الترقيم الدولي ٨٦٩٠ ـ ١٩٩١ ISSN 1991- 8690
Email: utjsci@utq.edu.iq website: http://jsci.utq.edu.iq

مستوى الهيموغلوبين المسكر HbA1C وفرط الاكسدة في مرضى السكري

فراح غالي الصالحي
كلية التربية للبنات

منال عدنان ابراهيم
كلية العلوم

جامعة تكريت

الملخص

تضمن البحث دراسة (140) شخصا من الذكور والإناث منهم (55) شخصا من الأصحاء و (43) شخصا من المصابين بالداء السكري من النوع (I) و (٤٢) شخصا مصابا بالداء السكري من النوع (II). حيث تبين وجود ارتفاع معنوي عالي عند مستوى p=0.0001 في كل من مستوى الكلوكوز ١٢,٢٢ ± ٣,٩٦ و ١٣,٥٢± ٣,٩٦(mmol/L) لكلا النوعين مقارنة بالاصحاء ٤,٦٣ ± 0.66 (mmol/L) ، والهيموغلوبين المسكر (HbA_1c) 7.16±0.62 , 8.66 ± 0.50 (µmol/L) لكلا النوعين مقارنة بالاصحاء 3.83 ± 0.40 (µmol/L).

وشمل البحث ايضا متابعة فرط الاكسدة التي تحصل في مرضى السكري من خلال مستوى المالون داي الديهايد حيث تبين ارتفاع ملحوظ في مستواه في بلازما الدم للمرضى بمستوى p=0.0001 ٧,٢٢ ±٠,٦٧ و١٧,٨٨±٠,٧٨ (nmol/L) مقارنة مع الاصحاء ٤,٨٨±٠,٥٢ (nmol/L).

كما وتضمن هذا البحث استخراج علاقة الارتباط بين بعض المتغيرات الكيموحيوية التي تم قياسها فوجدت علاقة طردية بين الهيموغلوبين المسكر HbA_1c وكلوكوزالدم (B.S) للنوع الاول والثاني لمرضى السكري وكان معامل الارتباط يساوي (0.397 ، 0.388) لنوعي المرض على التوالي . وكذلك وجدت علاقة طردية تربط بين المالون داي الديهايد MDA والكلوكوز في الدم بمعامل ارتباط (0.609 ، 0.627) للنوعين على التوالي.

المقدمة:

يعد داء السكر من اكثر الامراض المزمنة شيوعا في العالم اذ يقدر عدد المصابين بـه ١٢٠ مليـون شـخص ويتوقع ان يصل عدد المصابين به الى ٢٢٠ مليون شخص بحلول عام ٢٠٢٠[١] . إن الأسباب المباشرة لحـدوث المرض لازالت مجهولة الا إن هنالك عوامل عدة تساعد على ظهور الحالة المرضية منها العامل الوراثي ، خلل في المناعة الذاتية Autommunity، اختلال في التوازن الهرموني ، السمنة[٢،٣،٤] . وللعامل الوراثي أهمية فـي انتقال داء السكر في العائلة الواحدة ، حيث أظهرت نتائج البحوث انه في العائلات التي لديها طفل مصاب بـداء السكر المعتمد على الأنسولين (IDDM) ، فان احتمال إصابة الطفل الثاني تزداد بنسبة ٨% [5] . ويصـاحب الإصابة بهذا المرض العديد من المضاعفات التي تتمثل بحالات الفشل الكلوي وحالات بتر الإطراف والإصـابة بالعمى[6] .

ان مرضى السكري يكونوا معرضين الى زيادة في فرط الاكسدة Oxidative Stress ، حيث لوحظ بأن ارتفـاع سكر الكلوكوز المزمن يعتبر أحد المسببات الرئيسية في انتاج الجذور الحرة، وذلك بسبب قدرة الكلوكـوز علـى التأكسد الذاتي لتحرير أنواع مختلفة من جذر الأوكسجين الحر كجذر السوبر اوكساید وجذر الهيدروكسيل وجـذر أوكسيدالنتريك، والتي تقوم بإتلاف الجزيئات الحيوية المختلفة في الأنسجة [٧]، وكذلك يحصل تسكير غير إنزيمي للهيموغلوبين الذي يعد تفاعل كيمائي تلقائي يحدث بين الكلوكوز ومجموعات الأمين في الحامض الاميني الفالين، مما يؤدي إلى تكون قواعد شف ومركبات Amadori الأكثر استقرارا [٨] .

