability and antioxidant activity of some food supplements in men and women using the D-Roms test as a marker of oxidative stress. *J Nutr*. 131 (12): 3208–3211

Coste TC, Gerbi A, Vague P, Armand M, Pieroni G, Raccah D (2004a): Les supple´mentations nutritionnelles en acides gras polyinsature´s dans le traitement de la neuropathie diabetique pe´riphe´rique. *Cah Nutr Diét*. 39: 185–194

Coste TC, Gerbi A, Vague P, Maixent JM, Pieroni G, Raccah D, (2004b): Peripheral diabetic neuropathy and polyunsaturated fatty acid supplementations: natural sources or biotechnological needs? *Cell Mol Biol*. 50: 845–853

Curtin JF, Donovan M, and Cotter TG, (2002): Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *Journal of Immunological Methods* 265 (1): 49–72

Daisuke K, Kazuyuki H, et al, (2003): Effects of Antioxidants in Diabetes-Induced Oxidative Stress in the Glomeruli of Diabetic Rats. *J Am Soc Nephrol* 14: S250–S253

Dalton TP, Shertzer HG, Puga A, (1999): Regulation of gene expression by reactive oxygen signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 39: 67–101 Review

Dang AQ, Faas FH, Jethmalani SM, and Carter WJ, (1991): Decreased incorporation of long-chain fatty acids into erythrocyte phospholipids of STZ-D rats. *Diabetes*, l 40 (12): 1645–1651

Davi G, Falco A, Patrono C, (2005)**:** Lipid peroxidation in diabetes mellitus. Antioxid. Redox Signaling. 7 (1-2)**:** 256–268 Review

Davidson MH, Ma PTC, Stein E, (2001)**:** ZD 4522 is superior to atorvastatin in decreasing low density lipoprotein cholesterol and increasing high density lipoprotein cholesterol in patients with type IIa and IIb hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 37(suppl A)**:**292A. 1261–1275

Davie, SJ, Gould, BJ, Yudkin, JS, (1992)**:** Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* 41**:** 167–173

DCCT (Diabetes Control and Complications Trial Research group). (1993)**:** The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes millitus. *N Engl J Med*; 329 (14)**:** 977–986

DCCT (Diabetes Control and Complications Trial Research group) (1998)**:**: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352**:** 837–853

De Fronzo RA. Lilly Lecture 1987. (1988)**:** The triumvirate: beta cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. Diabetes 37**:** 667–687

De Man FH, Castro Cabezas M, van Barlingen HH, Erkelens DW, de Bruin TW: (1996)**:** Triglyceride-rich lipoproteins in non-insulin-dependent diabetes mellitus: postprandial metabolism and relation to premature atherosclerosis. *Eur J Clin Invest* 26**:** 89–108

Deneke SM, Fanburg BL, (1989)**:** Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol*; 257**:** L163–L173

Deng Y, Yu PH. (1999)**:** Simultaneous determination of formaldehyde and methylglyoxal in urine: involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated deamination in diabetic complications. J Chromatogr Sci;37**:** 317–322

Dennery PA, (2006)**:** Introduction to serial review on the role of oxidative stress in diabetes mellitus. *Free Radical Biology & Medicine* 40**:** 1–2

Devaraj S, Chan A, Jialal I, (2002)**:** α-tocopherol supplementation decreases plasminogen activator inhibitor-1 and P-selectin levels in type 2 diabetic patients, *Diab. Care* 25**:** 524–529

Dietrich M, Block G, Hudes M, Morrow JD, Norkus EP, Traber MG, et al (2002)**:** Antioxidant supplementation decreases lipid peroxidation biomarker F(2)-isoprostanes in plasma of smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11**:** 7–13

DiSilvestro RA, (2000)**:** Zinc in Relation to Diabetes and Oxidative Disease. *J.*

Nutr. 130: 1509S–1511S

Dodet B, (1991): Pathophysiological concentration of glucose, promotes oxidative modification of low density lipoprotein. 94: 771–778

Dominguez C, Ruiz E, Gussinye M, Carrascosa A, (1998): Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care*; 21: 1736–1742

Donma O, Yorulmaz E, Pekel H, Suyugul N, (2002): Blood and lens lipid peroxidation and antioxidant status in normal individuals, senile and diabetic cataractous patients, *Curr. Eye Res*. 25 (1): 9–16

Dröge W, (2002): Free radicals in physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 82: 47–95

Dunn IA, Ahmed MU, Murtiashaw MH, et al, (1990): Reaction of ascorbate with lysine and protein under autoxidizing conditions: formation of N”-(carboxymethyl) lysine by reaction between lysine and products of autoxidation of ascorbate. *Biochemistry*:29: 10964-10970

Durrington PN, (1994): Disorders of lipid and lipoprotein metabolism. Section 11.6 In *Oxford Textbook of Medicine*. Vol. 2, 3rd ed. Weatherall D, Ledingham JGG, Warrell DA, Eds. Oxford University Press, Oxford, U.K. p. 1399–1415

Durrington PN, (1998): Triglycerides are more important in atherosclerosis than epidemiology has suggested. *Atherosclerosis*. 141: S57–S62

Duzguner V, and Kaya S, (2007): Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits *Free Radical Biology & Medicine*. 42: 1481–1486

El-Batran SA, Abdel-Salam Omar ME, Nofal SM, Baiuomy AR, (2006): Effect of rosiglitazone and nateglinide on serum glucose and lipid profile alone or in combination with the biguanide metformin in diabetic rats. *Pharmacological Research* 53: 69–74

El Missiry MA, El Gindy AM, (2000): Amelioration of alloxan diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Ann. Nutr. Metab.44*: 97–100

Ercayas F, Taneli F, Arsian B, Uslu Y, (2004): Glycemic control, oxidative stress and lipid profile in children with type 1 diabetes mellitus. *Arch. Med. Res*. 25 370–375

Eriksson, UJ, Borg LA, Forsberg H, Styrud J (1991): Diabetic embryopathy. Studies with animals and in vitro models. *Diabetes* 40 (suppl), (2): 94-98

Eriksson J, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker D, (2000): Fetal and childhood growth and hypertension in adult life. *Hypertension*. 36: (5):790–794

Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H, (1991)**:** Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 11**:** 81–128

Evans M, Anderson RA, Graham J, Ellis GR, Morris K, Davies S, et al, (2000)**:** Lipemia and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus Ciprofibrate Therapy Improves Endothelial Function and Reduces Postprandial. *Circulation*. 101**:** 1773–1779

Evans JE, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM, (2002)**:** Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes, *Endocrinol. Rev*. 23**:** 599–622

Faas FH, Carter WJ, (1980)**:** Altered fatty acid desaturation and microsomal fatty acid composition in the streptozotocin diabetic rats. *Lipids*. 15**:** 953–961

Fabryova L, Cagan S.(1995)**:** Free oxygen radicals in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Bratisl Lek Listy*. 96 (1)**:** 23-29

Farvid MS, Jalali M, Siassi F, Hosseini M, et al, (2005)**:** Comparison of the Effects of Vitamins and/or Mineral Supplementation on Glomerular and Tubular Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 28**:** 2458–2464

Feillet-Coudray C, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais-Braesco V, et al (1999)**:** Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clinica Chimica Acta* 284 (1)**:** 31–43

Feroza NA, Farzana NN, and Fakhra S, (2006)**:** Lipid Peroxidation and Serum Antioxidant Enzymes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1084**:** 481–489

Firoozrai M, Nourbakhsh M, Razzaghy-Azar M, (2007)**:** Erythrocyte susceptibility to oxidative stress and antioxidant status in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 77**:** 427–432

Flegg HM, (1973)**:** Determination of serum cholesterol by an enzymatic method. *Ann. Clin. Biochem*. 10**:** (3) 79

Forsberg H, Håkanborg LA, Cagliero E, Eriksson UJ, (1996)**:** Altered levels of scavenging enzymes in embryos subjected to a diabetic environment, *Free Radic. Res*. 24**:** 451–459

Forsen T, et al, (2000)**:** The fetal and childhood growth of persons who develop type 2 diabetes. *Ann. Intern. Med*. 133**:** 176–182

Fossati P, Prencipe L, and Berti G, (1980)**:** Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine *Clin. Chem*., 26**:** 227–231

Frank S, Zacharowski K, Wray G.M, Thiemermann Ch, Pfeilschifter J, (1999) Identification of copper/zinc superoxide dismutase as a novel nitric oxide-regulated gene in rat glomerular mesangial cells and kidneys of endotoxemic rats, FASEB J. 13 869–882.

Fredrickson DS, Levy RI, and Lees RS, (1967)**:** Fat transport in lipoproteins--an integrated approach to mechanisms and disorders. *New Engl J Med*. 276 (5)**:** 273–281

Friedman P, Horkko S, Steinberg D, Witztum JL, and Dennis EA, (2002)**:** Correlation of antiphospholipid antibody recognition with the structure of synthetic oxidized phospholipids. Importance of Schiff base formation and aldol concentration. *J. Biol. Chem.* 277**:** 7010–7020

Froguel P, Velho G, (2001)**:** Genetic determinants of type 2 diabetes. *Recent Prog. Horm. Res*. 56**:** 91–105

Furuta H, et al., (2006)**:** Extracellular superoxide dismutase gene polymorphism is associated with insulin resistance and the susceptibility to type 2 diabetes Diabetes Research and Clinical Practice Volume 71, Issue 2 , February, Pages 140–145

Gallou G, Ruelland A, Legras B, Maugendere D, Allanic H, Cloarec L, (1993)**:** Plasma malondialdehyde in type I and type II diabetic patients, *Clin. Chim. Acta* 214**:** 227–234

Gallou G, Ruelland A, Campion L, Maugendre D, Le Moullec N, et al, (1994)**:** Increase in thiobarbituric acid-reactive substances and vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabet Metab*. 20**:** 258–264

Gavin JR 3rd, Roth J, Neville DM, et al, (1974)**:** Insulin-dependent regulation of insulin receptor concentration: a direct demonstration in cell culture. *Proc Natl Acad Sci* U S A; 71**:** 84–88

Giugliano D, Cereillo A, Paolisso G, (1996)**:** Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*;19**:** 257–267

Goldberg DM, Spooner RJ, (1983)**:** In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyen, H.V. Ed.) 3rd edn. Vol 3, pp 258–265, Verlog Chemie, Deerfield beach, FI

Golik, A Cohen N, Ramot Y, et al, (1993)**:** Type II diabetes mellitus, congestive heart failure, and zinc metabolism. *Biol Trace Elem Res*:39**:** 171–175

Gorus F, Mathieu C, Gerlo E, (2006)**:** How should HbA1c measurements be reported ? *Diabetologia*; 49**:** 7–10

Grankvist K, Muklund SL, Taljed IB, (1981)**:** CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in mouse pancreatic islet β-cells and other tissues in the mouse. *Biochem J*; 199**:** 393–398

Graue M, Wentzel-Larsen T, Hanestad BR, Batsvik B, Sovik O, (2003)**:** Measuring self-reported health-related, quality of life in adolescents with type 1 diabetes using both generic and disease-specific instruments. *Acta Paediatr*. 92**:** 1190–1196

Greismacher A, Kindhauser M, Andert SE, (1995)**:** Enhanced serum levels of thiobarbaturic-acid reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med*; 98**:** 469–475

Grodsky GM, Anderson CE, Coleman DL, Craighead JE, et al, (1982)**:** Metabolism and underlying causes of diabetes mellitus. *Diabetes*. 31**:** 45–53

