

مقاله اصلی

بررسی ارتباط بین تعادل پرواکسیدانت - آنتی اکسیدانت بامیکروآلبومینوری در بیماران دیابتی

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۲

خلاصه

مقدمه

استرس اکسیداتیو ایجاد شده با ازدیاد اکسیدانها و کاهش آنتی اکسیدانها در پاتوژن بیماری های متعددی از جمله نروپاتی دیابتی دخالت دارند. هدف این مطالعه بررسی ارتباط بین تعادل پرواکسیدانت - آنتی اکسیدانت (PAB) بامیکروآلبومینوری در بیماران دیابتی می باشد.

روش کار

این مطالعه توصیفی مقطعی در بیمارستان امام رضا (ع) مشهد در سال ۱۳۹۱ انجام شد. تعداد ۴۳ بیمار دیابتی بدون میکروآلبومینوری و ۴۶ بیمار دیابتی بامیکروآلبومینوری مورد مطالعه قرار گرفتند. ۴۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. تعیین میکروآلبومینوری بانسبت آلبومین به کراتینین یک نمونه ادرار اتفاقی (ازوسط ادرار) صبحگاهی محاسبه شد که مقادیر بین ۳۰ تا ۳۰۰ میکروگرم آلبومین به ازای هر میلی گرم کراتینین به عنوان میکروآلبومینوری در نظر گرفته شد. میزان PAB با به کارگیری محلولهای استاندارد و با کمک روش الیزا تعیین شد. ازضرب همبستگی پیرسون جهت تعیین ارتباط بین متغیرها استفاده شد.

نتایج

میانگین سطوح PAB در بیماران دیابتی به طور معنی داری نسبت به افراد شاهد بالاتر بود ولی بین دو گروه بیماران دیابتی با وبدون میکرو البومینوری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. ارتباط معنی داری بین سطوح PAB با سطوح آلبومین ادرار در بیماران دیابتی با میکروآلبومینوری مشاهده نشد. در بیماران دیابتی بدون میکرو البومینوری بین سطوح PAB با HbA1C ارتباط معنی دار ومستقیمی مشاهده شد ولی در بیماران بامیکروآلبومینوری این ارتباط مشاهده نشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان دهنده افزایش روندهای استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی نسبت به افراد شاهد می باشد ولی ارتباطی بین سطوح PAB با میکرو البومینوری مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: تعادل پرواکسیدانت - آنتی اکسیدانت، دیابت، میکروآلبومینوری

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

۱ پروین لایق

۲ عباسعلی زراعتی*

۳ داریوش حمیدی علمداری

۴ احمد عربی

۵ فرزانه شریفی پور

۶ سیدسیف اله بلادی موسوی

۷ تینا زراعتی

۱- استادیار غدد، مرکز تحقیقات غدد درون ریز،

دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشیار نفرولوژی، مرکز تحقیقات عوارض

پیوند کلیه، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- استادیار گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی

مشهد

۴- متخصص داخلی، مرکز تحقیقات عوارض پیوند

کلیه دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۵- دانشیار نفرولوژی، مرکز تحقیقات عوارض

پیوند کلیه، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۶- دانشیار نفرولوژی، مرکز تحقیقات نارسائی

مزمن کلیه، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور

اهواز، اهواز، ایران

۷- دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات دانشجویی

دانشگاه علوم پزشکی مشهد

*مشهد- دانشیار نفرولوژی، مرکز تحقیقات

عوارض پیوند کلیه، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تلفن: ۰۵۱-۹۸-۳۱۳۸۵۴۳۰