ويعد المالون داي الديهايد (MDA) واحدة من اهم الدلائل التي تستعمل للبحث عن فرط الاكسدة في انسجه الجسم حيث ينتج من خلال الاكسدة الفوقيه للدهون غير المشبعه وبالاخص التي تحتوي على اصرتين مزدوجه او ثلاثة وعادة ماتزداد مثل هذه الاكسدة في مرضى السكر بنوعيه المعتمد وغير المعتمد على الانسولين [9].

لذا فقد شملت هذه الدراسه تحديد مستوى الهيموغلوبين المسكر ومتابعه فرط الاكسدة التي تحصل فـي مرضـى السكر من خلال قياس مستوى المالون داي الديهايد في هؤلاء المرضى.

خطوات العمل:

لقد شمل هذا البحث (٨٥) حالة من المرضى المصابين بداء السكري في مدينة تكريت حيـث وجـد أن (٤٣) مريضاً منهم مصاب بداء السكري من النوع الأول(Type I) وتراوحت أعمارهم من (١٦ – ٣٩) سـنة وكـان عدد الذكور (٢٥) و (١٨) حالة مرضية بالنسبة للإناث،وأن (٤٢) مريضاً منهم مصاب بداء السكري من النـوع الثانـي (Type II) وتراوحت أعمارهم من (٤١ – ٧١) سنة وكان عدد الذكور(٢٤) و (١٨) حالـة مرضـية بالنسبة للإناث وقد تم المقارنة مع (٥٥) حالة من الأصحاء من طلبة كلية الطب/جامعة تكريت والكادر الطبي في مستشفى تكريت التعليمي تراوحت أعمارهم بين (٦ إلى ٧٥) سنة وشملت على (٣٣) ذكراً و(٢٢) حالة بالنسبة للإناث.

تقدير مستوى الكلوكوز في الدم:

تم تقدير مستوى الكلوكوز في الدم باستخدام الطقم الجاهز (Kit) المجهز من شركة Randox England وحسب الطريقة الأنزيمية المبنية على تفاعل Trinder(١٠) وكما في المعادلات آلاتية :-

$$\text{Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Glucose Oxidase}} \text{Gluconate} + H_2O_2$$

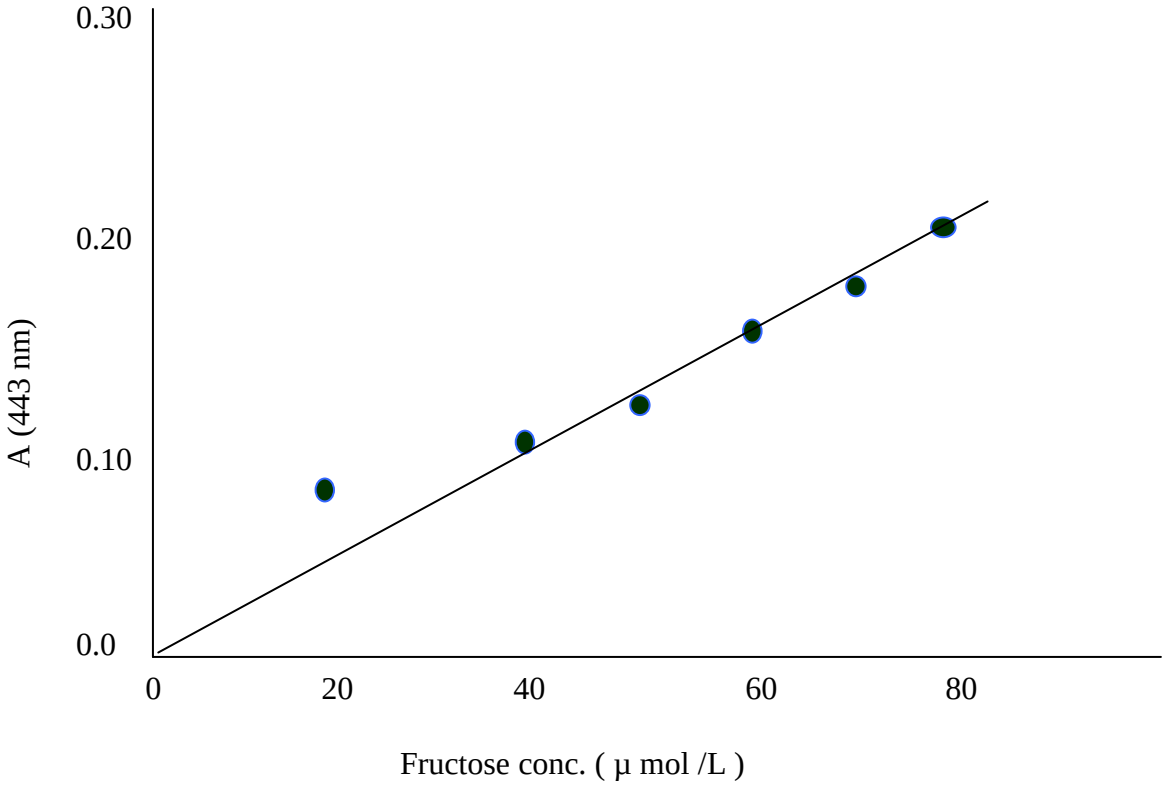
$$2H_2O_2 + \text{Phenal} + \text{4-amino-antipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{red quinonimin} + 4\,H_2O$$

