

## Level of Glutathione Peroxidase Activity and Carbonyl and Malondialdehyde Levels in Erythrocyte of Diabetic Rats

Ghojagh D.\* *PhD*, Deylam Katoli H.<sup>1</sup> *MD*, Habibi Nodeh M.<sup>1</sup> *MD*

\*Biophysics & Biochemistry Department, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

<sup>1</sup>Department of Clinical biochemistry, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

### Abstract

**Aims:** Diabetes is a world wide health threat and treatment of this disease is very important in medical sciences. The aim of this investigation was to determine the carbonyl and malondialdehyde levels and glutathione peroxides activity in the erythrocytes of diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 24 rats with 180-220g body weight were divided into two control and diabetic groups. Diabetic status was induced by intraperitoneal injection of alloxan. Malondialdehyde and carbonyl levels and glutathione peroxidase activity were measured by using special kits. Mean and deviation of data were calculated by SPSS 18 software and the difference of two groups was compared by student T test.

**Results:** The mean of malondialdehyde level in erythrocyte of diabetic group ( $2.27 \pm 0.22$  mmol/mg of protein) was increased compared to control group ( $1.16 \pm 0.15$  mmol/mg of protein;  $p < 0.05$ ). Mean of carbonyl content in erythrocytes of diabetic group ( $2.98 \pm 0.35$  mmol/mg of protein) was increased compared to control group ( $0.75 \pm 0.17$  mmol/mg of protein;  $p < 0.05$ ). Mean of glutathione peroxidase activity level in erythrocytes of diabetic group ( $5.73 \pm 0.46$   $\mu$ molNADPH/min/mg of protein) was increased compared to control group ( $2.98 \pm 0.33$   $\mu$ molNADPH/min/mg of protein;  $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Mean levels of carbonyl and malondialdehyde and glutathione peroxidase activity increases in diabetic rats compare to non-diabetic rats.

**Keywords:** Malondialdehyde; Carbonyl; Glutathione Peroxides; Diabetes; Antioxidant; Free Radicals

## میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و مقدار کربونیل و مالون دی آلدئید در اریتروسیت موش‌های صحرایی دیابتی

دردی قوجق\* PhD

گروه بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

حمیده دیلم کتولی MD

گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

معصومه حبیبی نوده MD

گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

### چکیده

**اهداف:** دیابت یکی از مشکلات سلامتی در جهان و درمان این بیماری در علوم پزشکی بسیار مهم است. هدف این پژوهش تعیین مقدار کربونیل، مالون دی آلدئید و میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز در اریتروسیت موش‌های صحرایی دیابتی بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرایی در محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم به ۲ گروه کنترل و دیابتی تقسیم شد. موش‌های صحرایی گروه دیابتی با تزریق آلوکسان به صورت داخل صفاقی دیابتی شدند. مقدار کربونیل، مالون دی آلدئید و میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز با کمک کیت‌های اختصاصی اندازه‌گیری شد. میانگین و انحراف معیار داده‌ها با کمک نرم‌افزار آماری SPSS 18 محاسبه و با استفاده از آزمون T استودنت اختلاف بین گروه کنترل و دیابتی مشخص شد.

**یافته‌ها:** میانگین مقدار مالون دی آلدئید در اریتروسیت در گروه موش دیابتی  $2/27 \pm 0/22$  میلی‌مول در میلی‌گرم پروتئین نسبت به گروه کنترل  $1/16 \pm 0/15$  میلی‌مول در میلی‌گرم پروتئین افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). میانگین مقدار کربونیل در اریتروسیت گروه دیابتی  $2/98 \pm 0/35$  میلی‌مول در میلی‌گرم پروتئین نسبت به گروه کنترل  $1/12 \pm 0/16$  میلی‌مول در میلی‌گرم پروتئین افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). میانگین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز نیز در اریتروسیت گروه دیابتی  $5/73 \pm 0/45$  میکرومول NADPH در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین نسبت به گروه کنترل  $2/98 \pm 0/33$  میکرومول NADPH در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین افزایش یافت ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** میانگین مقدار کربونیل، مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به موش‌های غیردیابتی افزایش می‌یابد.