Grundy SM, Anastasia JV, et al, (1986)**:** Influence of sucrose polyester on plasma lipoproteins, and cholesterol metabolism in obese patients with and without diabetes mellitus *Am J Clin Nuir*; 44**:** 620–629

Gupta D, Raju J, Prakash JR, and Baquer NZ, (1999)**:** Change in the lipid profile, lipogenic and related enzymes in the livers of experimental diabetic rats**:** effect of insulin and vanadate**.** *Diabetes Research and Clinical Practice***.** 46(1)**:** 1–7

Gurler B, Vural H, Yilmaz N, Oguz H, Satici A, Aksoy N, (2000)**:** The role of oxidative stress in diabetic retinopathy, *Eye* 14**:** 730–735

Gutmann I, Bergmeyer HU, dans HU Bergmeyer (1974)**:** Methoden der Enzymatischen Analyse *3^e^ édition,tome II Verlag Chemie Weinheim*. 1942

Habdous M, Herbeth B, Vincent-Viry M, Lamont JV, Fitzgerald PS, et al, (2003)**:** Serum total antioxidant status, erythrocyte superoxide dismutase and whole-blood glutathione peroxidase activities in the Stanislas cohort: influencing factors and reference intervals. *Clin Chem Lab Med*; 41**:** 209–215

Haidari M, Leung N, Mahbub F, Uffelman KD, Kohen-Avramoglu R, et al (2002)**:** Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance. Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction. *J Biol Chem* 277**:** 31646–31655

Halliwell B, (1994)**:** Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence ? *Lancet*; 344**:** 721–724

Halliwell B, Gutteridge JMC, (1999)**:** Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 31 (12)**:** 1454

Halliwell B, (2000)**:** Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies ? How far have we come? *Am J Clin Nutr* 72**:** 1082–1087

Hanefeld M, Fisher S, Julius U, Schulzo J, Schwanebeck U, Schmechel H, et al, (1996)**:** Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM. The Diabetes Interventional Study, 11-year followup. *Diabetologia*; 39**:** 1577–1583

Hanefeld M, Cagatay M, Petrowisch T, Neuser D, Petzinna D, Rupp M, (2004)**:** Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies. *Eur Heart J*; 26**:** 10–16

Harris LJ, Ray SN, (1935)**:** Diagnosis of vitamin C subnutrition by urine analysis with a note on the antiscorbutic value of human milk. *The Lancet*; 225 (5811)**:** 71–77

Harris ED, (1992)**:** Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J*; 6**:** 2675–2683

Hartnett ME, Stratton RD, Browne RW, (2000)**:** Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy, *Diab. Care*. 23**:** 234–240

Hegde PS, Rajasekaran NS, and Chandra TS, (2005)**:** Effects of the antioxidant properties of millet species on oxidative stress and glycemic status in alloxan-induced rats. *Nitrition research*. 25 (12)**:** 1109–1120

Herzberg G, (1971)**:** "The spectra and structures of simple free radicals" ISBN 048665821X

Hirano T, Mamo JCL, Takeuchi H, Nagano S and Takahashi T, (1991)**:** Correlation of insulin deficiency and hypertriglyceridemia in diabetic rats *Diabetes Research and Clinical Practice* 12 (3)**:**173–180

Hodge AM, English DR, O'Dea K, Sinclair AJ, et al, (2007)**:** Plasma phospholipid and dietary fatty acids as predictors of type 2 diabetes: interpreting the role of linoleic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86 (1)**:** 189–197

Hodgson, JM, Watts GF, Playford DA, Burke V, Croft KD, (2002)**:** Coenzyme Q10 improves blood pressure and glycaemic control: a controlled trial in subjects with type 2 diabetes, *Eur. J. Clin. Nutr.* 56**:** 1137–1142

Hoffman G, (1963)**:** Les animaux de laboratoire (*Précis*). *Vigot frères*. Paris

Honnorat J, Accominotti M, Broussolle C, Fleuret AC, Vallon JJ, Orgiazzi J. (1992)**:** Effects of diabetes type and treatment on zinc status in diabetes mellitus. *Biol Trace Elem Res* 32**:** 311–316

Hotta M, Tashiro F, Ikegami H, Niwa H, Ogihara T, Yodoi J, Miyazaki J,. (1998)**:** Pancreatic beta cell–specific expression of thioredoxin, an antioxidative and antiapoptotic protein, prevents autoimmune and streptozotocin-induced diabetes. *J Exp Med* 188**:** 1445–1451

Howard BJ. (1987)**:** Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *J Lipid Res*; 28**:** 613–628

Hsu WT, Tsai LY, Lin SK, Hsiao JK, Hen BHC, (2006)**:** Effects of diabetes duration and glycemic control on free radicals in children with type 1 diabetes mellitus, *Ann. Clin. Lab. Sci*. 36**:** 174–178

Hu Q, **Ishii E**, **Nakagawa Y,** (1994)**:** Differential Changes in Relative Levels of Arachidonic Acid in Major Phospholipids from Rat Tissues during the Progression of Diabetes. *J. Biochem*. 115 (3)**:** 405–408

Huang YS, Horrobin DF, Manku MS, Mitchell J, Ryan MA (1984)**:** Tissue phospholipid fatty acid composition in the diabetic rat. *Lipids* 19: 367–370

Huang H, Shan J, Xiao-Hong Pan, et al, (2007)**:** Carvedilol improved diabetic rat cardiac function depending on antioxidant ability *Diabetes Research and Clinical Practice* 75**:** 7–13

Ido Y, Kilo C, Williamso JR, (1997)**:** Cytosolic NADH / NAD^+ free radicals and vascular dysfunction in early diabetes mellitus. *Diabetologia*. 40**:** 115–117

Inoguchi T, et al, (2003)**:** A possible target of antioxidative therapy for diabetic vascular complications—vascular NAD(P)H oxidase, *Curr. Med. Chem.* 10, pp. 1759–1764

Irshad M, Chaudhuri PS, (2002): Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian J Exp Biol*. 40 (11)**:** 1233–1239

Ishankhodzaev TM, Bornikov VT, et al, (1984)**:** Lipid content of rat liver mitochondrial membranes in alloxan diabetes. *Probl. Endocrinol*. 30 (6)**:** 56–59

Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al, (2001)**:** Cardiovascular Morbidity and Mortality Associated With the Metabolic Syndrome *Diabetes Care* 24**:** 683–689

Jackson MJ, (1989)**:** Physiology of zinc**:** general aspects. In CF Mills, ed.Zinc in human biology.London Springer-Verlag, 1–14

Jacquot JP, De Lamotte F, Fontecave M, et al, (1990)**:** Human thioredoxin reactivity-structure/function relationship. *Biochem Biophys Res Commun*; 173**:** 1375–1380

Jain SK, McVie R, Duett J, Herbst JJ, (1989)**:** Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*; 38**:** 1539–1543

Jain SK, McVie R, (1994)**:** Effect of glycemic control, race (white vs. black) and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients. *Metabolism*. 43**:** 306–309

Jakus V, Bauerova K, Michalkova D, Carsky J, (2000)**:** Values of markers of early and advanced glycation and lipoxidation in serum proteins of children with diabetes mellitus, *Bratisl. Lek. Listy*. 101 (9)**:** 484–489

Jakus V, (2000)**:** The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy*.;101(10)**:** 541–551

Jang YY, Song JH, Shin YK, Han ES, Lee CS, (2000)**:** Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacol Res*;42**:** 361–371

Januszewski AS, Jenkins AJ, Baynes JW, and Thorpe SR, (2005)**:** Lipid-Derived Modifications of Plasma Proteins in Experimental and Human Diabetes. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1043**:** 404–412

Jones DP. Carlson JL. Mody VC. Cai JY. Lynn MJ. and Sternberg P. (2000). Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic. Biol. Med., 28*, 625–635

Kajanachumpol S, Mahaisirivodom A, (1997)**:** Plasma lipid peroxide and antioxidants levels in diabetic patients. *J. Med Assoc* Thai 80**:** 372–377

Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J, (1998)**:** Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Journal of Clinical Science* 94 (6)**:** 623–632

Kassab A, Laradi S, Ferchichi S, Omezzine A, Charfeddine B, et al (2003)**:** Oxidative stress parameters in type 2 diabetes mellitus *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 18**:** 79–85

Katyare SS, Satav JG, (2005)**:** Effect of streptozotocin-induced diabetes on oxidative energy metabolism in rat kidney mitochondria. A comparative study of early and late effects, *Diabetes Obes. Metab*. 7**:** 555–562

Kennedy AL, Lyons TJ, (1997)**:** Glycation, oxidation and lipoxidation in the developpement of diabetic complications. *Metabolism* ;46**:** 14–21

Kesavulu MM, Giri R, Kameswara Rao B, Apparao C, (2000)**:** Lipid peroxidation and anti-oxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab*; 26 (5)**:** 387–392

Kim YK, et al, (2002)**:** Vascular NADH oxidase is involved in impaired endothelium-dependent vasodilation in OLETF rats, a model of type 2 diabetes, *Diabetes* 51**:** 522–527

Kim SH, Abbasi F, Reaven GM, (2004)**:** Impact of degree of obesity on surrogate estimates of insulin resistance. *Diabetes Care*; 27**:** 1998–2002

Kinlaw WB, Levine AS, Morley HE, Silvis SE, McClain CJ, (1983)**:** Abnormal zinc metabolism in type II diabetes mellitus *Am. J. Med*. 75**:** 273–277

Kirkinezos IG, and Moraes CT, (2001)**:** Reactive oxygen species and mitochondrial diseases *Semin. Cell Dev. Biol*. 12**:** 449–457

Kloppel G, Drenck CR, Oberholzer M, Heitz PU, (1984)**:** Morphometric evidence for a striking B-cell reduction at the clinical onset of type 1 diabetes. *Virchows Arch*. 403**:** 441–452

Komosińska-Vassev K, Olczyk K, Olczyk, P Winsz-Szczotka K, (2005)**:** Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 68**:** 207–216

Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, and Cosic V, (2001)**:** Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J. Clin. Pathol*; 54**:** 356–361

Kovacic P, Jacintho JD, (2001)**:** Mechanisms of carcinogenesis: Focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr. Med. Chem*. 8**:** 773–796

Koya D, Hayashi K, Kitada M, Kashiwagi A, Kikkawa R, and Haneda M, (2003)**:** Effects of Antioxidants in Diabetes-Induced Oxidative Stress in the Glomeruli of Diabetic Rats. *J Am Soc Nephrol* 14**:** S250–S253

Kretzschmar M, Klinger W, (1990)**:** The hepatic glutathione system — influence of xenobiotics. *Exp Pathol*.38**:** 145–164

Kubisch HM, Wang J, Bray TM, Phillips JP, (1997)**:** Targeted overexpression of Cu/Zn superoxide dismutase protects pancreatic beta-cells against oxidative stress. *Diabetes* 46**:** 1563–1566

Kumar JS, Menon VP, (1993)**:** Effect of diabetes on levels of lipid peroxides and glycolipids in rat brain, *Metabolism* 42**:** 1435–1439

Laakso M, Lehto S. (1997)**:** Epidemiology of macrovascular disease in diabetes. Diabet Rev;5**:** 294–315

Lachili B, (2001)**:**Etude du stress oxydant et de son origine nutritionnelle chez la femme Algérienne, conséquences de la grossesse. Thèse de docteur de l'Université Joseph FOURIER Grenoble I. Faculté de Médecine-Pharmacie. Domaine de la Merci 38700 La tronche. France