حيث تم قياس امتصاصية المحلول القياسي والنموذج مقابل الكف عند الطول الموجي (٥٦٠nm) بواسطة جهاز المطياف وتم حساب تركيز الكلوكوز في الدم حسب المعادلة التالية :

$$\text{Concentration of Glucose (mmol/L)} = \frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \times \text{concentration of standard (5.55mmol/L)}$$

تقدير تركيز الهيوغلوبين المسكر :

تم قياس الهيوغلوبين المسكر من نوع HbA_1c باستخدام الطريقة اللونية [١٢،١١] . حيث تعتمد هذه الطريقة على مبدأ تحول مجموعة سكر الكلوكوز المرتبط بجزيئة الهيموغلوبين الى مركب هيدروكسي مثيل فورفوال 5-hydroxy-methyl furfural تحت ظروف حرارية شديدة وضغط عالي بوجود حامض ضعيف(حامض الاوكزاليك0.5M) وبتفاعل هذا المركب مع كاشف حامض الثايوباربتيورك Thiobarbituric Acid (TBA) ينتج المحلول الملون النهائي الذي تقاس شدة امتصاصيته باستخدام جهاز المطياف عند طول موجي (443nm) . ومن ثم يقاس تركيز HbA1c ممثلا بتركيز الفركتوز في المنحنى القياسي للفركتوز والموضح في الشكل(١) .



شكل (1) المنحني القياسي للفركتوز

وقد تم حساب HbA1c وفق المعادلات التالية:

$$\text{تركيز الهيموغلوبين (µmol/L)} = \frac{\text{تركيز الهيموغلوبين (gm/L)} \times \text{عامل التخفيف (D.F)} \times ١٠^{٦}}{\text{تركيز } (HbA_1c)\ (\mu mol/L)}$$

$$\text{النسبة المئوية لتركيز الهيموغلوبين المسكر في كريات الدم الحمراء} = \frac{\text{الوزن الجزيئي للهيموغلوبين (٦٤٠٠٠)}}{\text{تركيز الهيموغلوبين (µmol/L)}} \times ١٠٠$$

تعيين مستوى المالون داي الديهايد :

تم تعيين MDA في البلازما وفق طريقة Aust والمعتمدة على تفاعل حامض الثايوبـاربتيورك والمـالون داي الديهايد ليعطي معقدا لونيا تقاس امتصاصيته عند طول موجي 535nm [١٤،١٣] . وتم الحساب حسـب المعادلـة التالية:

$$MDA = \frac{A_T - A_B}{1.56 \times 10^5 \ (L/mol.Cm)} = n \text{ mol /L}$$

التحليل الإحصائي:

لتحديد نتائج البحث احصائياً تم اعتماد اختبار الطالب t مـن الجـانبين Students T.... Test 2 tails لتحديـد الاختلافات المعنوية بين متوسطات القيم بمسـتوى دلالـة P=0.0005 , P=0.0001 باسـتخدام طريقـة (ANOVA) ، وقد ربطت بعض المتغيرات مع بعضها علـى شـكل معامـل الارتبـاط الخطـي Linear Correlation Cofficient وتم قياس قوة الارتباط من خلال معامل بيرسون العزومي للارتباط بمستوى دلالـة P=0.0005 , P=0.0001 للتعبير عن الارتباط المعنوي [١٥] .