**کلیدواژه‌ها:** مالون دی آلدئید، کربونیل، گلوکاتایون پراکسیداز، دیابت، آنتی‌اکسیدان، رادیکال‌های آزاد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۵/۲۸

\*نویسنده مسئول: d.jueq@mubabol.ac.ir

### مقدمه

میزان اندکی از انواع اکسیژن فعال همانند رادیکال‌های هیدروکسیل، آنیون‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن به‌طور دائم توسط آرگانسیم‌های هوازی بدن تولید می‌شوند. اگرچه تولید میزان کمی از انواع اکسیژن‌های فعال در فرآیندهای سلولی لازم است، اما تجمع انواع اکسیژن فعال ممکن است به ماکرومولکول‌های زیستی آسیب برساند [۱]. متابولیسم اکسیژن در آرگانسیم‌های هوازی آثار مفیدی دارد، اما به موازات آن عوارض جانبی ایجاد می‌شود [۲]. رادیکال‌های آزاد تولیدشده در پراکسیداسیون لیپیدها عامل اصلی شروع تغییر میزان اسیدچرب هستند [۳]. آرگانسیم‌های هوازی دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که انواع اکسیژن فعال تولیدشده را حذف می‌کند [۴].

وجود مقدار کمی آنتی‌اکسیدان در فرآیندهای بیوشیمیایی در مقابل میکروآرگانسیم‌ها ضروری است [۴]. اثر دوزهای مختلف آسپرین بر پراکسیداسیون چربی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اریتروسیت‌ها و کبد مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که آسپرین اثر کمی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پر اکسیداسیون چربی دارد. [۵]. تصور بر آنست که پراکسیداسیون لیپید در پاتوفیزیولوژی تعداد زیادی از بیماری‌ها دخیل باشد [۶]. هایپرتری‌گلیسریدمی با افزایش غلظت لیپوپروتئین‌های شیولومیکرون، VLDL و IDL همراه است [۷]. ریسک فاکتور شناخته‌شده‌ای در آترواسکلروزیس است [۷]. اما نقش شیولومیکرون‌ها و VLDL در آترواسکلروزیس برای سال‌های زیادی مبهم مانده است [۷]. زمانی که MDA-LDL به‌عنوان شاخص اکسیداسیون LDL ارزیابی شد، این نسبت در مبتلایان به دیابت و هایپرتری‌گلیسریدمی نسبت به افراد سالم بیشتر بود [۷، ۸]. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از افراد سالم که مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی دریافت می‌کنند، افزایش می‌یابد [۹]. یکی از این آنتی‌اکسیدان‌ها ویتامین C است [۹]. در بیماران دیابتی وابسته به انسولین، خطر پیشرفت آترواسکلروزیس به‌طور وسیعی افزایش پیدا می‌کند [۱۰]. تغییرات در سیستم فیبرینولیتیک در هر دو نوع دیابت ملیتوس مشاهده شده است [۱۱]. در بیماری‌های کلیوی، آنتی‌اکسیدان‌ها پاسخ به آسیب کلیوی را تعدیل می‌کنند [۱۲]. برای کنترل جریان رادیکال‌ها، سلول‌های هوازی، سیستم آنتی‌اکسیدان را که شامل اجزای آنزیماتیک و غیرآنزیماتیک است، گسترش می‌دهند [۱۳]. سرولوپلاسمین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند [۱۳]. مطالعات نشان می‌دهند که سطح سرمی و کبدی فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در بیماران مبتلا به هیپاتیت C مزمن کاهش می‌یابد، رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیژن نقش اساسی در آسیب کبدی بازی می‌کنند [۱۴] و افزایش فیبروز با کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها همراه است [۱۴].

نمونه‌ها و نمونه‌های استاندارد اندازه‌گیری شد، به طوری که مقدار ۱۰ میکرولیتر از سرم یا استاندارد به ۱ میلی‌لیتر محلول کار اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه قرار داده شد و در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب هر یک از نمونه‌ها قرائت شد. براساس جذب نمونه‌های آزمایش و جذب استاندارد و ضریب ۱۰۰، غلظت گلوکز نمونه‌ها محاسبه شد.