Lee AJ, Morgan CLl, Morrissey M, Wittrup-Jensen KU, et al (2005)**:** Evaluation of the association between the EQ-5D ^{index} (health- related utility) and body mass index (obesity) in hospital-treated people with Type1 diabetes, Type 2 diabetes and with no diagnosed diabetes. *Diabet. Med*. 22**:** 1482–1486

Leinonen J, Rantalaiho V, Lehtimäki T, Koivula T, Wirta O, et al., (1998)**:** The association between the total antioxidant potential of plasma and the presence of coronary heart disease and renal dysfunction in patients with NIDDM. *Free Radic Res.* 29: (4)**:** 273–281

Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M, (1996)**:** Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic. Biol. Med.* 20**:** 463–466

Lepage G, Munoz G, Champagne J, Roy CC, (1991)**:** Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 197**:** 277–283

Levy J, Atkinson AB, Bell PM, Mc Cance DR, Hadden DR, (1998 a)**:** Beta-cell deterioration determines the onset and progression of secondary dietary failure in type 2 diabetes mellitus: the 10-year follow-up of the Belfast diet study. *Diabet*es *Med*. 15**:** 290–296

Levy Y, Bartha P, Ben-Amotz A, Brook JG, Dankner G, et al (1998 b)**:** Plasma Antioxidants and Lipid Peroxidation in Acute Myocardial Infarction and Thrombolysis. *Journal of the American College of Nutrition, Vol.* 17 (4)**:** 337–341

Li H, Förstermann U, (2000)**:** Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease, J. Pathol. 190 244–254

Lonsdal D, (1986)**:** A year in nutritional medicine (J. Blanjed) Keats, New Canaan, *CT*, p 85

Lu D, Maulik N, Moraru II, Kreutzer DL, Das DK, (1993)**:** Molecular adaptation of vascular endothelial cells to oxidative stress, Am. J. Physiol. 264 715–722

Lyons, TJ, (1991)**:** Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes ? *Diabetic Medicine* 8**:** 411–419

Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuashia B, et al, (1998)**:** Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 139**:** 341–349

Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJM, Mackness MI, (2000)**:** Low paraoxonase activity in type II diabetes complicated by retinopathy. *Clin Sci* 98**:** 355–363

Mannervik B, (1987)**:** The enzymes of glutathione metabolism: an overview. *Biochem Soc Trans*;15**:** 717–719

Manuel-y-Keenoy B, Van Campenhout A, Aerts P, Vertommen J, et al (2005): Time Course of Oxidative Stress Status in the Postprandial and Postabsorptive States in Type 1 Diabetes Mellitus**:** Relationship to Glucose and Lipid Changes. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol. 24 (6)**:** 474–485

Marnett LJ, (1999)**:** Lipid peroxidation – DNA damage by malondialdehyde, Mut. Res.-Fund. Mol. Mech. Mutagen. 424 83–95

Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Dominguez C, (2003): Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications, *Free Radic. Biol. Med*. 34: 1563–1574

Masella R. Di Benedetto R. Vari R. Filesi C. and Giovannini C. (2005): Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathionerelated enzymes. *J. Nutr. Biochem. 16*, 577–586

Mastorikou M, Mackness M, and Mackness B, (2006): Defective Metabolism of Oxidized Phospholipid by HDL From People With Type 2 Diabetes. *Diabetes* 55: 3099–3103

McCord JM, & Fridovich I, (1969): Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein Hemocuprein. *J. Biol. Chem*, *244*: 6049–6055

Medina LO, Veloso CA, Borges EA, Isoni CA, Calsolari MR, et al (2007): Determination of the antioxidant status of plasma from type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*; 77 (2): 193–197

Méndez JD, Balderas FL, (2005): Inhibition by L-arginine and spermidine of hemoglobin glycation and lipid peroxidation in rats with induced diabetes *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 60: 26–31

Miller DM, Buettner GR, Aust SD, (1990): Transition metals as catalysts of ―autoxidation" reactions. *Free Radic. Biol. Med*., 8: 95–108

Mills G, (1957): Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown *Journal of Biological Chemistry* 229 (1): 189–197

Molnar M, Wittmann I, Nagy J, (2000): Prevalence, course and risk factors of diabetic nephropathy in type-2 diabetes mellitus. *Med Sci Monit*.; 6: (5): 929–936

Mooradian AD, Morley JE, (1987): Micronutrient status in diabetes mellitus *Am J C/in Nutr*; 45: 877–895

Mullarkey CJ, Edelstein D, Brownleen M, (1990): Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 173: (3) 932–939

Murphy EW, Willis BW, Watt BK, (1975): Provisonal on the zinc content of foods. *JAM. Dietetic. Ass*. 66: 345–355

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, (1993): Harper's Biochemistry. *23 rd ed a LANGE medical book*

Narang R, Ridout D, Nonis C, Kooner JS, (1997): Serum calcium, phosphorus and albumin levels in relation to the angiographic severity of coronary artery disease. *Int J Cardiol*; 60 (1): 73–79

Nikkila EA, (1973)**:** Triglyceride metabolism in diabetes mellitus. *Prog. Biochem. Pharmacol*. 8**:** 271–299

Nishikawa T, et al, (2000)**:** Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage, *Nature* 404, pp. 787–790

Nishikimi M, Roa NA, and Yogi K, (1972)**:** The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Biochem. Bioph. Res. Common*. 46**:** 849–854

Noberasco G, Odetti P, Boeri D, Maiello M, Adezati L, (1991)**:** Malondialdehyde (MDA) level in diabetic subjects. Relationship with blood glucose and glycosylated hemoglobin, *Biomed. Pharmacother*. 45**:** 193–196

Nogueira CW. Zeni G. and Rocha, JBT. (2004)**:** Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. *Chem. Rev. 104*: 6255–6285

Oberley LW, (1988)**:** Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med*. 5**:** 113–124

Ohkawa H, Ohishi N, and Yagi K, (1979)**:** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95**:** 351–358

Okamoto K, (1970)**:** Experimental production of diabetes. Diabetes mellitus theory and practice. Ellemberg, M. and Rifkin, H. Diabetes mellitus arold theory and practice *Mc Grawhill. NY* 230

Olatunji LA, Soladoye AO, (2007)**:** Increased magnesium intake prevents hyperlipidemia and insulin resistance and reduces lipid peroxidation in fructose-fed rats. *Pathophysiology* 14**:** 11–15

Oliveira, HR, Curi, R, and Carpinelli, AR, (1999)**:** Glucose induces an acute increase of superoxide dismutase activity in incubated rat pancreatic islets *Am. J. Physiol.* 276**:** C507–C510

Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamel WA, et al, (1999)**:** Depletion of total antioxidant capacityin type 2 diabetes. *Metabolim* 48**:** 1414–1417

Opara EC, (2002)**:** Oxidative stress, micronutrients, diabetes mellitus and its complications *The Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*. 122 (1)**:** 28–34

Opara EC, (2004)**:** Role of Oxidative Stress in the Etiology of Type 2 Diabetes and the Effect of Antioxidant Supplementation on Glycemic Control. *J Investig Med***.** 52 (1)**:** 19–23

Ortwerth Bl, Slight SH, Prabhakaram M, Sun Y, Smith lB. (1992)**:** Sitespecific glycosylation of lens crystallins by ascorbic acid**.** *Biochim Biophys Acta*: 1117**:** 207–215

Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, et al (2003)**:** Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*. 22, (1)**:** 18–35

Paglia DE, Valentine, WN, (1967)**:** Studies on the quantitative and quatitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 30**:** 158–169

Palmeira AP, Rolo CM, (2006)**:** Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology* 212**:** 167–178

Paniker NV, Srivastava SK, Beutler E. (1970)**:** Glutathione metabolism of the red cells. Effect of glutathione reductase deficiency on the stimulation of hexose monophosphate shunt under oxidative stress. *Biochim. Biophys. Acta* 215**:** 456–460

Paolisso G, d'Amore A, Balbi V, (1994)**:** Plasma vitamin C affects glucose homeostasis in healthy subjects and non-insulin dependent diabetics. *Am J Physiol* 266**:** E261–E268

Pari L, Venkateswaran S, (2004)**:** Protective role of Phaseolus vulgaris on changes in the fatty acid composition in experimental diabetes, *J. Med. Food* 7**:** 204–209

Pastore A, Federici G, Bertini E, and Piemonte F. (2003)**:** Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification. *Clin. Chim. Acta.*, *333*, 19–39

Patel SP, Katyare SS, (2006)**:** Effect of alloxan-diabetes and subsequent treatment with insulin on lipid/phospholipid composition of rat brain microsomes and mitochondria. *Neuroscience Letters* 399**:** 129–134

Patten RL, (1970**:** The reciprocal regulation of lipoprotéine lipase activity and hormonr-sensitive lipase activity in rat adipocytes. *J. Biol. Chem*. 245 (21)**:** 5577–5584

Penckofer S, Schwertz D, Florczak K, (2002)**:** Oxidative stress and cardiovascular disease in type 2 diabetes: the role of antioxidants and pro-oxidants. *J Cardiovasc Nurs*.16 (2)**:** 68–85

Petrie, A. and Watson, P. (1999)**:** Statistics for Veterinary and Animal Science. 1stEd., *The Blackwell Science Ltd*., U.K., p. 90-99

Phillips C, Mullan K, Owens D, Tomkin GH, (2004)**:** Microsomal triglyceride transfer protein polymorphisms and liporotein levels in type 2 diabetes. *Q.J Med*. 97**:** 211–218

Pitozzi V, Giovannelli L, et al, (2003)**:** Oxidative DNA damage in peripheral blood cells in type 2 diabetes mellitus: higher vulnerability of polymorphonuclear leukocytes Mutation. *Research* 529**:** 129–133

Platel K, Srinivasan K, (1995)**:** Effect of dietary intake of freeze dried bitter gourd (Momordica charantia) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nahrung*; 39**:** 262–268

Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, Zhang R, Deng Y, Sun M, Finton PJ, et al (2002 a)**:** Identification of a novel family of oxidized phospholipids that serve as ligands for the macrophage scavenger receptor CD36. *J. Biol. Chem.* 277**:** 38503–38516

Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, Zhang R, Deng Y, Sun M, Finton PJ, et al (2002 b)**:** A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. *J. Biol. Chem.* 277**:** 38517–38523

Prechl J, Szaleczky E, Pusztai P, Kocsis I, Tulassay Zs, Somogyi A, (1997)**:** Effect of clinical duration of diabetes mellitus on various antioxidants in blood. *Med Sci Monit*; 3**:** 167–170

Preziosi P, Galan P, Herbeth B, Valeix P, Roussel A-M, Malvy D, et al (1998)**:** Effects of Supplementation with a Combination of Antioxidant Vitamins and Trace Elements, at Nutritional Doses, on Biochemical Indicators and Markers of the Antioxidant System in Adult Subjects. *Journal of the American College of Nutrition,* Vol. 17, (3)**:** 244–249

Quilliot D, Walters E, Bonte JP, Fruchart JC, Duriez P, and Ziegler O, (2005)**:** Diabetes mellitus worsens antioxidant status in patients with chronic Pancreatitis. *Am J Clin Nutr* ;81**:** 1117–1125

Quinn L, (2002)**:** Mechanism in the development of type II diabetes mellitus. *J. Cardiovasc. Nurs.* 16 (2)**:** 1–16

Rabinovitch A, Skyler JS, (1998)**:** Prevention of type 1 diabetes. *Med Clin N Am* 82**:** 739–755