النتائج والمناقشة :

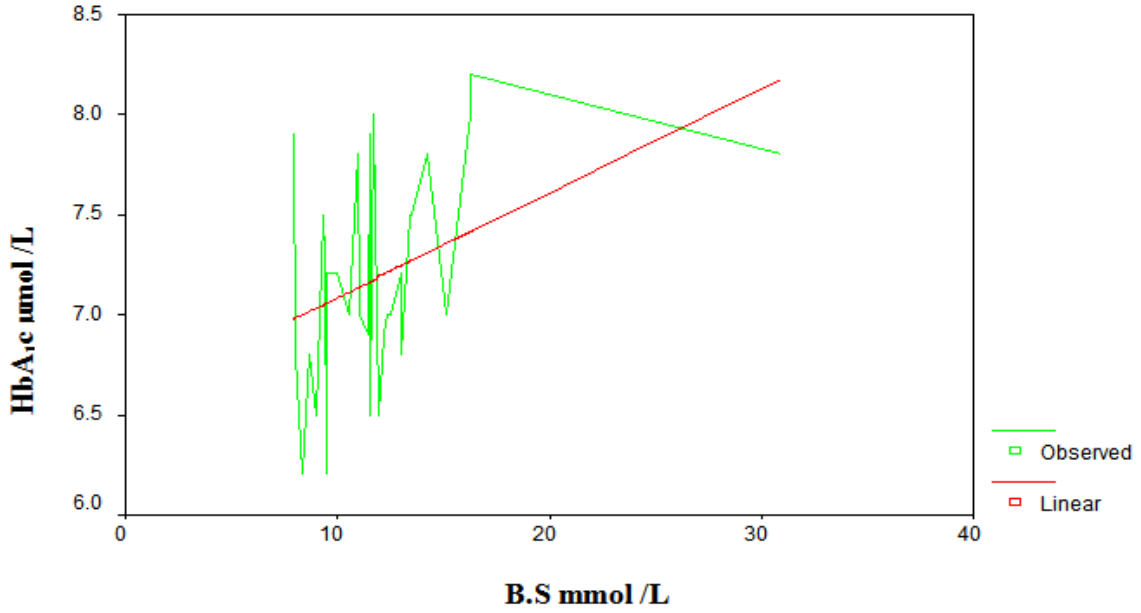
لقد اوضحت نتائج هذه الدراسة عدم وجود فروق معنوية بين الذكور والاناث لكلا نوعي المرض المعتمد وغيـر المعتمد على الانسولين لذا فقد تم اعتماد العدد الكلي للمرضى والاصحاء في جداول واشكال هذه الدراسة . يبـين الجدول (١) مستوى الكلوكوز والهيموغلوبين المسكر HbA1C في الاصحاء ومرضى السكر بكلا نوعيه , حيث يشير الى وجود ارتفاع معنوي ملحوظ بمستوى P=0.0001 لمستوى كلكوز الدم والهيموغلوبين المسكر لمرضى السكر . فقد كان معدل HbA1C في مرضى السكر المعتمد على الانسولين (7.16±0.62 µmole/l) وكـذلك الحال بالنسبة لمرضى السكر غير المعتمد (8.66±0.50 µmole/l) مقارنة بالاصحاء حيـث كـان مسـتوى HbA1C (3.83±0.4 µmole/l).