**جداسازی اریتروسیت‌ها:** به هر لوله آزمایش با نوک اسپاتول مقدار ۰/۲ میلی‌گرم EDTA (Sigma؛ آلمان) و سپس مقدار ۳ میلی‌لیتر از خون تهیه‌شده از دم یا قلب موش صحرایی اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۴۰۰ rpm سانتریفیوژ (۲۰۰۰، Clement؛ استرالیا) و گلبول‌ها ۳ بار توسط محلول ایزوتونیک ۰/۹ NaCl٪ شسته شدند. پس از شست‌وشوی نهایی، سلول‌های قرمز خون توسط شوک هیپوتونیک، با آب مقطر سرد لیز [۲۰، ۲۱] و برای انجام آزمایش‌های بعدی ذخیره‌سازی و نگهداری شدند.

**محاسبه فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز:** ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ مولار بافر فسفات (Sigma؛ ایالات متحده) با pH ۷ و ۰/۱ میلی‌لیتر از همولیزات، ۰/۱ میلی‌لیتر از گلوکاتایون ردوکتاز (۲۴/۰ واحد؛ Merck؛ آلمان) و ۰/۱ میلی‌لیتر از گلوکاتایون احیاشده (Merck؛ آلمان) با غلظت ۱۰ میلی‌مول به همولیزات اضافه شد. این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۷°C انکوبه (گالن کامپ؛ انگلستان) و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلوئید فسفات (Merck؛ آلمان) (NADPH) ۰/۵ میلی‌مول اضافه و اکسیداسیون NADPH در مدت ۳ دقیقه کنترل شد. واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌مول آب‌اکسیژنه (Sigma؛ ایالات متحده) به حجم ۰/۱ میلی‌لیتر شروع و کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر برای مدت ۵ دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل CE1020 (سیسیل؛ انگلستان) کنترل شد. فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز بر حسب میکرومول NADPH در دقیقه در میلی‌لیتر همولیزات محاسبه شد [۱، ۶، ۱۳].

**اندازه‌گیری مقدار کربونیل:** ۰/۵ میلی‌لیتر از همولیزات در یک لوله آزمایش تهیه و سپس ۲ میلی‌لیتر ۲-۴ دی‌نیترو فنیل هیدرازین (Merck؛ آلمان) ۱۰ میلی‌مول به ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ مولار اضافه شد. در یک لوله آزمایش دیگر فقط ۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ مولار به ۰/۵ میلی‌لیتر همولیزات اضافه شد. هر ۲ لوله آزمایش در محیط تاریک و درجه حرارت اتاق به مدت ۴۵ دقیقه انکوبه شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه به هم زده شد. سپس مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر از تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ اضافه شد و لوله‌های آزمایش به مدت ۵ دقیقه در یخ قرار داده شد و پس از آن به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰ rpm سانتریفیوژ و پروتئین‌ها جداسازی و با ۲ میلی‌لیتر از محلول ۱۰٪ تری کلرواستیک اسید شسته شد؛ سپس با ۲ میلی‌لیتر اتانول (Sigma؛ ایالات متحده) - اتیل استات (Merck؛ آلمان) (۱:۱) ۳ بار شسته شد. ماده حاصل در ۱ میلی‌لیتر از

فاکتورهای دخیل در افزایش استرس اکسایشی در بیماران دیابتی شامل کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها (کاهش آسکوربات، گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسیددسموتاز)، گلیکاسیون پروتئین و افزایش تولید انواع اکسیژن فعال (سوپراکسید و پراکسید هیدروژن) است [۱۵]. در افراد سالم، مقدار مالون دی‌آلدئید به میزان کم و مقدار گلوکاتایون و گلوکاتایون پراکسیداز به میزان زیاد، بیشتر از افراد دیابتی است [۱۶]. ۶ هفته پس از ابتلا به دیابت افزایش قابل‌توجهی در پراکسیداسیون لیپید و اکسیداسیون پروتئین رخ می‌دهد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددسموتاز افزایش و فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز کاهش می‌یابد [۱۷]. مطالعات نشان می‌دهد که مقدار مالون دی‌آلدئید و کربونیل در بیضه موش دیابتی‌شده با تزریق استریتوزوتوسین تغییری نمی‌کند [۱۸].

