Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 12:23 +0330 on Wednesday October 4th 2017

مقایسه استرس اکسیداتیو افراد دیابتی نوع دو با افراد سالم

زهرا افضلی [1] دکتر علی‌اصغر پیله‌وریان [2] علی اکبر ملکی راد [3]

[1] کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، [2] استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان، [3] دانشجوی دکترای تخصصی علوم اعصاب‌شناختی دانشگاه تبریز

مجله پزشکی هرمزگان سال دوازدهم شماره دوم تابستان 87 صفحات 134-129

چکیده

مقدمه: *دیابت یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع و مزمن است که آمار جهانی آن از جمله در ایران رو به افزایش می‌باشد. تضعیف سیستم دفاع آنتی اکسیدانی می‌تواند منجر به دیابت شود. هدف از انجام این پژوهش، مقایسه پارامترهای استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت نوع **II** و گروه کنترل می‌باشد.*

روش کار: *در این مطالعه مقطعی_تحلیلی 30 نفر از بیماران دیابتی نوع **II** مراجعه کننده به مرکز دیابت اراک به عنوان گروه مورد بودند که با 30 نفر که از لحاظ سن و جنس و سایر معیارهای ورود با گروه مورد همتا بودند، به عنوان گروه شاهد مقایسه شدند. ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم، بااستفاده از روش **Ferric reducing ability of plasma** ، میزان پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده ازروش **Thiobarbituric acid** و میزان اکسیداسیون پروتئین‌ها با استفاده از روش**HU** (روش اندازه‌گیری گروههای تام تیول) اندازه‌گیری شد. سپس نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری **SPSS** تجزیه و تحلیل گردید.*

نتایج: *میانگین وانحراف معیار ظرفیت تام آنتی اکسیدانی سرم در گروه مورد 0/08092± 2/743 و در گروه شاهد 0/04839± 1/927 میکرو مول در میلی لیتر بود (**P** < 0/001). میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه مورد 2/06508 ±3/2596 و در گروه شاهد 3/5354 ± 3/9050 نانو مولار در میلی لیتر بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین میزان اکسیداسیون پروتئین‌ها (مقدارگروههای تیول) در گروه مورد 0/13074± 0/2038 و در گروه شاهد 0/14868± 0/3768 میکرومول در میلی لیتر بود (**P** < 0/ 001).*

نتیجه‌گیری: *افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم و عدم تفاوت معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی افراد مورد و شاهد می‌تواند به علت رعایت رژیم غذایی و مصرف زیاد آنتی اکسیدانهای طبیعی و دارویی باشد. در این افراد تولید رادیکالهای آزاد که احتمالاً می‌تواند زمینه‌ساز بیماری باشد افزایش یافته و بنابراین سیستم دفاع آنتی اکسیدانی تضعیف شده است.*

کلیدواژه‌ها: *رادیکال آزاد - آنتی اکسیدان - استرس اکسیداتیو - دیابت نوع 2*

نویسنده مسئول:
زهرا افضلی
کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان
اصفهان - ایران
تلفن: 09188650068
پست الکترونیکی:
melikamobin2006@yahoo.com

دریافت مقاله: 85/5/16 اصلاح نهایی: 86/4/25 پذیرش مقاله: 86/10/16

مقدمه:

رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها یا مولکول‌هایی هستند که به دلیل داشتن الکترون‌های جفت نشده، در بدن بسیار واکنش‌پذیر بوده و آسیب بسیاری به ماکرومولکول‌های بدن مانند **DNA**، پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها وارد می‌سازند (1). افزایش رادیکال‌های آزاد منجر به ایجاد حالت استرس اکسیداتیو می شود. در بدن سیستم‌های خاصی برای مقابله با آسیب‌های حاصل از رادیکال‌های آزاد وجود دارد که به سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی معروفند (2). در یک فرد سالم، بین تولید

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 12:23 +0330 on Wednesday October 4th 2017