جدول رقم (١):يبين مستوى الكلوكوز والهيموغلوبين المسكر HbA1c في الأصحاء ومرضى السكري بكلا نوعيه

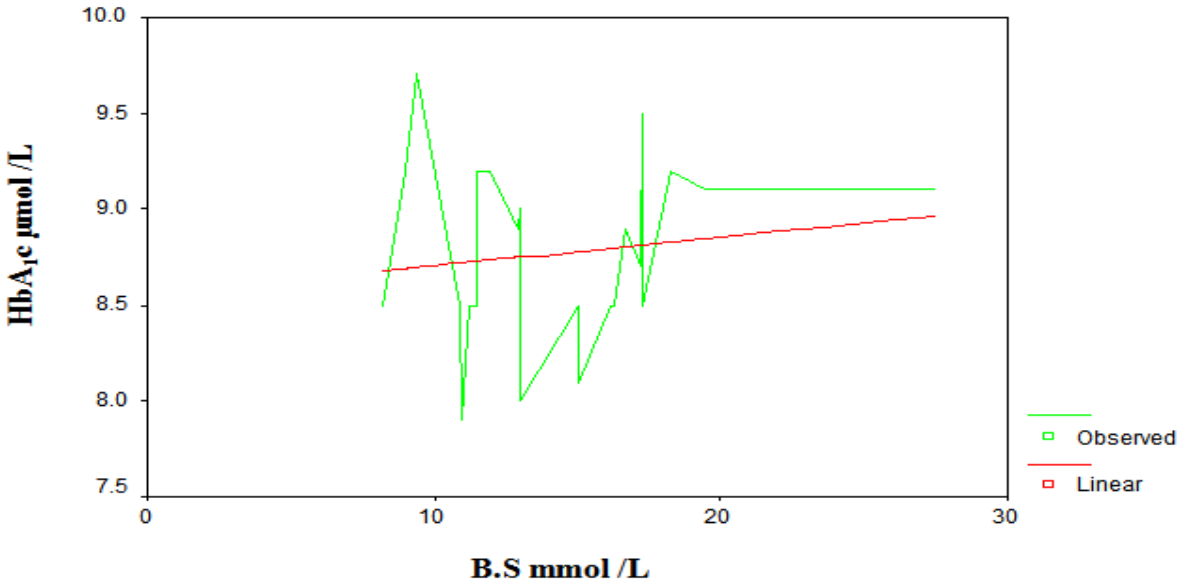
المجموعة	العدد	العمر/ بالسنوات	مستوى الكلوكوز (mmol/L) المعدل ±S.D	مستوىHbA1c (µmol/L) المعدل ±S.D	P-Value
الأصحاء	55	75-6	0.66±4.63	0.40 ± 3.83	-
IDDM	43	39-16	3.96±12.22	0.62± 7.16	0.0001
NIDDM	42	71-41	3.96±13.52	0.50± 8.66	0.0001

إن فحص HbA_1c يعطي صورة واضحة عن مدى حالة الشخص المصاب بالسكري وذلك لأن HbA_1c موجود في كريات الدم الحمراء ، وحيث إن عمر هذه الكريات بحدود (٣) اشهر ، لذا فان قياس HbA_1c يعطي صورة دقيقة وواضحة عن حالة الشخص المصاب خلال (٣) اشهر بعكس فحص مستوى السكر بالدم الذي يعتبر متغيرا حسب ما يتناوله الشخص المصاب من الغذاء أو الدواء وهذه النتائج تتفق مع نتـائج الباحـث (Al-Azzawi 2004) [١٦] .

أنّ الشكل رقم (٢) يوضح علاقة الارتباط بين مستويات HbA_1c وكلوكوز الدم لمرضى السكري (النوع الأول) حيث إن هنالك تغيراً ملحوظاً بمستوى P=0.0001 وبمعامل ارتباط=٠,٣٩٧. بينما يوضح الشكل (٣) هذه العلاقة لمرضى السكري غير المعتمد (النوع الثاني) حيث ان هنالك تغيرا ملحوظا بمستوى(0.0001)=P وبمعامل ارتباط = (0.388). وهذه النتائج التي تم الحصول عليها تتفق مع ما توصل إليه كل من الباحثين (Omer,2000)[١٧] و(Blaktny, 1992)[١٨].