با توجه مطالعات قبلی، انجام این پژوهش برای شناخت تغییرات بیوشیمیایی در سیستم دفاع مولکولی بدن در رابطه با بیماری دیابت ضروری است. هدف این پژوهش تعیین مقدار کربونیل، مالون دی‌آلدئید و میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز در اریتروسیت موش‌های صحرایی دیابتی بود.

## روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرایی در محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بابل تهیه و به ۲ گروه کنترل و دیابتی تقسیم شد. حیوانات در قفسه‌های پلاستیکی جداگانه و در شرایط استاندارد یکسان از نظر نور، آب و غذای فشرده، نگهداری شدند و شرایط کار و اصول اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی رعایت شد. در تمام مراحل انجام آزمایش، موش‌ها ابتدا توسط اتر بیهوش شدند.

موش‌های صحرایی گروه دیابتی با تزریق آلوکسان (Merck؛ آلمان) با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی دیابتی شدند. دیابتی شدن موش‌های صحرایی با اندازه‌گیری گلوکز سرم به روش آنزیمی تایید شد [۲۲]. زمان دیابتی شدن موش‌های صحرایی ۴ هفته پس از تزریق بود. در انتهای هر ماه برای تهیه نمونه خون، ابتدا موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی توسط اتر (Sigma؛ ایالات متحده) بیهوش شدند، سپس از طریق بریدن دم و در نهایت در انتهای آزمایش از طریق بیهوشی و کشتن آنها و خونگیری از قلب نمونه خون تهیه شد. مقدار گلوکز خون اندازه‌گیری (Merck؛ آلمان) و در صورت افزایش گلوکز سرم به بیش از ۱۳۹/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، حیوان دیابتی در نظر گرفته شد. گلوکز سرم در حضور آنزیم گلوکز اکسیداز و آب و اکسیژن به گلوکونیک اسید و آب‌اکسیژنه تبدیل می‌شود. سپس آب‌اکسیژنه تولیدشده در حضور بافر ترکیب ۴- آمینوآنتی‌پیرین و آنزیم پراکسیداز، به کینون و آب تبدیل می‌شود. شدت جذب کینون با مقدار گلوکز سرم متناسب است و در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب

محلول گوانیدین هیدروکلراید (۶مولار) (Merck؛ آلمان) حل و به مدت ۱۰ دقیقه در  $37^{\circ}\text{C}$  همراه با به هم زدن انکوبه و به مدت ۱۰ دقیقه در  $1400\text{ rpm}$  سانتریفیوژ شد. مقدار ۱ میلی لیتر محلول بالایی جدا و مقدار کربونیل در طول موج ۳۹۰-۳۵۵ نانومتر قرائت شد. مقدار کربونیل بر حسب نانومول در میلی لیتر همولیزات محاسبه شد [۱].

**اندازه گیری مالون دی آلدئید:** ۰/۲۵ میلی لیتر از همولیزات تهیه شده به ۰/۵ میلی لیتر از تری کلرواستیک اسید (Sigma؛ ایالات متحده) سرد ۱۰٪ اضافه شد؛ پس از رسوب پروتئین ها، از محلول بالایی ۰/۵ میلی لیتر برداشته و به ۰/۷۵ میلی لیتر تیوباربیئوریک اسید (Merck؛ آلمان) ۰/۶۷٪ اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از سرد نمودن، جذب نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد [۱، ۷، ۱۳].

میانگین و انحراف معیار داده ها با کمک نرم افزار آماري SPSS 18 محاسبه و با استفاده از آزمون T استودنت اختلاف بین گروه کنترل و دیابتی مشخص شد.

## نتایج

میانگین مقدار مالون دی آلدئید در اریتروسیت در گروه موش دیابتی ( $2/27 \pm 0/115$ ) میلی مول در میلی گرم پروتئین) نسبت به گروه کنترل ( $1/16 \pm 0/115$ ) میلی مول در میلی گرم پروتئین) افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). میانگین مقدار کربونیل در اریتروسیت گروه دیابتی ( $2/98 \pm 0/35$ ) میلی مول در میلی گرم پروتئین) نسبت به گروه کنترل ( $1/12 \pm 0/116$ ) میلی مول در میلی گرم پروتئین) افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). میانگین فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز نیز در اریتروسیت گروه دیابتی ( $5/73 \pm 0/45$ ) میکرومول NADPH در دقیقه در میلی گرم پروتئین) نسبت به گروه کنترل ( $2/98 \pm 0/33$ ) میکرومول NADPH در دقیقه در میلی گرم پروتئین) افزایش یافت ( $p < 0/05$ ).