رادیکال آزاد و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی توازن برقرار است. عدم تعادل در میزان تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی، استرس اکسیداتیو خوانده می‌شود (3). پاره‌ای از مطالعات نشان می‌دهند که احتمالاً استرس اکسیداتیو یکی از عوامل ایجاد کننده بیماری‌های مختلف از جمله دیابت می‌باشد (4). دیابت یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع و مزمن است که آمار جهانی آن از جمله در ایران روندی رو به افزایش دارد (5). این بیماری چهارمین علت اصلی مرگ‌ومیر در کشورهای توسعه یافته می‌باشد (6) و پیش‌بینی می‌شود آمار آن تا سال 2010 در سراسر جهان به دو برابر برسد (7).

Ceriello و همکاران در سال 1997، کاهش چشمگیری در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در افراد دیابتی نوع دو نسبت به گروه کنترل مشاهده نمودند (8). **Pasaogla** و همکاران نیز در سال 2004 دریافتند که میزان استرس اکسیداتیو در افراد دیابتی نوع دو نسبت به افراد شاهد بیشتر است. میزان تولید رادیکال‌های آزاد در افراد دیابتی نوع دو افزایش و مقاوم سازی آنتی اکسیدانی در آنها کاهش یافته است، در نتیجه میزان استرس اکسیداتیو در این افراد افزایش می‌یابد (9).

Kim و همکاران در سال 2004، افزایش سطوح آنتی اکسیدانی پلاسما و عدم تغییر میزان پراکسیداسیون لیپیدی را در افراد دیابتی گزارش نمودند (10).

هدف ما از انجام این مطالعه با توجه به شیوع بالا وعوارض جبران‌ناپذیر بیماری دیابت واحتمالاً نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد و پیشرفت این بیماری، اندازه‌گیری و مقایسه پارامترهای استرس اکسیداتیو افراد دیابتی نوع دو و گروه شاهد می باشد. با توجه به اهمیت زیاد پیشگیری اولیه و ثانویه دیابت و این که احتمالاً تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی، از عوامل ایجاد بیماری دیابت نوع دو می‌باشد، می‌توان با تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در افراد سالم از مبتلا شدن به دیابت نوع دو و در افراد بیمار از عوارض و پیشرفت بیماری کاست.

روش کار:

این مطالعه از نوع مقطعی - تحلیلی است. جامعه مورد پژوهش30 نفر (27 نفر زن و3 نفر مرد) در محدوده سنی22 تا 84 سال با معیارهای ورود به مطالعه، از افراد مراجعه کننده به مرکز دیابت شهر اراک و کلینیک‌های خصوصی بودند که به روش تصادفی آسان انتخاب شدند. معیارهای ورود به این بررسی شامل کسانی بود که به مدت حداقل دو سال سابقه دیابت داشته و سابقه مصرف سیگار، مواد مخدر و الکل نداشته و با توجه به تشخیص پزشک متخصص، بیماری‌های مزمن دیگری نداشته و مبتلا به عوارض بیماری نباشند. گروه شاهد 30 نفر از افراد سالم با معیارهای ذکر شده بودند که از نظر میزان قند خون ناشتا و قند خون دو ساعت بعد از ناشتا نرمال و دارای سن و جنس و سایر معیارهای ورودی همتا با گروه مورد بودند که بعد از کنترل افراد بیمار و شاهد توسط پزشک متخصص با پر کردن پرسشنامه‌هایی، مورد آزمایش قرار گرفتند.

از افراد مورد و شاهد، 5 سی سی خون وریدی گرفته شد و ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم هر کدام به طور جداگانه با روش **FRAP (Ferric reducing ability of plasma)** ارزیابی گردید. این روش بر اساس توانایی پلاسما در احیای یون Fe^{3+} به Fe^{2+} و در حضور ماده‌ای به نام **TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-s-triazine)** که به عنوان معرف می‌باشد، استوار است. نتیجه آن کمپلکس آبی رنگ **Fe^{2+}-TPTZ** با حداکثر جذب **593nm** می‌باشد. حساسیت میزان قدرت احیاکنندگی سرم از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکترو فتومتری مدل **Uv- visible 7800Jasco** اندازه‌گیری شد و منحنی استاندارد بر اساس محلول‌های استاندارد سولفات آهن رسم گردید و سپس بر اساس منحنی استاندارد، غلظت مواد مذکور بر حسب میکرو مول درمیلی لیتر اندازه‌گیری شد (11).