Raccah D, Coste T, Gerbi A, Vague P, (1997)**:** Acides gras polyinsature´s et diabète. *Cah Nutr Diét.* 32**:** 349–357

Rao BK, Kesavulu MM, Giri R, Rao CA, (1999)**:** Antidiabetic and hypolipidemic effects of momordica Cymbalaria hook. Fruit powder in alloxan diabetic rats. J *Ethnopharmacol.*67**:** 103–109

Reed DJ, et Fariss MW, (1984)**:** Glutathione depletion and susceptibility. *Pharmacol, Rev.* 36**:** 25–33

Reed DJ, (1990)**:** Glutathione**:** Toxicologic implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30**:** 603–631

Review (1961)**:** In Autoxidation and antioxidants, Lundberg Wo Ed ,NY

Richmond W, (1973)**:** Preparation and properties of cholesterol-oxidase from Nicardia species and its application to the enzymic assay of total cholesterol in serum. *Clin. Chem*. 19 (12)**:** 1350–1356

Ridnour LA, Isenberg JS, Espey MG, Thomas DD, Roberts DD, & Wink DA, (2005)**:** Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, *102*, 13147–13152

Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, and Takahashi H, (2003)**:** Glucose Toxicity in β-Cells**:** Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes* 52**:** 581–587

Robertson RP, (2004)**:** Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes *J. Biol. Chem*. 279 (41)**:** 42351–42354

Robertson RP, (2006)**:** Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes. *Current Opinion in Pharmacology*, 6**:** 615–619

Roger H, Foster UW, Foster DW, (2002)**:** Diabetes mellitus, in: J.D. Wilson, D.W. Foster, H.M. Kronenberg, P.R. Larsen (Eds.), Williams's Textbook of Endocrinology, W.B. Saunders Company, , pp. 1013–1026

Ruhe RC, McDonald RB, (2001)**:** Use of Antioxidant Nutrients in the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*, 20 (5)**:** 363S–369S

Rubin D, Helwig U, Pfeuffer M, Schreiber S, Boeing H, Fisher E, et al, (2006)**:** A common functional exon polymorphism in the microsomal triglyceride transfer protein gene is associated with type 2 diabetes, impaired glucose metabolism and insulin levels *J. Hum. Genet*. 51**:** 567–574

Ruiz-Gutierrez V, Stiefel P, Villar J, Garcia-Donas MA, Acosta D, Carneado J (1993)**:** Cell membrane fatty acid composition in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: relationship with sodium transport abnormalities and metabolic control. *Diabetologia* 36**:** 850–856

Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, Mc Donald JM, Parrott M, (2002)**:** Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus (P Statement). *Diabetes Care*; 25**:** 750–786

Sailaja YR, Baskar R, Saralakumari D, (2003)**:** The antioxidant status during maturation of reticulocytes to erythrocytes in type II diabetes. *Free Radic. Biol. Med.* 35 (2)**:** 133–139

Sakuraba H, Mizukami H, Yagihashi N, Wada R, et al (2002)**:** Reduced beta-cell mass and expression of oxidative stress related DNA damage in the islet of Japanese Type II diabetic patients. *Diabetologia*. 45**:** 85–96

Sakurai T, Tsuchiya S, (1988)**:** Superoxide production from nonenzymatically glycated protein. *FEBS Lett* 236**:** 406–410

Samiec PS, Drews-Botsch C, et al, (1998)**:** Glutathione in Human Plasma: Decline in Association with Aging, Age-Related Macular Degeneration, and Diabetes. *Free Radical Biology and Medicine***.** 24 (5)**:**, 699–704

Santos LFL, Freitas RLM, Xavier SML, Saldanha GB, Freitas RM, (2008)**:** Neuroprotective actions of vitamin C related to decreased lipid peroxidation and increased catalase activity in adult rats after pilocarpine-induced seizures *Pharmacology, Biochemistry and Behavio*r 89**:** 1–5

Sathishsekar D, Subramanian S, (2005)**:** Antioxidant properties of *Momordica charantia* (bitter gourd) seeds on streptozotocin induced diaetic rats *Asia pacJ clin Nutr* 14 (2)**:** 153–158

Sathiyapriya V, Zachariah B, Vinod Kumar, Selvaraj N,. et al (2006) **:** Evidence for the role of lipid peroxides on glycation of hemoglobin and plasma proteins in non-diabetic asthma patients. *Clinica Chimica Acta* 366, (1-2)**:** 299–303

Satoh K, (1978)**:** Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders, determined by a new colorimetric method *Clinica Chimica Acta* 90**:** 37–43

Saudek CD, Brach EL, (1978)**:** Cholesterol metabolism in diabetes**:** I- The effect of diabetic control on sterol balance. *Diabetes* 27 (11)**:** 1058–1064

Save V, Patil N, Moulik N, and Rajadhyaksha G, (2006)**:** Effect of Atorvastatin on Type 2 Diabetic Dyslipidemia. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 11**:** 262–270

Saxena R, Madhu SV, Shukla R, Prabhu KM, Gambhir JK, (2005)**:** Postprandial hypertriglyceridemia and oxidative stress in patients of type 2 diabetes mellitus with macrovascular complications. *Clinica Chimica Acta* 359**:** 101–108

Scanu AM, (1965)**:** Factors affecting lipoprotein metabolism Advance. Lipid Res. 3**:** 63–138

Schonfeld G,Birge C, Miller JP, et al, (1974)**:** Apolipoprotein B levels and altered lipoprotein composition in diabetes. *Diabetes* 23 (10)**:** 827–834

Scott JA, King GL, (2004)**:** Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetes. *Ann. N. Y. Acad. Sci*. 1031**:** 204–213

Seckin D, Ilhan N, Ilhan N, Erdogan S, (2006): Glycaemic control, markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus *Diabetes Research and Clinical Practice;* 73 (2): 191–197

Segal KR, (2004): Type 2 diabetes and disease management: exploring the connections. *Dis. Manage*. 7 (Suppl. 1): S11–S22

Seghrouchni I, Drai J, Bannier E, Rivière J, et al, (2002): Oxidative stress parameters in type I, type II and insuline treatment efficiency, *Clin. Chim. Acta* 321: 89–96

Sekeroglu MR, Sahin H, Dulger H, Algun E, (2000): The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 33 (8): 669–674

Serafini M, Del Rio D, (2004): Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool ? *Redox Report*. 9: 145–152

Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, et al, (1998): Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 394: 284–287

Shimabukuro M, Ohneda M, Lee Y, and Unger RH, (1997): Role of Nitric Oxide in Obesity-induced β Cell Disease *J. Clin. Invest.* 100: 290–295

Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, and Unger RH, (1998): Fatty acid-induced b cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 2498–2502

Shimada S, Tanaka Y, Ohmura C, Tamura Y, Shimizu T, et al, (2005): *N*-(carboxymethyl)valine residues in hemoglobin (CMV-Hb) reflect accumulation of oxidative stress in diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice* 69 (3): 272–278

Siems WG, Grune T, Esterbauer H. (1995): 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small-intestine. *Life Sci*., *57*: 785–789

Sima AAF, Sugimoto K, (1999): Experimental diabetic neuropathy: an update. Diabetologia.; 42: 773–788

Siman CM, and Eriksson UJ, (1997): Vitamin E decreases the occurrence of malformations in the offspring of diabetic rats. *Diabetes* 46: 1054–1061

Simmons RA, (2006): Developmental origins of diabetes: The role of oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine* 40: 917–922

Sindhu, RK. Koo, JR. Roberts, CK. Vaziri, ND, (2004)**:** Dysregulation of hepatic SOD, CAT and GSH-Px in diabetes: response to insulin and antioxidant therapy. *Clin. Exp. Hypertens*. 26 (1)**:** 43–53

Slater TF, (1984)**:** Overview of method used for detecting lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 105**:** 283–293

Snedecor, GW and Cochran, WG. (1982). Statistical Methods. 8[th]ed., Iowa State University Press, U.S.A.

Sniderman AD, Scantlebury T, and Cianflone K, (2001)**:** Hypertriglyceridemic HyperapoB: The Unappreciated Atherogenic Dyslipoproteinemia in Type 2 Diabetes Mellitus *Annals of Internal medecine* 135 (6)**:** 447–459

Sochor M, Gonzales AM, and M clean P, (1984)**:** Regulation of glucose metabolism in rat adrenal gland in alloxan-diabetes**:** The possible role of fructose 2,6 bisphosphate. *Biochemical and biophysical Research communication*. 121 (1)**:** 8–13

Sosenko, JN, (1980)**:** Hyperglycemia and plasma lipid levels**:** a prospective study of young insulin-dependent diabetic patients. *N, Engl. J Med*. 302 (12)**:** 650–654

Stahlberg MR, Hietanen E, (1991)**:** Glutathione and glutathione-metabolizing enzymes in the erythrocytes of healthy children and in children with insulin-dependent diabetes mellitus, juvenile rheumatoid arthritis, celiac disease and acute lymphoblastic leukemia, *Scand. J. Clin. Lab. Invest*. 51**:** 125–130

Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, et al, (1996)**:** A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 276**:** 882–888

Stanely Mainzen Prince P, Menon VP, and Pari L, (1998)**:** Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 61: (1) 1–7

Stefanovic A, Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Bogavac-Stanojevic N, Bujisic N, (2008)**:** The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes research and clinical practice* 79**:** 156–163

Steinberg D, Lewis A, (1997)**:** Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*; 95**:** 1062–1071

Steinberg FM, Chait A: (1998)**:** Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. *Am J Clin Nutr* 68**:** 319–327

Szaleczky E, Prechl J, Fehér J, Somogyi A, (1999)**:** Alterations in enzymatic antioxidant defence in diabetes mellitus - a rational approach. *Postgrad Med J*;75**:** 13–17

Szkuldeshi T, (2001): The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β-cells of the rat pancreas. *Physiol Res*;50: 536-546

Takayama M, Itoh S, Nagasaki T, and Tanimizu I, (1977): A new enzymic method for determination of serum cholin-containing phospholipids. *Clinica Chimica Acta*, *79* (1): 93–98

Tamai M, Furuta H, et al, (2006): Extracellular superoxide dismutase gene polymorphism is associated with insulin resistance and the susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 71 (2): 140–145

Tanaka Y, Tran POT, Harmon J, Robertson RP, (2002): A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic b cells against oxidative stree in a model of glucose toxicity, *PNAS* 99: 12363–12368

Taskinen MR. (1990): Hyperlipidemia in diabetes. Clin Endocrinol *Metab*. 4: 743–775

Taskinen MR, (2003): Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia*. 46: 733–749

Telci A, Çakatay U, Salman S, Satman İ, Sivas A, (2000): Oxidative protein damage in early stage Type 1 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*; 50: 213–223

Terada T, Oshida T, Nishimura M, et al, (1992): Study on human erythrocyte thioltransferase: comparative characterization with bovine enzyme and its physiological role under oxidative stress. *J Biochem*; 111: 688–692

Tesfamariam B, (1994): Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction, Free Radic. Biol. Med. 16 383–391

The DECODE Study Group (1999): Glucose tolerance and mortality comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria *Lancet;* 354: 617–621

Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S, (1997): Relationship between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status of insulin-producing cells. *Diabetes* 46: 1733–1742

Tobia MH, Zdanowicz MM, Wingertzahn MA, McHeffey-Atkinson B, et al (1998): The role of dietary zinc in modifying the onset and severity of spontaneous diabetes in the wistar rat. *Mol. Genet. Metab*. 63: (3) 205–213