email: zeraatia@mums.ac.ir

مقدمه

استرس اکسیداتیو ایجاد شده با ازدیاد اکسیدانها و کاهش آنتی اکسیدانها در پاتوژن‌زیمیاری های متعددی از جمله نروپاتی دیابتی دخالت دارند. متعاقب استرس اکسیداتیو یک پاسخ تطابقی سلولی اتفاق می افتد که نیاز به عملکرد تولید آنتی اکسیدانها دارد. متعاقب استرس اکسیداتیو آسیب شدید به DNA پروتئین و لیپیدها اتفاق می افتد. مکانیسمهای متعددی در ایجاد استرس اکسیداتیو بیماران دیابتی دخالت دارند که افزایش تولید میتوکندریال گونه های اکسیژن واکنشی (ROS) و کاهش فعالیت مکانیسمهای حفاظتی قابل اشاره هستند (استرس اکسیداتیو زمانی اتفاق می افتد که تولید اکسیدانها یا گونه های واکنشی اکسیژن از ظرفیت آنتی اکسیدانها تجاوز می کند) (۱). شواهد زیادی وجود دارد که دفاع آنتی اکسیدانت در بیماران دیابتی کاهش یافته است که شامل کاهش نسبت پلاسمایی توتال آنتی اکسیدان ها و یا فعالیت Scavenging رادیکال های آزاد است که مهمترین آنها عبارتند از سوپراکسید دیس موتاز که این آنزیم مسئول سم زدایی رادیکالهای سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و آب در کمپارتمانهای سلولی مختلف است. سایر آنزیمهای آنتی اکسیدان شامل گلوتاتیون اکسیداز و کاتالاز هستند. این محیط پرواکسیدانت در بیماران دیابتی ممکن است سبب از همگسیختگی اندوتلیال از طریق غیرفعال سازی NO^۱ گردند بنابراین عدم تعادل بین عوامل پرواکسیدانت^۲ و آنتی اکسیدانت باعث افزایش مارکرهای استرس اکسیداتیو خواهد شد. که در نهایت فانکشن سلول را تحت تاثیر قرار می دهد (۲). از این رو ما قصد داریم تا ارتباط بین بالانس پرواکسیدانت - آنتی اکسیدانت^۳ (PAB) با میکروآلبومینوری در بیماران دیابتی را بررسی کنیم.

روش کار

از بیماران دیابتی مراجعه کننده به کلینیک های نفرولوژی و غدد بیمارستان امام رضا (ع) مشهد بعد از اخذ رضایت نامه کتبی،

شرح حال کامل گرفته شده و بیماران تحت معاینه دقیق قرار گرفتند. اطلاعات پایه مورد بررسی شامل سن، جنس، و مدت دیالیز ثبت شد. بیماران دیابتی به دو گروه با وبدون میکرو آلبومینوری تقسیم شدند و یک گروه از افراد سالم فاقد دیابت به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. همسان سازی سه گروه بر اساس سن و جنس صورت گرفت. تعیین میکروآلبومینوری بانسبت آلبومین به کراتینین یک نمونه ادرار راندموم (ازوسط ادرار) صبحگاهی محاسبه شد. به بیماران توصیه شد ۲۴ ساعت قبل از نمونه گیری فعالیت سنگین نداشته باشند. یک نسبت ۳۰ میکروگرم آلبومین به ازای هر میلیگرم کراتینین ادرار یا کمتر از آن طبیعی در نظر گرفته شد و مقادیر بین ۳۰ تا ۳۰۰ به عنوان میکروآلبومینوری در نظر گرفته شد. میزان HbA1C نیز در بیماران دیابتی اندازه گیری شد.

نمونه خون جهت سنجش PAB در سه گروه و نیز HbA1C، کلسترول، تری گلیسرید LDL و HDL در بیماران دیابتی گرفته شد. روش اندازه گیری PAB به این ترتیب است که فعالیت اکسیدانت و آنتی اکسیدانت باهم بررسی می شوند و از تراستیل بنزوئیل (TMB) استفاده می شود که دو واکنش مختلف در یک آزمون صورت می گیرد: یکی واکنش انزیماتیک کروموژن که TMB به یک کاتیون رنگی به وسیله پراکسیداز اکسیده می شود و دیگری واکنش شیمیایی کاتیون TMB که به یک ترکیب غیر رنگی آنتی اکسیدانت تبدیل میشود و یک اندکس ردوکس می سازد.

داده های توصیفی به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردیده است. مقایسه بالانس پرواکسیدانت آنتی اکسیداتیو بین گروههای با وبدون میکروآلبومینوری با استفاده از آزمون تی و مقایسه سطوح چربی دردو گروه با استفاده از آزمون من ویتنی انجام شد. جهت مقایسه متغیرهای با توزیع نرمال در ۳ گروه مطالعه از آنالیز واریانس و برای بررسی همبستگی بین بالانس پرواکسیدانت آنتی اکسیداتیو و میکروآلبومینوری از آزمون پیرسون استفاده گردید. تحلیل اماری با استفاده از SPSS انجام شد. Pvalue کمتر از ۰/۰۵ از نظر اماری معنی دار در نظر گرفته شد.