میزان پراکسیداسیون لیپیدی با استفاده از روش **Thiobarbituric acid (TBA)** در دو گروه مورد و شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. استرس اکسیداتیو، باعث افزایش پر اکسیداسیون لیپیدی اسیدهای چرب غیر اشباع

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 12:23 +0330 on Wednesday October 4th 2017

می‌گردد و بر اثر حمله رادیکالهای آزاد به لیپیدها، آلدئیدهای گوناگون از جمله **MDA** تولید می‌شود که با تیوباربیتوریک اسید **(TBA)** در **pH** اسیدی و دمای بالا واکنش می‌دهد. حداکثر جذب کمپلکس صورتی رنگ حاصل در **532 nm** می‌باشد. میزان پر اکسیداسیون لیپیدی از طریق افزایش غلظت **Malondialdehyde (MDA)** توسط اسپکتروفتومر ارزیابی گردید. منحنی استاندارد بر اساس محلول‌های استاندارد تهیه شده از تترامتوکسی پروپاندر اسید سولفوریک رسم شده و غلظت مواد مذکور براساس نانو مول درمیلی لیتر ارزیابی شد (12).

میزان اکسیداسیون پروتئین‌ها با استفاده ازروش **HU** (اندازگیری میزان گروه‌های تیول، یکی از نشانگرهای آسیب رادیکال‌های آزاد) ارزیابی گردید. این عوامل به آسیب اکسیداتیو حساس بوده و در نتیجه این آسیب‌ها کاهش می‌یابد. برای ارزیابی این عوامل از روش کالیمتری **Hu** آن از 2,2 دی نیترو بنزوئیک اسید (**DTNB**)، معرف **Ellman** استفاده می شد. **DTNB** با این گروهها (گروههای تیول) کمپلکس زرد رنگ ایجاد می‌نماید که در طول موج **412nm** دارای حداکثر جذب است. میزان اکسیداسیون پروتئین نیز توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس، بر اساس فرمول‌های مربوطه ($(A_2-A_1-B)\times\frac{1.07}{0.05/136}=(A_2-A_1-B)\times 1.57mM$) غلظت مواد مذکور براساس میلی مول درمیلی لیتر اندازه‌گیری گردید (13).

نتایج با استفاده از نرم افزار**SPSS** و آمار توصیفی مانند میانگین و آمار تحلیلی مانند آزمون من‌ویتنی، تجزیه و تحلیل گردید. لازم به ذکر است که شرکت کلیه افراد در پژوهش آگاهانه بوده و محققان در تمام مراحل، متعهد به رعایت اصول اخلاقی پژوهش بودند.

نتایج:

آزمایشات انجام شده در مورد پارامترهای استرس اکسیداتیو در افراد دیابتیک نوع دو و افراد سالم نشان می‌دهد که میانگین و انحراف معیار ظرفیت آنتی‌اکسیدانهای تام سرم در افراد مورد 2/743 ±0/08092 میکرومول در میلی لیتر و در افراد شاهد 1/927±0/04839 میکرومول در میلی لیتر بود و آزمون من ویتنی اختلاف معنی‌داری بین گروه مورد و شاهد نشان داد ($p < 0/001$) که ناشی از افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در افراد بیمار نسبت به افراد سالم می‌باشد.