Tribe RM, Poston L, (1996): Oxidative stress and lipids in diabetes: a role in endothelium vasodilator dysfunction. *Vasc Med*; 1: 195–206

Trichopoulou A, Lagiou P, Kuper H,Trichopoulos D (2000)**:** Cancer and mediterranean dietary conditions.*Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9**:** 869–873

Trinder P, (1969)**:** Determination of glucose in blood using oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem*. 6**:** 24–27

Turk HM, Sevinc A, Camci C, et al, (2002)**:** Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetesmellitus, *Acta Diabetol*. 39**:** 117–122

Turrens JF, Alexandre A, Lehninger AL, (1985)**:** Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 237**:** 408–414

Tushuizen ME, **Diamant M**, **Heine RJ**, (2005)**:** Postprandial dysmetabolism and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Postgraduate Medical Journal*. 81**:** 1–6

Uchida K, Takase H, Nomura Y, et al, (1984)**:** Changes in biliary and fecal bile acidsin mice after treatments with diosgenin an β sitosterol. *J Lipid Res*. 25**:** (3) 236–245

UK Prospective Diabetes Study Group. **(UKPDS) 16**. (1995)**:** Overview of6 years therapy of type 2 diabetes: a progressive disease. *Diabetes*; 44**:** 1249–1258

UK Prospective Diabetes Study Group. **(UKPDS)** (1998a)**:** Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*;352**:** 837–853

UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group (1998b)**:** Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 352**:** 854–865

Valdivielso P, Hidalgo A, Rioja J, Aguilar I, et al, (2007)**:** Smoking and postprandial triglycerides are associated with vascular disease in patients with type 2 diabetes *Atherosclerosis* 194 (2)**:** 391–396

Valonzuela A, (1991)**:** The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci* 48**:** 301–309

Valko M, Morris H, Mazur M, Rapta P, & Bilton RF, (2001)**:** Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: Do semiquinones of Vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer? *Biochim. Biophys. Acta*, *1527*, 161–166

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M, (2006)**:** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.*, 160 (1)**:** 1–40

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al, (2007)**:** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39**:** 44–84

VanderJagt DJ, Harrison JM, Ratliff, DM, Hunsaker LA, Vander Jagt DL. (2001)**:** Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long-term diabetic complications. *Clin. Biochem.*, 34**:** 265–270

Van Wijk Jeroen PH, DE Koning EJP, Cabezas MC, Rabelink TJ, (2005)**:** Rosiglitazone Improves Postprandial Triglyceride and Free Fatty Acid Metabolism in Type 2 Diabetes *Diabetes Care* 28**:** 844–849

Varvarovska J, Racek J, Stozicky F, Soucek J, Trefil L, Pomahacova R, (2003)**:** Parameters of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus and their relatives, *J. Diab. Complications* 17**:** 7–10

Vincent AM, Russell JW, Low P, and Feldman EL, (2004)**:** Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews* 25 (4)**:** 612–628

Wahlefeld AW, (1974)**:** Triglycerides, determination after enzymatic hydrolysis. In: Bergmeyer HU, editor. Methods of enzymatic analysis, second edition, volume 4. *New York: Academic Press*; 1974. 1831–1835

Wall J, (2000)**:** Antioxidants in Prevention of Reperfusion Damage of Vascular Endotelium. *J: Pharmacology. Review.* 1**:** 66–71

Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL, et al, (1991)**:** Copper, zinc, manganese and magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 14**:** 1050–1056

Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Fault KF, et al, (1995)**:** Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidised low-density lipoprotein. *J Clin Invest* 96:2882–2891

Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Barkley LRC, Locke SJ. (1987)**:** The relative contribution of vitamin E, urate, ascorbic acid and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant in human plasma. *Biochim Biophys Acta*; 924**:** 408–419

Wefers H, Sies H, (1989)**:** Antioxidant effects of ascorbate and glutathione in microsomal lipid peroxidation are dependent on vitamin E. In: Poli, G;

Cheeseman, Dianzani KH, Slater MU TF, eds. *Advances in biosciences,* vol. 76**:** *Free radicals in the pathogenesis of liver injury.* New York: Pergamon Press; 309–316

West IC, (2000)**:** Radicals and oxidative stress in diabetes, *Diab. Med.* 17**:** 171–180

WHO World Health Organization: ―The World Health Report (1998)**:** Life in the 21st Century. A Vision for All." *Geneva: World Health Organization.*

Wierusz-Wysocka B, Wysocki H, Byks H, Zozulinska D, et al. (1995)**:** Metabolic control quality and free radical activity in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 27**:** 193–197

Wilcox HG, Dishmon G, and Heimberg M, (1968)**:** Hepatic Lipid Metabolism in Experimental Diabetes. *The Journal of Biological Chemistry*. 243, (3)**:** 665–675

Wild, S, Roglic, G, Green, A, Sicree, R, King, H, (2004)**:** Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27, 1047–1053

Wing DR, Robinson DS, (1968)**:** Cleaning-factor lipase in adipose tissue. A possible effect of adénosine 3'-5' cyclic monophosphate in the regulation of its activity. *Biochem. J.* 109 (5)**:** 841–849

Winkler BS, Orselli SM, and Rex TS, (1994)**:** The redox couple between glutathione and ascorbic acid: A chemical and physiological perspective. *Free Radic. Biol. Med.* 17**:** 333–349

Wirta OR, Pasternack AI, Mustonen JT, Koivula TA, (1996)**:** Harmoinen A: Urinary albumin excretion rate and its determinants after 6 years in non-insulin-dependent diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 11**:** 449–456

Wolf R, Grundy SM. (1983)**:** Influence of weight reduction on plasma lipoproteins in obese patients. Arteriosclerosis.3**:** 160-169

Wolff SP, Dean RT, (1987)**:** Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of autoxidative glycosylation in diabetes. *Biochemical Journal* 245**:** 243–250

Wolff SP, (1993)**:** Diabetes mellitus and free radicals**.** Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *British Medical Bulletin* 49**:** 642–652

Xu B, Moritz JT, Epstein PN, (1999)**:** Overexpression of catalase provides partial protection to transgenic mouse beta cells. *Free Radic Biol Med*. 27**:** 830–837

Yadav P, Sarkar S, Bhatnagar D, (1997)**:** Action of *Capparis decidua* against alloxan-induced oxidative stress and diabetes in rat tissues. *Pharmacological Research* 36 (3)**:** 221–228

Yan H. Harding JJ. (1997)**:** Glycation-induced inactivation and loss ofantigenicity of catalase and superoxide dismutase. Biochem J; 328: 599-605

Yasushi Tanaka, et al, (2005)**:** *N*-(carboxymethyl) valine residues in hemoglobin (CMV-Hb) reflect accumulation of oxidative stress in diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 69 (3) **:** 272–278

Young NL, Lopez DR, McNamara DJ, Benavides G. (1985)**:** Evaluation of the contribution of dietary cholesterol to hypercholesterolemia in diabetic rats and of sitosterol as a recovery standard for cholesterol absorption. *J. Lipid Res*. 26 (1)**:** 62–69

Yue DK, McLennan S, Fisher E, et al, (1989)**:** Ascorbic acid metabolism and polyol pathway in diabetes, *Diabetes* 38**:** 257–261

Yun-Zhong Fang, Sheng Yang, Guoyao Wu, (2002)**:** Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*; 18**:** 872–879

Zago MP, Oteiza PJ, (2001)**:** The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radic. Biol. Med*. 31**:** 266–274

Zargar AH, Wani AI, Masoodi SR, Laway BA, Bashir MI. (1999)**:** Mortality in diabetes mellitus-data from a developing region of the world. *Diabetes Res Clin Pract*; 43**:** 67–74

Zöellner N, Kirsch K, (1962)**:** Microdetermination of lipids by the sulphophosphovanillin reaction. *Z Ges. Exp. Med*. 135 (6)**:** 545–561

قائـــمة الجـــداول

الصفحة	العنـــــــوان	الـــجدول
15	محتوى بعض الأطعمة من الزنك	1
16	تركيز الزنك داخل مختلف الأنسجة و الأعضاء عند فرد بالغ سليم يزن 70 كغ	2
31	يبين مختلف الأنواع الأكسيجينية النشطة	3
67	المتوسط ± الإنحراف المعياري لل عمرومؤشر الكتلة الجسمية في المجموعة الضابطة (عدد = 11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29)	4
71	المتوسط ± الإنحراف المعياري لبعض المؤشرات الك يميائية الحيوية في بلازما المجموعة الضابطة (عدد =11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29)	5
74	المتوسط ± الإنحراف المعياري لبعض مؤشرات الدهون في مصل المجموعة الضابطة (عدد = 11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29)	6
78	المتوسط ± الإنحراف المعياري لبعض مؤشرات الإجهاد التأكسدي في بلازما المجموعة الضابطة (عدد = 11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29)	7
80	المتوسط ± الإنحراف المعياري SD لكل من الجلوكوز، الهيموجلوبين السكري، الجلوتاثيون المختزل، والمالونديالدهيد في دم وبلازما المجموعة الضابطة (عدد =11) والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني (عدد = 29)	8

قـــــائمة الأشكـــــال

الـــشكل	العنـــــــوان	الصفحة
1	مخطط يوضح فرضية حدوث داء السكري النوع الثاني	6
2	توضيح لترجيح زيادة الجذور الحرة، و هبوط مضادات الأكسدة بنوعيها	18
3	التداخل المفترض بين داء السكري و الإتزان المضاد للأكسدة	22
4	مختلف مســـارات إنتاج و ترويق ROS	27
5	تشكيل $O_2^{\cdot -}$ على مستوى مرافق الأنزيم Semiubiquinone في المتكندري	27
6	الإنتاج المستمر لـــ ROS و الإضطراب في مساراي الأكسدة و الإرجاع هو سبب التدمير التأكسدي	28
7	دور ROS في تنشيط أنزيم Kinase المستقبل للأنسولين	28
8	متوسط العمر (عام) و مؤشر الكتلة الجسمية (كجم/م^2) في المجموعة الضابطة)عدد = 11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(	68
9	(: توضح متوسطات كل من الجلوكوز)مجم/ديسيلتر(، والهيموجلوبين السكري)HbA1c( )%(، اليوريا)مجم/ديسيلتر(، الكريات نين)مجم/ديسيلتر(في بلازما المجموعة الضابطة)عدد = 11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(	72
10	توضح متوسطات كل من الكوليستيرول الكلي)mg/dl(، الجليسريدات الثلاثية)mg/dl(، البروتينات الليبيدية عالية الكثافة (HDL-c) والبروتينات الليبيدية منخفضة الكثافة (LDL-c))mg/dl(في بلازما المجموعة الضابطة)عدد =11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(	75
11	توضح متوسطات كل من الجلوتاثيون المختزل)GSH(مللي مول/لتر، الكفاءة الكلية لمضادات التأكسد)TAC(مللي مول/لتر في بلازما المجموعة الضابطة)عدد =11(والمجموعة المصابة بداء السكري النوع الثاني)عدد = 29(.	79

12	تغيرات الوزن بالجرامات عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضوابط السليمة و الضروابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض	84
13	تغيرات جلوكوز الدم ملج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضوابط السليمة و الضروابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض	85
14	تغيرات جليسريدات الدم الثلاثية ملج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضروابط السليمة و الضروابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض.	86
15	تغيرات كولسترول الدم م لج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضروابط السليمة و الضروابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض.	87
16	تغيرات فوسفولبيدات الدم م لج/دل عند الأربعة مجاميع من الجرذان الضروابط السليمة و الضروابط المريضة غير المعالجة و المريضة المعالجة فور و بعد أربعة أسابيع من حدوث المرض.	88
17	التغير في مستوى دهون الدم الكلية م لج/دل، مع ارتفاع عال لدى مجموعة الضروابط المريضة، و كان منخفضا بشكل معنوي لدى فئة الضروابط السليمة.أما المجموعتين المعالجتين بالأنسولين فكان معتدلا.	89
18	توضح التغيرات لبعض المؤشرات المضادة للأكسدة إنزيم (GPx؛ إنزيم GR؛ إنزيم SOD؛ إنزيم CAT؛ GSH) في مصل مجموعة الشواهد السليمة، الشواهد المريضة غير المعالجة بالأنسولين والمصابة والمعالجة بالأنسولين فور بداية الإصابة و بعد 4 أسابيع من حدوث المرض	90

Oxidative Stress Status in Type 2 Diabetic Patients in Eastern Algeria

[1*] **Moaz Benrebai** , [1] **Nacera Abidli** , [2]**Soad M. Nasr and** [3] **Cherefa Benlatreche**

1- Département des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Mentouri, Constantine 25000, Algeria.
2- Department of Parasitology and Animal Diseases, Veterinary Division, National Research Center, Dokki, Cairo, Egypt.
3- Laboratoire de biochimie, CHU Ibn Badis, Constantine 25000, Algeria.