¹ Nitrose oxide² pro- oxidant³ Pro-Oxidant Balance

نتایج

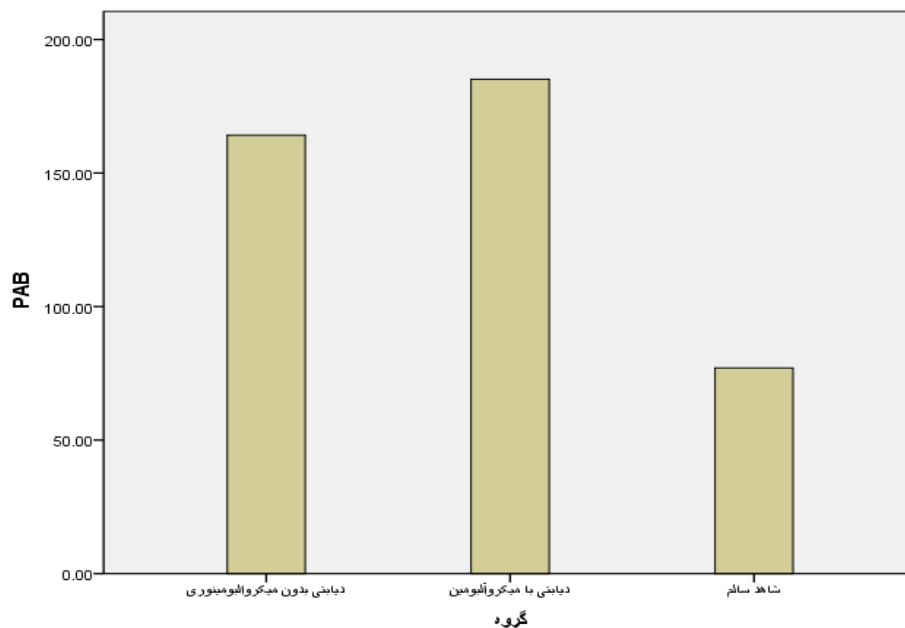
بود (جدول شماره ۱). در مقایسه دودوی گروههای فوق با توجه به آزمون توکی، میانگین سطوح PAB در بیماران دیابتی به طور معنی داری نسبت به افراد شاهد بالاتر بود ولی بین دو گروه بیماران دیابتی با وبدون میکروآلبومینوری تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نمودار شماره ۱). ارتباط معنی داری بین سطوح PAB با سطوح آلبومین ادرار در بیماران دیابتی با میکروآلبومینوری مشاهده نشد. در بیماران دیابتی بدون میکروآلبومینوری بین سطوح PAB با HbA1C ارتباط معنی دار و مستقیمی مشاهده شد ولی در بیماران بامیکروآلبومینوری این ارتباط مشاهده نشد. ارتباط معنی داری بین سطوح PAB با سطوح چربی در بیماران دیابتی مشاهده نشد.

در این پژوهش تعداد ۴۳ بیمار دیابتی بدون میکروآلبومینوری و ۴۶ بیمار دیابتی بامیکروآلبومینوری مورد مطالعه قرار گرفتند. ۴۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. ۲۱ نفر (۴۹٪) در گروه بیماران دیابتی بدون میکروآلبومینوری، ۱۷ نفر (۳۷٪) در بیماران دیابتی با میکروآلبومینوری و ۱۷ نفر (۴۲٫۵٪) در گروه شاهد مونث بودند که از نظر آماری تفاوتی از لحاظ جنسیت در گروهها وجود نداشت ($p=0/41$). میانگین سن بیماران در ۳ گروه تفاوت معنی داری نداشت (۰/۱۰) (جدول شماره ۱). در بررسی میانگین سطوح PAB در سه گروه، با توجه به آزمون آنالیز واریانس تفاوت موجود از نظر آماری معنی دار

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار متغیرهای مطالعه به تفکیک گروههای مورد مطالعه

P Value	شاهد سالم		دیابتی با میکروآلبومینوری		دیابتی بدون میکروآلبومینوری		متغیر
	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	
0/۱۰*	۹/۵۵	۵۲/۲۸	۱۸/۸۲	۴۶/۵۴	۱۳/۸۷	۴۶/۱۸	سن
۰/۰۰۱*	۳۵/۶۶	۷۷	۱۰۵/۳۹	۱۸۵/۱۳	۱۰۴/۴۳	۱۶۴/۱۹	PAB
۰/۰۱#	-	-	۲/۰۸	۸/۲۲	۱/۵۵	۷/۱۵	HbA1C
۰/۱۹¥	-	-	۸۱/۷۹	۱۴۶/۹۹	۳۴۰/۱۱	۲۱۵/۰۵	کلسترول
۰/۲۹¥	-	-	۱۱۹/۶۰	۱۷۴/۶۴	۱۹۰/۹۳	۲۱۲/۹۵	تری گلیسرید
۰/۹۶¥	-	-	۲۹/۳۲	۱۰۰/۷۵	۳۸/۶۵	۱۰۱/۰۹	LDL
۰/۳۱¥	-	-	۱۲۳/۱۲	۷۰/۴۴	۱۹۶/۸۰	۱۰۸/۱۱	HDL