میانگین و انحراف معیار گروههای تیول در افراد مورد 0/2038±/13074 و در افراد شاهد 0/14868± 0/3768 میکرو مول در میلی لیتر بود که آزمون من ویتنی اختلاف معنی‌داری بین دو گروه نشان می‌دهد ($p < 0/001$) که کاهش معنی‌دار گروههای تیول در افراد دیابتی را نشان می‌دهد. میانگین و انحراف معیار **TBA** در گروه مورد 2/06508± 3/2596 نانومول در میلی لیتر و در گروه شاهد 3/5354±3/9050 نانومول در میلی لیتر بود که با استفاده از آزمون من ویتنی اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. (جدول 1).

جدول شماره ۱- مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم، اکسیداسیون پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها در گروه مورد و شاهد

پارامتر استرس اکسیداتیو	گروه مورد انحراف معیار ± میانگین	گروه شاهد انحراف معیار ± میانگین	P-Value
ظرفیت آنتی اکسیدانی تام سرم (میکرومول در میلی لیتر)	2/743±0/08092	1/927±0/04839	0/001
میزان اکسیداسیون پروتئینی (گروههای تیول) (میکرومول در میلی لیتر)	0/2038±0/013074	0/3768±0/14868	0/001
میزان پراکسیداسیون لیپیدی (TBA) * (نانومول در میلی لیتر)	3/2596±0/06508	3/9050±3/5354	N.S**

*** TBA= Thiobarbituric Acid**

**** N.S: Not Significant**

بحث و نتیجه‌گیری:

طبق پژوهش انجام شده، میانگین آنتی اکسیدان‌های تام سرم در گروه مورد، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد و همچنین اختلاف میانگین بین گروههای تیول در گروه مورد با شاهد معنی‌دار بود، ولی میانگین

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 12:23 +0330 on Wednesday October 4th 2017

سطح **TBA** در گروه مورد و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول 1).

Kim و همکارانش در مطالعه‌ای جذب مواد غذایی و سطوح ویتامین‌های آنتی اکسیدانی پلاسما را در دیابتی‌های مسن کره‌ای مورد ارزیابی قرار دادند. طی این مطالعه وضعیت آنتی اکسیدانی بین افراد دیابتی و افراد مسن سالم از طریق تعیین میزان ویتامین‌های آنتی اکسیدانی رژیم غذایی، سطوح آنتی اکسیدان پلاسما و وضعیت آنتی اکسیدان تام بررسی شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که متوسط ویتامین **A** و جذب بتا کاروتن از رژیم غذایی در افراد دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود. تفاوت معنی داری در ویتامین **C** پلاسما، سطح بتا کاروتن و سطح **(TBARS) Thiobarbituric acid reacting subatances** بین دو گروه شاهد و مورد مشاهده نشد، اما ویتامین‌های **E** و **A** و سطح آنتی اکسیدانهای تام پلاسما در افراد دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بوده است. به طور کلی نتایج حاکی از آن است که بیماران دیابتی وضعیت آنتی اکسیدانی بالاتری از گروه کنترل داشتند که به عنوان شاخص بهبودی نسبی محسوب می‌گردد (10). **Astaneie** و همکاران درمطالعه ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و سطوح فاکتور رشد اپیدرمی و نیتریک اکسید در خون و بزاق بیماران دیابتیک، در سال 2005 بر روی 19 بیمار دیابتی و 19 فرد سالم به عنوان گروه کنترل، نشان دادند که قدرت آنتی اکسیدانی تام سرم بیماران دیابتی بالاتر از گروه شاهد بود (14). **Blaszczak** و همکاران در سال 2005 در مطالعه ای تحت عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی و غلظت مولکولی آنتی اکسیدانها در پلاسمای افراد دیابتی در مراحل مختلف موازنه متابولیسمی، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم در افراد دیابتی را گزارش کردند (15). نتایج مطالعه ما با یافته‌های اخیر هماهنگ است واحتمالاً نتایج فوق طبق نظر **Kim** به علت رعایت رژیم غذایی و دارویی توسط افراد دیابتی می‌باشد (10).