Abstract: The present study was carried out to evaluate the oxidative status in Urban Algerian patients suffering from type 2 diabetes mellitus (T2DM) and treated with hypoglycaemic agents. Investigations had been conducted on 29 adult T2DM patients as compared with 11 healthy adult subjects (as control). Plasma glucose level and haemoglobin A1C (HbA1C) were determined, as well as total antioxidant capacity (TAC), catalase (CAT), glutathione reduced (GSH) and lipid peroxides (MDA). Kidney function tests were also assessed depending upon blood urea and creatinine values. The result revealed that fasting plasma glucose level was higher (*P<0.01*) and HbA_1C was markedly increased (*P<0.05*) in T2DM group as compared to healthy subjects.. Patients revealed higher concentration of MDA (*P<0.01*) and low activity of CAT (*P<0.05*) as compared to the control group. GSH and TAC concentrations decreased (*P<0.001*) in the tested group than the healthy control group. A negative correlation was found between fasting plasma glucose levels, HbA_1C on one hand and TAC, CAT, GSH, MDA values in T2DM patients on the other hand. no alteration in kidney functions was found as indicated by urea and creatinine values. It was concluded that T2DM patients are undergo an important oxidative stress, even under hypoglycæmic control, they were considered to be poorly controlled.

Key words: Type 2 diabetes mellitus, Oxidative stress, total antioxidant capacity, Catalase, GSH, MDA, Algeria.

INTRODUCTION

Investigations on diabetes mellitus had showed the involvement of reactive oxygen species (ROS) including free radicals in the genesis of chronic complications related to the disease, as cardiovascular affections, renal failure and neurodegenerative changes [1-3]. Oxidative stress is more obvious in type 2 diabetes and this appears to underlie the development of diabetic complications

[4]. Hyperglycemia leads to metabolic disorders, characterized by alterations in the metabolism of carbohydrate, protein and lipid. Diabetes induced disturbance in lipid profiles, especially an increased susceptibility to lipid peroxidation [5], which is responsible for increased incidence of atherosclerosis [6]; a major complication of diabetes mellitus. Macrovascular complications, which manifest in about 80 percent of patients with type 2 diabetes, are a leading cause of morbidity and mortality worldwide [7].

In non-insulin-dependent (type 2 diabetes mellitus), oral hypoglycaemic agents are used to stimulate the pancreatic beta cells to secrete insulin and/or increase the sensitivity of peripheral insulin receptors to the action of endogenous insulin [8] with the hope of achieving better glycaemic control and attenuating related complications.

Among hypoglycemic agents; Rosiglitazone used currently by type 2 diabetic patients due to its efficacy for improving the sensitivity of tissues to insulin and reduces insulin resistance [9,10], which in turn improves markers; HbA1c is the most representative marker of hyperglycemia for assessing glycemic control and glycated albumin) of cardiovascular complication [11,12,13]. Metformin, is another hypoglycemic drug used in clinical treatment of type-2 diabetes for over 35 to 40 years, it enhances the sensitivity of both hepatic and peripheral tissues to insulin, it inhibits gluconeogensis in the liver and lowering plasma triglyceride and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and total lipid levels. This drug is most often associated with sulphonylurea to exert an evident lowering effect, on blood glucose level [14,15].

Previous studies have shown that diabetes mellitus can worsen antioxidant status, hense deficiencies in some vitamins and trace elements related to the extrinsic antioxidants, such as vitamin C [16, 17] vitamin E [18] and zinc [19] can aggravate the several complications of diabetes.

This work was conducted to evaluate the oxidative status in a group of urban Algerian with type 2 diabetes mellitus (T2DM) treated with hypoglycaemic agents (non-insulin-dependent diabetes mellitus) compared to a normoglycemic group.

MATERIALS AND METHODS

Subjects:

Twenty-nine patients suffering from T2DM including 20 males and 9 females with a mean age of 57.57±2.39 (range; 35-82) years were randomly selected from the Center of Diabetology Al-Kantara, Constantine, Algeria. Patients were informed of the purposes of the study. Eleven age and gender-matched healthy subjects including 5 males and 6 females with a mean age of 49.80±4.49 (range; 27-73) years, who came to the center for check up, with no known family history of T2DM, were also enrolled to the study as the control group.

Key exclusion criteria included smokers, pregnant women, persons receiving trace element or antioxidants supplements in the previous three months, persons with gastric or diuretic treatment, patients with acute renal failure (creatinine >1.20 mg/dL) and patients with a recent surgery or acute infection. Only patients with fasting blood glucose ≥150 mg/dl and HbA1c ≥ 7.5% were included.

Blood Samples and Biochemical assays:

Blood samples were drawn from each T2DM patient and control healthy subject after an overnight fast at the Center of Diabetology Al-Kantara, Constantine. Three blood samples were collected from each subject. The first sample was collected in a tube containing sodium fluoride for plasma glucose determination. The second sample was collected in a tube containing heparin for estimation of plasma antioxidants, creatinine and urea. The third sample was anticoagulated by ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) and was used for determination of HbA1c. Fasting plasma glucose was estimated enzymatically using glucose oxidase [20], creatinine value using Semi-micromethod [21] and urea using urease enzyme [22] were determined using an Auto-analyser ; ADVIA 1650

Chemistry System Bayer-Diagnostic Laboratory of biochemistry CHU IBN BADIS Constantine. Glycated haemoglobin (HbA1c) was measured using *BIO-RAD* D-10™ *UNITED STATES, Bio-Rad* Laboratories, Inc Hercules CA 94547. The D-10 Hemoglobine A_1C program utilises principles of ion-exchange high performence liquid chromatography (HPLC).

Antioxidant markers assessment:

Plasma lipid peroxidation product (MDA) and antioxidants status were measured using specific kits purchased from *Bio-diagnostic*, Dokki, Egypt.

Plasma MDA was determined according to the method of [23]. This technique is based on thiobarbituric acid reacts with MDA in acidic media at temperature of 95°C for 30min. to form thiobarbituric reactive product the absorbance of the resultant pink product can be measured at 534nm.

Plasma glutathione reduced (GSH) was estimated according to the method of [24]. The method depends on the reduction of 5,5′dithiobis (2-nitrobenzoïc acid) (DTNB) with glutathione to produce a yellow compound. The reduced chromogen directly proportional to (GSH) concentration and its absorbance can be measured at 405nm.

Plasma total antioxidant capacity (TAC) was determined according to the method of [25]. This determination is performed by the reaction of antioxidants in the plasma with a defined amount of exogenously provide hydrogen peroxide (H_2O_2). The antioxidants in the sample eliminate a certain amount of the provided H_2O_2. The residual H_2O_2 is determined by an enzymatic reaction which involves the conversion of 3,5, dichloro-2-hydroxybenzensulphonate to a coloured product and read at 505nm.

Plasma catalase (CAT) was estimated by the method of [26]. The method depends on catalase reacts with a known quantity of H_2O_2. The reaction is stopped after exactly one minute with catalase inhibitor. The presence of peroxidase, remaining H_2O_2 reacts with 3,5 Dichloro-2 hydroxybenzene sulfonic

acid and 4-Aminophenazone to form a chromophore with a colour intensity inversely proportional to the amount of CAT in the sample and read at 510nm.

Statistical analysis:

All data were subjected to statistical analysis including the calculation of the mean and standard error (mean ± SE). Student *t*-test was used for the evaluation of data. Differences were considered significant at $P<0.05$ level [27], using SPSS version 10 computer programme.

RESULTS

The individual characteristics; age, gender and duration of the disease (in diabetic patients) and healthy subjects are shown in Table 1.

Table 1: Age, gender and duration of diabetes in healthy subjects and type 2 diabetes mellitus patients. (Mean ± SE).

Groups / Parameters	Healthy subjects (Control, n=11)	Type 2 Diabetes (n=29)
Age (years)	49.80 ± 4.49 (27.00 – 73.00)	57.57 ± 2.30 (35.00 – 82.00)
Gender (Male/Female)	6 / 5	9 / 20
Duration of diabetes (years)	Non	1 – 20

SE = Standard error.

Fasting blood glucose level of T2DM patients was a higher *($P<0.01$)* than that in healthy adult subjects. Also, the HbA1c exhibited clear increase *($P<0.05$)*. There was no significant difference in the level of plasma creatinine and urea in T2DM patients and healthy adult subjects during the period study (Table 2, Figure 1).

The plasma lipid peroxidation end product, malondialdehyde (MDA) increased in T2DM patients ($P<0.01$) as compared with the control group, while, the activity of plasma CAT was decreased in T2DM patients ($P<0.05$). GSH *($P<0.001$)* and the *total antioxidant capacity (TAC)* ($P<0.05$) decreased in T2DM group as compared to the control group (Table 3, Figure 2).

Table 2 Values of some plasma biochemical parameters in healthy subjects and type 2 diabetes mellitus patients (Mean ± SE).

Groups / Parameters	Healthy subjects (Control, n=11)	Type 2 Diabetes mellitus (n=29)
Glucose (mg/dl)	95.27 ± 7.18 (73.00 – 151.00)	154.52 ± 11.13 ** (76.00 – 277.00)
HbA$_1$c (g %)	6.27 ± 0.23 (4.92 – 7.60)	7.96 ± 0.39* (5.00 – 12.60)
Urea (mg/dl)	36.70 ± 2.54 (26.00 – 54.00)	39.79 ± 2.19 (21.00 – 71.00)
Creatinine (mg/dl)	1.14 ± 0.06 (0.92 – 1.48)	1.12 ± 0.03 (0.90 – 1.61)

SE = Standard error. HbA1c = glycated hemoglobin. * = $P < 0.05$. ** = $P < 0.01$.