## بحث

مقدار کربونیل در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار یافت. افزایش میزان کربونیل شاخص افزایش رادیکال های آزاد و نشانه اثر آن بر پروتئین های بدن است. این یافته با نتایج گزارش سایر محققان همسو است [۵].

مقدار مالون دی آلدئید در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری یافت. افزایش میزان مالون دی آلدئید شاخص افزایش رادیکال های آزاد و نشانه اثر آن بر چربی های بدن موش صحرایی است. این نتیجه با گزارش سایر محققان همسو است [۱۱، ۱۶]. تفاوت مقادیر مالون دی آلدئید در پژوهش بور و همکاران [۱۷] با یافته های پژوهش حاضر ممکن است به دلیل اختلاف روش ها، از

جمله روش های اندازه گیری، میزان دوز مصرفی آلوکسان، روش دیابتی کردن و زمان دیابتی کردن موش ها باشد. زمان دیابتی شدن موش آزمایشگاهی و شرایط اندازه گیری مالون دی آلدئید پژوهش حاضر با پژوهش بور و همکاران اختلاف دارد؛ علت این تفاوت، به کارگیری روش های مختلف و زمان دیابتی شدن موش آزمایشگاهی است. در پژوهش حاضر، زمان دیابتی شدن موش ۴ هفته پس از تزریق آلوکسان بود که با گزارش سایر محققان ۲ هفته اختلاف دارد. این اختلاف ممکن است به شرایط فیزیولوژیک تغذیه ای و محیطی موش های صحرایی مرتبط باشد.

فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش می یابد که با یافته های سایر محققان منطبق است [۵]. یکی از دلایل افزایش فعالیت این آنزیم در گروه دیابتی می تواند فعال شدن سیستم ایمنی و دفاعی بدن و آزاد کردن آنزیم آنتی اکسیدان در برابر تولید بالایی رادیکال های آزاد پس از دیابتی شدن باشد. براساس نتایج سایر پژوهش ها که از طریق تزریق استرپتوزوتوسین به مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش صحرایی انجام شد، ۱۰ هفته دیگر پس از تزریق استرپتوزوتوسین، مقدار مالون دی آلدئید و کربونیل در گروه دیابتی و غیردیابتی تغییری نمی کند [۱۸، ۱۹]. مقایسه یافته های پژوهش حاضر با پژوهش انجام یافته قبلی و اختلاف نتایج حاصل از این کار با وجود تشابه مقدار تزریق آلوکسان و دیابتی کردن موش آزمایشگاهی ممکن است به دلیل تفاوت سنجش این ترکیبات در بافت های مختلف باشد، چون توزیع بافتی آنزیم مورد نظر و تغییرات آن در بافت های مختلف و همچنین متابولیسم این ترکیبات متفاوت است. در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم در خون و اریتروسیت ها سنجیده شد، در صورتی که در مطالعه کروک و همکاران، بافت بیضه اندازه گیری شده است.

مقدار گلوکز سرم در موش صحرایی دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که با گزارش سایر محققان منطبق است [۱۰].

## نتیجه گیری

میانگین مقدار کربونیل به عنوان شاخص اکسیداسیون پروتئین ها و میانگین میزان مالون دی آلدئید به عنوان شاخص اکسیداسیون چربی ها و فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز به عنوان شاخص فعالیت آنتی اکسیدانی در موش های صحرایی دیابتی نسبت به موش های غیردیابتی افزایش می یابد.

**تشکر و قدردانی:** بدین وسیله از همکاری کارکنان محترم آزمایشگاهی بخش بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه علوم پزشکی بابل تشکر و قدردانی می شود.

12- Hahn S, Krieg RJ, Hisano S, Chan W, Kuemmerle NB, Saborio P. Vitamin E suppresses oxidative stress and glomerulosclerosis in rat remnant kidney. *Pediatr Nephrol.* 1999;13(3):195-8.