Ceriello و همکاران در سال 1997 نشان دادند که میزان مقاوم‌سازی آنتی اکسیدانی افراد دیابتیک نوع دوم در مقایسه با گروه کنترل کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد (8). **Pasaogla** و همکاران در سال 2004 دریافتند که میزان استرس اکسیداتیو در افراد دیابتیک نوع دوم نسبت به افراد شاهد بیشتر می‌باشد، میزان تولید رادیکال‌های آزاد در افراد دیابتی نوع دوم افزایش و مقاوم‌سازی آنتی اکسیدانی کاهش یافته و در نتیجه میزان استرس اکسیداتیو در این افراد افزایش می‌یابد (13). نتایج مطالعه ما با یافته‌های اخیر مغایرت دارد. چون افزایش رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماری‌های مختلف از جمله دیابت می‌شود و از طرف دیگر افزایش رادیکال‌های آزاد باعث تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی گردیده، در نتیجه در این بیماران مقدار آنتی اکسیدانها کاهش یافته است.

Favier در سال 1995 گزارش کرد رادیکال‌های آزاد گروه‌های تیول پروتئین‌ها را کاهش می‌دهد (16). **Ceriello** در سال 1997 اظهار داشت که در بیماران دیابتیک گروه‌های تیول باند شده به پروتئین و اسید اوریک پایین می‌باشد (8). **Pasaogla** و همکاران در طی تحقیقاتی در سال 2004 درباره پراکسیداسیون لیپیدی و ارتباط با افراد دیابتی نوع دو دریافتند که مقدار گروههای تیول در افراد دیابتی نسبت به گروههای کنترل کاهش چشمگیری نشان می‌دهد (13). **Cerielli** و همکارانش در سال 1996 با مطالعه بر روی بیماران دیابتی مشاهده نمودند که گروههای تیول و اسید اوریک به طور معنی‌داری در این افراد پایین بود در حالیکه **MDA** و ویتامین **E** بطور معنی‌داری در این افراد بالاتر بود. نتایج مطالعه ما با یافته‌های اخیر هماهنگ است، چون افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماری‌های مختلف ازجمله دیابت و تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی و در نتیجه کاهش مقدار آنتی اکسیدانها می‌گردد (4).

Kim و همکارانش نشان دادند که سطوح **TBA** در افراد دیابتی نوع دوم با غیر دیابتی تفاوت معنی‌داری ندارد (10). نتایج مطالعه ما مشابه با نتایج اخیر است. احتمالاً علت پایین بودن میزان **TBA** در گروه مورد

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 12:23 +0330 on Wednesday October 4th 2017

نسبت به شاهد، طبق نظر **Kim**، حساسیت افراد دیابتیک به رژیم غذایی و دارویی می‌باشد (10).

Seghrouchni و همکاران در سال 2002 در مطالعه‌ای تحت عنوان پارامترهای استرس اکسیداتیو در دیابت نوع **I** و **II** درمان شده با انسولین گزارش کردند که در افراد دیابتی فعالیت **Super oxide Dismutase (SOD)** و غلظت **TBARS** افزایش و مقدارآلفا توکوفرول کاهش می‌یابد (17). نتایج مطالعه ما با یافته اخیر مغایرت دارد چون افزایش رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماری‌های مختلف از جمله دیابت می‌شود (4). از آنجائی که افراد دیابتی برای پیشگیری از عوارض بیماری مقدار زیادی آنتی اکسیدان مصرف می‌نمایند و از طرف دیگر شرایط فیزیولوژیک فرد، اختصاصات نژادی از جمله **HLA-typing** و مقدار انسولین مصرفی می‌تواند میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی را دستخوش تغییر نماید که در افراد و نژادهای مختلف متفاوت است و باعث تغییر در میزان آنتی اکسیدانهای افراد می‌شود. در مجموع عوامل فوق باعث بالا رفتن ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم بیماران دیابتی و همچنین تغییر نکردن میزان پراکسیداسیون لیپیدی در افراد دیابتیک نوع 2 نسبت به گروه شاهد شده است. همچنین کاهش معنی‌دار گروههای تیول پروتئین‌ها در افراد دیابتیک نوع 2 درمقایسه با گروه شاهد مشاهده شد، زیرا افزایش تولید رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیماریهای مختلف ازجمله دیابت و تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی و در نتیجه کاهش مقدار آنتی اکسیدان‌ها می‌گردد.