ANOVA*
T test #
Mannweithny U ¥



شکل ۱- سطوح PAB در بیماران دیابتی با وبدون میکروآلبومینوری و گروه شاهد

بحث

مطالعه حاضر نشان می دهد که میزان PAB در بیماران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش دارد ولی ارتباط معنی داری بین سطوح PAB با سطوح آلبومین ادرار در بیماران دیابتی با میکروآلبومینوری مشاهده نشد.

گونه های اکسیژن واکنشگر مانند آنیون سوپراکسید در طی اعمال طبیعی سلول تولید و خاصیت واکنشگری بالای این گونه ها به اکسیداسیون لیپیدها و دیگر مولکولهای حیاتی منجر می گردد. تعادل بین تولید گونه های اکسیژن واکنشگر و فعالیت آنتی اکسیدانی در پاتوژنز بیماریهای مربوط به استرس اکسیداتیو لازم و ضروری می باشد. بررسی ها نشان می دهند که گونه های اکسیژن واکنشگر از جمله فاکتورهای خطر مهم در بیماریزایی تعدادی از بیماریها هستند که در آنها سیستم آنتی اکسیدانی دچار آسیب می شود. در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۸ توسط ماهاجان^۱ و همکاران انجام شد، ۳۷ بیمار دیابتی با ۳۰ فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند، که فعالیت آنتی اکسیدان در گروه بیماران دیابتی پایین تر و سطوح پلاسمایی و ادراری تیوباریتوریک اسید بالاتر بود (۳). ساتو^۲ نیز در سال ۱۹۹۹ سطوح بالای تیوباریتوریک اسید را گزارش کرد (۴). پیورالی^۳ در سال ۲۰۰۹ در دو گروه بیماران با وبدون دیابت نشان داد که در بیماران دیابتی ارتباط معنی داری بین آلبومین ادراری و اکسیداسیون وجود دارد (۵). اصلان^۴ در سال ۲۰۰۷ سطوح پایین آنتی اکسیدان را در بیماران دیابتی نوع ۲ آلبومینوریک نشان داد (۶). یوکویاما^۵ در یک حجم نمونه کوچک از بیماران دیابتی نوع ۲ میکروآلبومینوریک کاهشی معنی دار در دفع آلبومین با تجویز ویتامین E نشان داد (۷). در مطالعه ای در سال ۲۰۱۱ که توسط ویستی^۶ انجام شد، مالوندی آلدئید پلازما و کربونیل پروتئین سرم را در ۳۷

بیمار دیابتی با ۲۵ بیمار بدون دیابت بررسی کرد و یک ارتباط مستقیم با میکرو آلبومینوری نشان داد (۸) در مطالعه حاضر، وجود همبستگی مثبت و قابل توجه بین سطوح PAB با HbA1C نشان دهنده نقش هیپرگلیسمی و نیز شیوه کنترل هیپر گلیسمی در ایجاد وضعیت استرس اکسیداتیومی باشد. علمداری و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان داد که سطوح بالای PAB با عوارض دیابتی در ارتباط می باشد. آنها نشان دادند که یک روز پس از مصرف آنتی اکسیدان های ویتامین E و C شیفیت معنی داری از وضعیت اکسیداتیو به آنتی اکسیداتیو مشاهده می شود. (۸) وجود چربی هایی مانند: کلسترول و تری گلیسرید، PAB را تحت تأثیر قرار نمی دهند. براین اساس بین سطوح PAB با سطوح کلسترول، HDL، LDL و مقادیر تری گلیسرید همبستگی وجود نداشت.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه سطوح بالای PAB را در بیماران دیابتی نسبت به افراد شاهد نشان می دهد، که احتمالاً ناشی از افزایش روندهای استرس اکسیداتیو است و شرایطی را بیان می کند که در طی آن یک عدم تعادل بین تولید و غیر فعال سازی گونه های اکسیژن واکنشی وجود دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری تخصصی دکتر احمد عربی و طرح تحقیقاتی مصوب به شماره ۹۰۱۱۶۱ و با حمایت مرکز تحقیقات عوارض پیوند کلیه و حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مشهد می باشد.