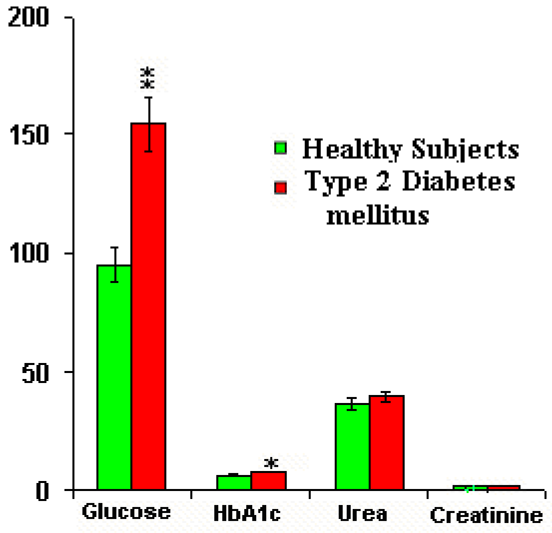


Figure 1: Plasma glucose (mg/dl), glycated haemoglobin (HbA1c**),** plasma urea (mg/dl) and creatinine (mg/dl) in healthy subjects (control) (N=11) and type 2 Diabetes mellitus patients (* = *P<0.05*. ** = *P < 0.01*).

Table 3: Values of some serum oxidative stress markers in healthy subjects and type 2 Diabetes mellitus patients (Mean ± SE).

Groups / Parameters	Healthy subjects (Control, n=11)	Type 2 Diabetes mellitus (n=29)
Lipid peroxides (nMol/ml)	42.87 ± 1.37 (29.47 – 45.26)	51.21 ± 1.61 ** (34.74 – 71.58)
Glutathione reduced (mMol/l)	7.99 ± 0.93 (4.44 – 11.10)	4.45 ± 0.25*** (2.22 – 6.66)
Total antioxidant capacity (mMol/l)	3.81 ± 0.15 (2.71 – 4.59)	2.91 ± 0.09*** (1.95 – 3.95)
Catalase activity(Unit/l)	317.81 ± 18.34 (262.73 – 490.62)	283.80 ± 5.78* (231.90 – 356.56)

SE = Standard error. * = $P < 0.05$. ** = $P < 0.01$. *** = $P < 0.001$.

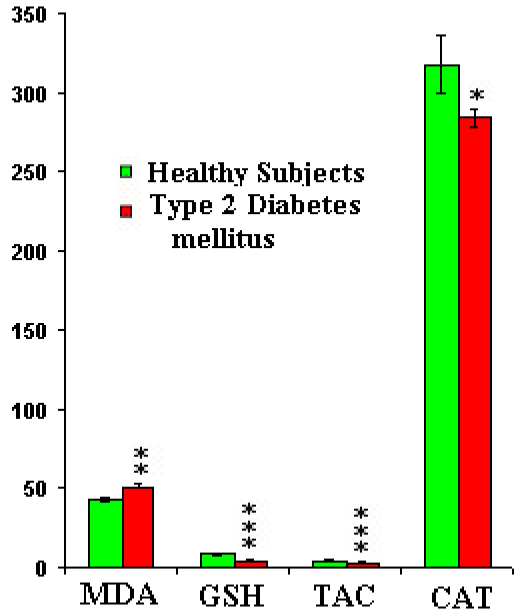


Figure 2: Plasma lipid peroxides; MDA (nM/ml), glutathione reduced; GSH (mM/l), catalase activity; CAT (U/l) and total antioxidant capacity; TAC (mM/l) in healthy subjects (control) (N=11) and type 2 Diabetes mellitus patients (* = *P<0.05*. ** = *P < 0.01*. *** = *P < 0.001*).

DISCUSSION

Fasting plasma glucose level was a high (*P<0.01*) in T2DM group, even they took hypoglycaemic agents as compared with healthy subjects. Although this condition is consequently accompanied with a marked elevation of HbA_1C (at *P<0.05*), indicating that glycaemic in our diabetic population was moderately well-balanced, which explains the low rate of non-enzymatic glycation of haemoglobin A_1C observed essentially in diabetes.

Oxidative stress status of patients with T2DM was evaluated by measuring plasma lipid peroxidation end product MDA, an impotant index marker of the extend lipid peroxidation and evaluation of oxidative stress, as well as glutathione reduced (GSH) concentration, total anti-oxidant capacity (TAC), and the catalse enzyme activity. In this study, oxidative stress status was disturbed in diabetic patients with T2DM as compared to healthy subjects.

Plasma MDA concentration was higher in T2D patients as compared with healthy control subjects, indicating higher lipid peroxidation [28]. The elevation

of lipid peroxidation is related to the duration of diabetes [29,30]. This was consistent with the previous studies [31,32] especially in patients with vascular complications [33,34]. Thus, moderate, as in the current case, or poor diabetes control may enhance lipid peroxidation, and diminishes the body's anti-oxidant capacity, hence a negative correlation between hyperglycaemic and oxidative stress was observed and agree with [35]. This increase of lipid peroxidation is frequently observed in diabetes due to mobilization of lipids for a further use as an energy source rather than glucose.

Plasma GSH, decreased in T2DM patients as compared to healthy control subjects which indicates the extend degree of oxidative stress in diabetes [36,37], it accompanies the decrease in the activity of catalase, which plays a co-enzyme role for scavening H_2O_2. On the other hand, the decrease of plasma glutathione reduce may be due also, to a decrease in ascorbic acid concentration which plays a synergic role with GSH in the regeneration of vitamin E, during the elimination of free radicals [38]. The depletion of GSH is due in great part to a deficiency of $NADPH_2$ used in some oxido-reduction reactions like polyol pathway over and above its reduction formation through pentose phosphate and malic acid pathways owing to chronic hyperglycaemic as showed by [39] and [40], leading to impairement of GSH regeneration and depletion of an important free radical scavenger [41], this condition disturbs the antioxidant defenses and accelerate the oxidative damage [42] and hence reconfirming the negative effect of hyperglycaemic on GSH levels.

The TAC, represents the extrinsic (micronutriments) trace elements, vitamins (A, E, β-caroten and ascorbic acid) and intrinsic factors including group of organic anti-oxidants such as enzyme catalase glutathion peroxidase, superoxide dismutase and non-enzymatic anti-oxidants (GSH) and others like flavonoids, bilirubin and uric acid [43]. In this study, a very drastic decrease in plasma TAC in T2DM patients vs the control group was observed and agree with [37, 44], but less than that reported by [32]. In this respect, [45] reported

that this diminution is due to poor control diabetes, which concords trully with the disturbance in HbA_1C [46].

Treatment of T2DM patients with hypoglycaemic agents is often followed by a strict regimen, which in turn must be well adapted to each diabetic patient, to avoid depletion in extrinsic antioxidants, that were not be influenced by auto-glycation as it‘s the case with antioxidant proteins .

Catalase (CAT) is a hemeprotein catalysing the reduction of hydrogen peroxides and protects against highly reactive hydroxyl radicals; decreased CAT activity during diabetes disease could result from inactivation by glycation of enzyme [47]. The present decrease in CAT activity in T2DM group was 10% (*P<0.05)*, however, [46] observed a diminution by 30 % in type 2 diabetics. Negative correlations between serum glucose level and HbA_1C and CAT were noticed in this study. The diminution in the catalase activity is also observed in diabetics with poor glucose control and vascular complications. Previous studies have shown that plant hypoglycaemic extracts like *Syzigium cumini* seeds increases catalase activity by diminishing blood glucose level [48], and vitamine C, as a potential antioxidant, also increases catalase activity [49], this may be due to the alleviate action of hypoglycaemic agents on enzyme glycation.

In conclusion, results from this study suggest that hypoglycaemic treatment has no favorable effect on antioxidant system in T2DM patients compared with healthy subjects. This condition suggests that under hypoglycaemic treatment a supplementation with micronutriments is necessary to improve the intrinsic antioxidant system.

ACKNOWLEDGEMENT

We are grateful to Biochemistry Laboratory team of CHU Ibn Badis Constantine Algeria and Researchers of Veterinary Division of NRC, Dokki, Cairo, Egypt for their helpful works.

REFERENCES

1. Song, S.H. and C.A. Hardisty, 2008. Early-onset type 2 diabetes mellitus: an increasing phenomenon of elevated Cardiovascular Risk. Expert Review of Cardiovascular Therapy, 6(3):315-322.

2. Yokoyama H, M. Okudaira, T. Otani, H. Takaike, J. Miura, A. Saeki, Y. Uchigata and Y. Omori, 1997. Existence of early onset NIDDM Japanese demonstrating severe diabetic complications. Diabetes Care, 20: 844-847.

3. Halliwell B., 2001. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. [Review]. Drugs Aging,18:685-71

4. Choi, S., I.F.F. Benzie, S. Ma, J.J. Strain and B.M. Hannigan, 2008. Acute hyperglycemia and oxidative stress: Direct cause and effect? Free Radical Biology and Medicine, 44: 1217-1231.

5. Lyons, T.J., 1991. Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? Diabetic Medicine, 8: 411-419.

6.Giugliano, D., A. Ceriello and G. Paolisso, 1995. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular diseases: which role for oxidative stress? Metabolism, 44: 363–368.

7. Quilliot, D., B. Dousset, B. Guerci, F. Dubois, P. Drouin and O. Ziegler, 2001. Evidence that diabetes mellitus favors impaired metabolism of zinc, copper, and selenium in chronic pancreatitis. Pancreas, 22: 299-306.

8. Lebovitz, H.E., 2001, Oral therapies for diabetic hyperglycemia. Endocrinology Metabolism Clinics of North America, 30: 909-933.

9. Scheen J., 2001. Pharm-clinics medication of the month, Repaglinide (NovoNorm). Revue Médicale de Liège, 65: 456-459.

10. Pospisilova, Y., 2001. New in oral antidiabetic therapy. Drugs, 61: 1625-1560.

11. Phillips, L.S., G. Grunberger, E. Miller, R. Patwardhan, E.B. Rappaport and A. Salzman, 2001. Once- and twice-daily dosing with rosiglitazone improves glycemic control in patients with type-2 diabetes. Diabetes Care, 24: 308-315.

12. Wagstaff, A.J. and K.L. Goa, 2002. Rosiglitazone: a review of its use in the management of type-2 diabetes mellitus. Drugs, 62: 1805-1837.

13. Okada T., T. Nakao, H. Matsumoto, T. Shino, Y. Nagaoka, R. Tomaru amd T. Wada, 2007. Association between markers of glycemic control, cardiovascular complications and survival in type 2 diabetic patients with end-stage renal disease. Internal Medicine. 46(12): 807-814.

14. Defronzo, R.A., 1999. Pharmacologic therapy for type-2 diabetes mellitus. Annals of Internal Medicine, 131(4): 281–303.

15. Setter, S.M., J.L. Iltz, J. Thams and R.K. Campbell, 2003. Metformin hydrochloride in the treatment of type-2 diabetes mellitus: a clinical review with a focus on dual therapy. Clinical Therapeutics, 25: 2991-3026.

16. Jennings, P.E., S. Chirico, A.F. Jones, J. Lunec and AH. Barnett, 1987. Vitamin C metabolites and microangiopathy in diabetes mellitus. Diabetes Research, 6: 151-154.

17. Cunningham, J.J., S.L. Ellis, K.L. McVeigh, R.E. Levine and J. Calles-Escandon, 1991. Reduced mononuclear leucocyte ascorbic acid content in adults with insulin-dependent diabetes mellitus consuming adequate dietary vitamin C. Metabolism, 40: 146-9.

18. Karpen, C.W., S. Cataland, T.M. O‘Dorisio and R.V. Panganamala, 1985. Production of 12-hydroxyeicosatetranoic acid and vitamin E status in platelets from type 1 human diabetic subjects. Diabetes, 34: 526-531.