نتایج این مطالعه بیانگر افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم در افراد بیمار و عدم تفاوت معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی افراد مورد و شاهد بود، که به علت رعایت رژیم غذایی ومصرف زیاد آنتی اکسیدانهای طبیعی و دارویی می‌باشد. گروههای تیول پلاسمای افراد مورد نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد که بر اثر واکنش بین گروههای تیول آنها با رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

از آنجا که احتمالاً تضعیف سیستم آنتی اکسیدانی، از عوامل ایجاد بیماری دیابت نوع دو می‌باشد، می‌توان با تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در افراد سالم از مبتلا شدن به دیابت نوع دو و در افراد بیمار از عوارض و پیشرفت بیماری کاست.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند قدردانی می‌گردد.

References منابع

1. **Halliwell B. Antioxidant characterization methodology and mechanisms. *Biochemical Pharmacological*. 1995;49(10):1341-84.**
2. **Cochranc CG. Cellular injury by antioxidants. *Am J Med*. 1997;32:235-55.**
3. **Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*. 1990;280(1):1-8.**
4. **McCraty R, Atkinson M, Conforti K. Heart rate variability, hemoglobin AIC and psychological health in type I and II diabetes following an emotional self –management program. Proceeding of the society of behavioral Medicine. 20th Annual Scientific sessions. San Diego, California; 1999.**
5. **Rubin RR. Diabetes and quality of life. *Diabetes Spectrum*. 2000:13(1):21.**
6. **Glugliano D. Oxidative stress and diabetes vascular complications. *Diabetes Care*. 1996;19:257-67.**
7. **Rcnders CM. Interventions to improve the management of diabetes in primary care, outpatient and community setting. *Diabetes Care*. 2001;24:1821-33.**

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 12:23 +0330 on Wednesday October 4th 2017

8. **Ceriello A, Bortalotti N, Fulleti E, Tuboga C, Tonutti L, Crescentini A, et al. Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis prone status in NIDDM patients. *Diabetes care*. 1997;20(10):1589-93.**

9. **Pasaoglu H, Sancak B, Bukan N. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type II diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med Jul*. 2004;203(3):211-8.**

10. **Kim JH, Kim MJ. Dietary intakes and plasma antioxidant vitamins levels in Korea elderly with diabetes. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2004;13(suppl):152.**

11. **Iris F, Benzie F, Strain S. The fettic reducing antioxidant assay. *Methods Enzymol*. 1999;292:15-27.**

12. **Esterabeur H, Cheeseman K .Determination of aldehyids Lipid peroxidation products: malondealdhyde and 4hydroxynonenal. *Methods Enzymol*. 1990;186:407-21.**

13. **Hu ML, Dillard CJ. Plasma SH and GSH measurement. *Methods Enzymol*. 1994;233:381-5.**

14. **Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, et al. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin dependent diabetic patients. *Arch Med Res*. 2005;36(4):376-81.**

15. **Blaszczak R, Kujawski K, Kedziora-Kornatowska K, Kornatowski T, Kedziora J, Szadujkis-Szadurski L, et al. The total antioxidant capacity and low–molecular antioxidants concentration in plasma in diabetes type 2 patients in different stage of metabolic compensation and concomitant diabetic nephropathy. *Pol Merkur Lekarski*. 2005;18(103):29-32.**

16. **Faure P , Troncy L, Lecomte M, Wiernsperger N, Lagarde M, Ruggier D, Albumin anti oxidant capacity modified by methylglyoxal. *Diabetes & Metabolism*. 2005;31(2):169-7.**

17. **Seghrouchni I. Drai J. Bannier E, Riviere J, Calmord P, Garcia I, et al. Oxidative stress parameters in type 1, type 2 and insulin treated type diabetes mellitus: insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*. 2002;321(1-2):89-96.**