¹ Mahajan² Sato³ Plaralli⁴ Aslan⁵ Yokoyama⁶ Vicentini

References

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International J of Biochemistry and cell biology* 2007;39:44-84.
2. Anabela RP, Carlos PM. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycaemia and oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2006;212:167-78.
3. Maharjan BR, Jha JC, Adhikari D, Vishwanath P, Baxi J, Alurkar VM, Singh PP. A study of oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in diabetic patient in the western region of Nepal. *Kathmandu University Medical Journal* 2008;21: 16-22.
4. Sato Y, Hotta N, Sakamoto N, Motosulka S, Ohishi N, Yagi K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients *Biochem Med* 1999;21:104-7.
5. Piarulli F, Ceriello E, Ragazzi R, Reitano L, Nollino C, Cosma D, Fedele A, Lapolla. Relationship between glyco-oxidation, antioxidant status and microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 2009 52:1419-1425.
6. Aslan M, Sabuncu T, Kocyigit A, Celik H, Selek S, Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* .2007; 17:734-740
7. Yokoyama M, Torita M, Yoshizawa M, Usuda R. Indication of vitamin E on microalbuminuria in patients with incipient diabetic nephropathy. *Diabetes Metab*.2001 ; 27:611-612.
8. Vicentini J, Valentini J, Grotto D ,et al, Association Among Microalbuminuria and Oxidative Stress Biomarkers in Patients With Type 2 Diabetes, *Journal of Investigative Medicine*. 2011 ; 4 :649-654.
9. Alamdari DH, Paletas K, Pegiou T, Sarigianni M, Befani C, Koliakos G. A novel assay for the evaluation of the prooxidant-antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clin Biochem*. 2007 ; 40:248-254).

*Original Article***Assessment of correlation between prooxidant-antioxidant balance in patients with diabetic nephropathy**

Received: Nov 19 2015- Accepted: Jan 2 2016

Abstract

Introduction: The balance between oxidative stress and antioxidant activity is critical to the pathogenesis of many disorders including diabetic nephropathy. The aim of this study was to determine the Correlation between prooxidant – antioxidant balance(PAB) with microalbuminuria in patients with diabetic nephropathy.

Methods: this descriptive cross- sectional study performed in Imam Reza Hospital in year 2012. Forty – six diabetic patients with microalbuminuria and Forty – three diabetic patients without microalbuminuria were enrolled in this study. Forty healthy volunteer selected as a control group. Microalbuminuria is defined as excretion of 30-300 microgram albumin in urine for every milligram of creatinin . The values of PAB were determined by using standard solutions and ELISA method. Pearson’s correlation coefficient method was used for specifying the correlation between our variables.

Results: The values of PAB in diabetic patients were significantly higher than that in control group, however , there was no significant difference between PAB values among the two groups of diabetic patients with and without microalbuminuria. There was no significant correlation between PAB values and microalbuminuria in diabetic patients. There was a significant direct correlation between the PAB values andHbA1C in diabetic patients without microalbuminuria.

Conclusion: The results of this study indicated that oxidative stress processes were significantly higher in diabetic patients compared with controls but there was no significant correlation between PAB values and microalbuminuria in diabetic patients.

Key words: cc**Acknowledgement:** There is no conflict of interest.¹ Parvin Layegh² Abbas Ali Zeraati*³ Daryoush Hamidi Alamdari⁴ Ahmad Arabi⁵ Farzaneh Sharifipour⁶ Seyyed Seifollah Beladi Mousavi⁷ Tina Zeraati

1- Assistant professor of endocrinology & metabolism, Endocrine Research Center, Imam Reza Hospital , School of Medicine ,Mashhad University of Medical Sciences ,Mashhad , Iran

2- Associate professor of nephrology , Kidney Transplantation Complications research center , Imam Reza Hospital , School of Medicine ,Mashhad University of Medical Sciences ,Mashhad , Iran

3- Assistant Professor Of Biochemistry, Mashhad University Of Medical Sciences

4- Internist, Kidney Transplantation Complications research center, Imam Reza Hospital , School of Medicine ,Mashhad University of Medical Sciences ,Mashhad , Iran

5- associate professor of nephrology , Kidney Transplantation Complications research center , Imam Reza Hospital , School of Medicine ,Mashhad University of Medical Sciences ,Mashhad , Iran

6- Associate Professor, Chronic Renal Failure Research Center, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

7- Medical Student, Student Research Committee, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

* Kidney Transplantation Complications research center , Imam Reza Hospital , School of Medicine ,Mashhad University of Medical Sciences ,Mashhad , Iran
Tel: 09155037124
Email: zeraatia@mums.ac.ir