13- Taysi S, Demircan B, Akdeniz N, Atasoy M, Sari RA. Serum oxidant antioxidant status in patients with behcets disease. *Clin Rheumatol.* 2007;26(3):418-22.

14- Yadav D, Hertan HI, Schweitzer P, Norkus EP, Pitchumoni CS. Serum and liver micronutrient antioxidants and serum oxidative stress in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2002;97(10):2634-9.

15- Devaraj S, Hirany SV, Burk RF, Jialal I. Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F2-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clin Chem.* 2001;47(11):1974-9.

16- Ozdemir G, Ozden M, Maral H, Kuskay S, Cetinalp P, Tarkun I. Malondialdehyde, glutathione, glutathione peroxidase and homocysteine levels in type 2 diabetic patients with and without microalbuminuria. *Ann Clin Biochem.* 2005;42(2):99-104.

17- Bhor VM, Raghuram N, Sivakami S. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin induced diabetic rats. *Int J Biochem Cell Boil.* 2004;36(1):89-97.

18- Unlucerci Y, Bekpinar S, Kocak H. Testis glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activities in aminoguanidine treated diabetic rats. *Arch Biochem Biophys.* 2000;379(2):217-20.

19- Koruk M, Taysi S, Savas MC, Yilmaz O, Akcay F, Karakok M. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patient, with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Clin Lab Sci.* 2004;34(1):57-62.

20- Naguib YM. A fluorometric method for measurement of peroxy radical scavenging activities of lipophilic antioxidants. *Anal Biochem.* 1998;265(2):290-8.

21- Prasad K, Kara J. Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: Effect of vitamin E. *Am Heart J.* 1993;125(4):958-73.

22- Felaco M, Grilli A, De Lutiis MA, Patruno A, Libertini N, Taccardi AA. Endothelial nitric oxide synthase (enos) expression and localization in healthy and diabetic rat heart. *Ann Clin Lab Sci.* 2001;31(2):179-86.

## منابع

1- Mate JM, Aledo JC, Perez-Gomez C, Esteban del Valle A, Segura JM. Interrelationship between oxidative damage and antioxidant enzyme activities: An easy and rapid experimental approach. *Biochem Educ.* 2000;28(2):93-5.

2- Uslu C, Taysi S, Bakan N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in experimental maxillary sinusitis. *Ann Clin Lab Sci.* 2003;33(1):18-22.

3- Nigel Wardle E. Free radicals and lipid per oxidation in relation to path physiological mechanisms. *Saudi Med J.* 1990;11(3):180-1.

4- Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human disease. *Clin Biochem.* 1999;32(8):595-603.

5- Kirkova M, Ivancheva E, Russanov E. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in aspirin-treated rats. *Gen Pharmacol.* 1995;26(3):613-7.

6- Delmas MC, Beauvieux A, Penuchant E, Dumon MF, Receveur MC, Lebras M. Relationship between red blood cell antioxidant enzymatic system status and lipoperoxidation during the acute phase of malaria. *Clin Biochem.* 1995;28(2):163-9.

7- Kailash P, Jawahar K. Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: Effect of vitamin E. *Am Heart J.* 1993;125(4):958-73.

8- Kondo A, Muranaka Y, Ohta I, Notsu K, Manabe M, Kotani K. Relationship between triglyceride concentrations and LDL size evaluated by malondialdehyde-modified LDL. *Clin Chem.* 2001;47(5):893-900.

9- Leonard SS, Cutler D, Ding M, Vallyathan V, Castranova V, Shi X. Antioxidant Properties of fruit and vegetable juices: More to the story than ascorbic acid. *Ann Clin Lab Sci.* 2002;32(2):193-200.

10- Maxwell S, Holm G, Bondjers G, Wiklund O. Comparison of antioxidant activity in lipoprotein fractions from insulin dependent diabetics and healthy controls. *Atherosclerosis.* 1997;129(1):89-96.

11- Skrha J, Hodinar A, Kvasnicka J, Hilgertova J. Relationship of oxidative stress and fibrinolysis in diabetes mellitus. *Diabet Med.* 1996;13(9):800-5.