19. Saxena, R., S.V. Madhu, R. Shukla, K.M. Prabhu and J.K. Gambhir, 2005. Postprandial hypertriglyceridemia and oxidative stress in patients of type 2 diabetes mellitus with macrovascular complications. Clinica Chimica Acta, 359: 101-108.

20. Trinder, P., 1969. Determination of glucose in blood using oxidase with an alternative oxygen acceptor. Annals of Clinical Biochemistry, 6: 24–27.

21. Wahlefeld, A.W., G. Holz, Dans H.U. Bergmeyer and H.U. Bergmeyer, 1974. Methoden der enzymatischen Analyse. 3rd edition tome II, Verlag chemie, Wheinheim 1974; 1834-1838.

22. Gutmann, I., H.U. Bergmeyer and Dans H.U. Bergmeyer, 1974. Methoden der enzymatischen Analyse. 3rd edition tome II, Verlag chemie, Wheinheim, 1842.

23. Satoh, K., 1978. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders, determined by a new colorimetric method. Clinica Chimica Acta, 90: 37-43.

24. Beutler, E., O. Duron, and BM. Kelly, 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 61: 882-888.

25. Koracevic, D., G. Koracevic, V. Djordjevic, S. Andrejevic and V. Cosic, 2001. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. Journal of Clinical Pathology, 54: 356-361.

26. Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.

27. Snedecor, GW and W.G. Cochran, 1982. Statistical Methods. 8thed., Iowa State University Press, U.S.A.

28. Esterbauer, H., R.J. Schaur and H. Zollner, 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free Radical Biology and Medicine, 11: 81-128.

29. Hsu, W.T., L.Y. Tsai, S.K. Lin, J.K. Hsiao and B.H.C. Hen, 2006. Effects of diabetes duration and glycemic control on free radicals in children with type 1 diabetes mellitus. Annals of Clinical & Laboratory Science, 36: 174-178.

30. Firoozrai, M., M. Nourbakhsh and M. Razzaghy-Azar, 2007. Erythrocyte susceptibility to oxidative stress and antioxidant status in patients with type 1 diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice, 77: 427-432.

31. Gallou, G., A. Ruelland, B. Legras, D. Maugendere, H. Allanic and L. Cloarec, 1993. Plasma malondialdehyde in type I and type II diabetic patients. Clinical Chimica Acta, 214: 227-234.

32. Thompson, K.H. and D.V. Godin, 1995. Micronutrients and antioxidants in progressin in diabetes. Nutrition Research, 15: 1377-1410.

33. Turk, H.M., A. Sevinc, C. Camci, et al. 2002, Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. Acta Diabetology, 39: 117-22.

34. Kesavulu, M.M., B.K. Rao, R. Giri, J. Vijaya, G. Subramanyam and C. Apparao, 2001. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetics with coronary heart disease. Diabetes Research and Clinical Practice, 53: 33-39.

35. Ceriello, A. 2005. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? Diabetes, 54: 1-7.

36. Kassab, A., S. Laradi, S. Ferchichi, A. Omezzine, B. Charfeddine, H. Ammar, L. Chaieb and A. Miled, 2003. Oxidative stress parameters in type 2 diabetes mellitus. Immuno-analyse & Biologie spécialisée, 2003; 18: 79-85.

37. Feillet-Coudray, C., E. Rock, , C. Coudray, K. Grzelkowska, V. Azaïs-Braesco, D. Dardevet, A. Mazur, 1999. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. Clinica Chimica Acta, 284: 31-43.

38. Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes and V.W. Rodwell, 1993. Harper‘s Biochemistry. 23rd ed a LANGE Medical Book.

39. Varvarovska, J., J. Racek, R. Stetina, J. Sykora, R. Pomahacova, Z. Rusavy, et al., 2004. Aspects of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. Biomedicine & Pharmacotherapy, 58: 539-545.

40. Bonnefont-Rousselot, D., J.P. Bastard, M.C. Jaudon and J. Delattre, 2000 Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. Diabetes and Metabolism, 26: 163-176.

41. Travis, S.F., A.D. Morrison, R.S. Jr. Clements, A.I. Winegrad and F.A. Oski, 1971. Metabolic alterations in the human erythrocyte produced by increases in glucose concentration: the role of the polyol pathway. Journal of Clinical Investigation, 50: 2104-2112.

42. Dominguez, C, E. Ruiz, M. Gussinye and A. Carrascosa, 1998. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. Diabetes Care, 21: 1736-1742.

43. Irshad, M. and P.S. Chaudhuri, 2002. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. Indian Journal of Experimental Biology, 40 : 1233-1239.

44. Tanaka; Y, P.O.T. Tran, J. Harmon and R.P. Robertson, 2002. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic b cells against oxidative stree in a model of glucose toxicity. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99: 12363-12368.

45. Firoozrai, M., M. Nourbakhsh and M. Razzaghy-Azar, 2007. Erythrocyte susceptibility to oxidative stress and antioxidant status in patients with type 1 diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice, 77: 427-432.

46. Komosińska-Vassev, K, K. Olczyk, P. Olczyk and K. Winsz-Szczotka, 2005. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. Diabetes Research and Clinical Practice, 68: 207-216.

47. Yan, H. and J.J. Harding, 1997. Glycation-induced inactivation and loss ofantigenicity of catalase and superoxide dismutase. Biochemical Journal, 328: 599-605.

48. Prince, P.S.M., V.P. Menon, and L. Pari, 1998. Hypoglycaemic activity of Syzigium cumini seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 61: 1-7.

49. Santos, L.F.L., R.L.M. Freitas, S.M.L. Xavier, G.B. Saldanha and R.M. Freitas 2008. Neuroprotective actions of vitamin C related to decreased lipid peroxidation and

increased catalase activity in adult rats after pilocarpine-induced seizures. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 89: 1-5.

Résumé

Malgré l'existence d'un état de stress oxydatif dans l'organisme, toutefois sa fréquence augmente dans le cas du diabète à cause de l'hyperglycémie, cela peut l'expliquer pas la conjugaison non enzymatique de plusieurs molécules protéiques avec le glucose, notamment les enzymes, ce qui bouscule l'activité de celles-ci; particulièrement celles dotées d'une activité antioxydante (Catalase, SOD, GPx, GR). A cet effet une accumulation de substances oxygénées actives apparaît, d'où l'installation d'un état anormalement élevé de stress oxydatif.

On a pu observé cet état élevé de stress oxydatif dans notre étude chez les sujets DNID, contrairement aux contrôles; malgré le traitement suivi aux hypoglycémiants, la taux élevé de l'HbA_1C témoigne pour sa part du déséquilibre glycémique des DNID.

L'étude parallèle expérimentale sur les rats; a prouvé l'effet du diabète sur la hausse du stress oxydatif, le traitement à l'insuline a rétabli l'état normal de ce phénomène; on ramenant l'activité des enzymes anti oxydantes à leur état physiologique proche de la normale; ainsi que le taux du produit de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde, cela explique d'avantage que la diminution du taux de glucose dans le sang a réduit le stress oxydatif chez les diabétiques. De ce fait, le régime alimentaire reste un facteur de soutien du traitement hypoglycémiant, de part son apport en d'oligo-éléments qui contribuent à l'élimination des prooxydants chez ces sujets diabétiques.

On conclusion, cela nous permet de penser à instaurer une stratégie de supplémentation en oligo-éléments qui aident à neutraliser les prooxidants et atténuer le statut du stress oxydatif.

<u>Mots clés</u> *:* Diabète type 2, Stress oxydatif, Hémoglobine glyquée, Capacité totale antioxydante Catalase, , SOD GPx, GR GSH, MDA Constantine.

Summary

In spite of the existence of a state of oxidative stress in the body, however its frequency increases in the case of the diabetes because of the hyperglycemia, it can be explained by the non-enzymatic reaction of several protein molecules with glucose, particularly the enzymes, what pushes aside the activity of these molecules; particularly those endowed with an anti oxidizing activity such as (Catalase, SOD, GPx, GR). In fact an accumulation of active reactive oxygene species appears, where an installation of an abnormal raised oxidative stress state.

We have to observed this raised state of oxidative stress in our NIDM subjects, contrary to the controls; in spite of the hypoglycemic treatment, high rate of the HbA_1C testifies for its part of the glycemic imbalance of the NIDM.

An experimental parallel study on rats; proved the effect of the diabetic state on the increase of the oxydative stress, the insulin treatment have restored the normal state of this phenomenon; once returning the activity of anti oxidizing enzymes in their physiological state close to the normal; as well as the rate of the end product of the lipid peroxydation, (the malondialdéhyde), It explains of advantage that the decrease of glucose concentration in the blood, will reduce the oxydative stress in diabetics.

Therefore, the diet remains a supporting factor of the hypoglycemic treatment, of part its contribution in trace elements that contribute to the elimination of prooxidants.

We conclude, that it allow us to think of establishing a strategy of supplementation in trace elements which help to neutralize prooxidants and to ease the status of the oxidative stress.

Key words: Diabetes type 2, Oxidative stress, Glycated hemoglobin Total antioxdant capacity, Catalase, SOD, GPx, GR, GSH, MDA Constantine

الملخـــــص

بالرغم من وجود حالة إجهاد تأكسدي تحدث بشكل طبيعي في الجسم، إلا أن وترتها تزداد في حالة داء السكري بسبب ارتفاع تركيز جلوكوز الدم، و يعود ذلك إلى قدرة ارتباط العديد من الجزيئات البروتينية الحيوية بالجلوكوز، منها البروتينات الأنزيمية، مما يعيق عمل هذه الأخيرة، خاصة منها الأنزيمات المزيلة للجذور الحرة (Catalase, SOD, GPx, GR)، و يتسبب ذلك في تراكم الأنواع الأكسيجينية النشطة، مصدر الإجهاد التأكسدي. ذلك ما أمكن ملاحظته عند العينات المتناولة بالدراسة من الأفراد المصابين بداء السكري النوع الثاني، بالرغم من العلاج المتبع بمخفضات جلوكوز الدم، إلا أن مؤشر انضباط العلاج المضاد لارتفاع جلوكوز الدم الهيموغلوبين المجلكز (HbA1c) الذي كان أعلى من المعدل الطبيعي مقارنة بالأفراد الضوابط، يبين أن الأفراد المصابين بداء السكري لم ينضبط لديهم مستوى الجلوكوز مما يبقي على حالة الإجهاد التأكسدي عالية لديهم. و ما يؤكد ذلك الدراسة التجريبية الموازية على الجرذان المصابة بداء السكري التجريبي، عندما أخضعت مجموعة منها للعلاج بالأنسولين، عاد نشاط الأنزيمات المضادة للتأكسد إلى مستواه القريب من الطبيعي، و انخفضت نواتج فوق الأكسدة الدهنية، مما يبين أن انخفاض مستوى جلوكوز الدم له تأثيره الواضح على التقليل من الإجهاد التأكسدي لدى المصابين بداء السكري. و يبقى عامل التغذية مهما لإسناد العلاج المخفض للجلوكوز بتوفيره العناصر المغذية الصغرى التي تساهم أيضا في التقليل من حالة الإجهاد التأكسدي عند هؤلاء المرضى.

هذا ما يدفعنا للتفكير في إستراتجية علاج داء السكري بإضافة العناصر المغذية الصغرى المساعدة على تحييد العناصر الأكسيجينية و من ثم التخفيف من حالة الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفاتيح: داء الســكري النوع الثاني، الإجهاد التأكسدي، الهيموغلوبين المجلكز، السعة الكلية المضادة للتأكسد، Catalase, SOD, GPx, GR, GSH, ,MDA قســـــنطينة