الشكل رقم (٢): العلاقة بين مستويات الهيموغلوبين المسكر والكلوكوز لمرضى السكري من النوع الأول



الشكل (٣): العلاقة بين مستويات الهيموغلوبين المسكر والكلوكوز لمرضى السكري من النوع الثاني

أنَّ العلاقة بين مستويات HbA_1c المتكونة ومرضى السكري علاقة وثيقة تعتمد على تراكيز كلوكوز الدم التي تتعرض لها كريات الدم الحمراء خلال مدة وجودها في المجرى الدموي والذي يؤدي بدوره إلى الارتباط بجريئة الهيموغلوبين، وهكذا يلاحظ بأن قياس مستوى الهيموغلوبين المسكر (HbA_1c) يعد من الأدلة الدقيقة لقياس مستوى تركيز الكلوكوز بالدم[١٩] .

وعند قياس مستوى المالون داي الديهايد (MDA) وجد ارتفاعاً ملحوظاً بمستواه في بلازما الدم لمرضى السكري المعتمد على الأنسولين (IDDM) مقارنة بالأصحاء بمستوى P=0.0001 وبمعدل (7.2256± 0.6709)،وكذلك بالنسبة لمرضى السكري غير المعتمد على الأنسولين حيث كان بمستوى P=0.0001 وبمعدل (١٧,٨٨٢١±٠,٧٨٣٧) وكما موضح بالجدول رقم (٢).

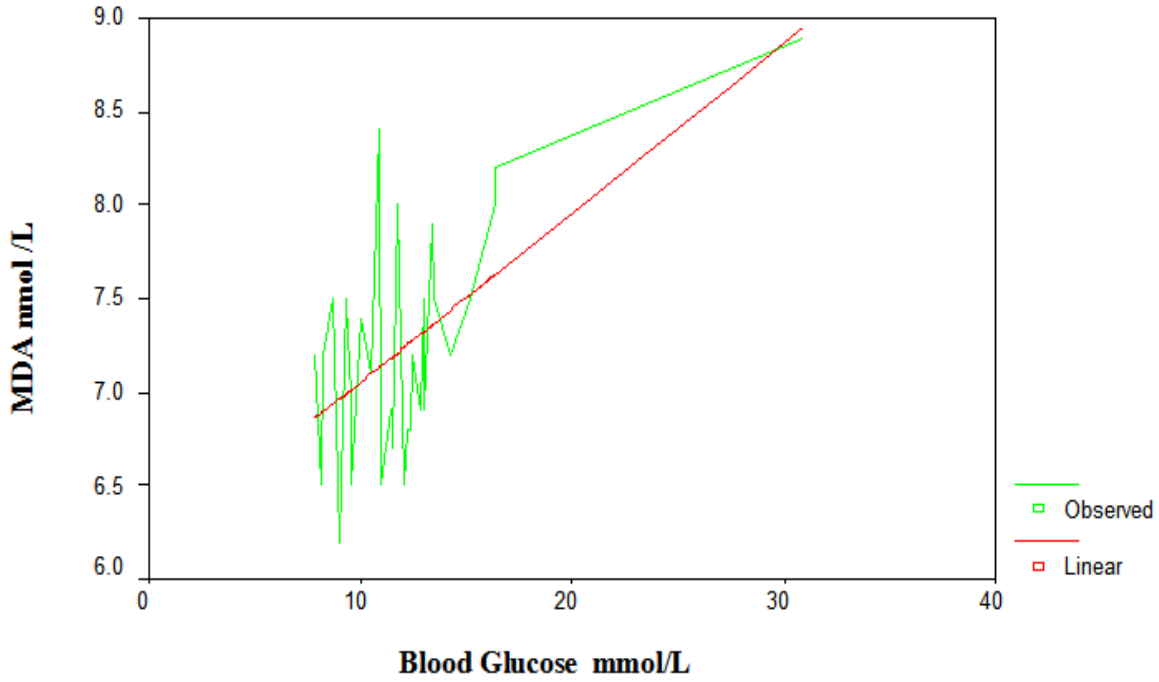
الجدول رقم (2) : يبين مستوى المالون داي الديهايد في الاصحاء ومرضى السكري بكلا نوعيه

المجموعة	العدد	العمر/ بالسنوات	مستوى MDA (nmol/L) المعدل± S.D	T	P-Value
الأصحاء	55	75-6	0.52±4.88	-	-
IDDM	43	39-16	0.67±7.22	-18.898	0.0001
NIDDM	42	71-41	0.78±17.88	-92.966	0.0001

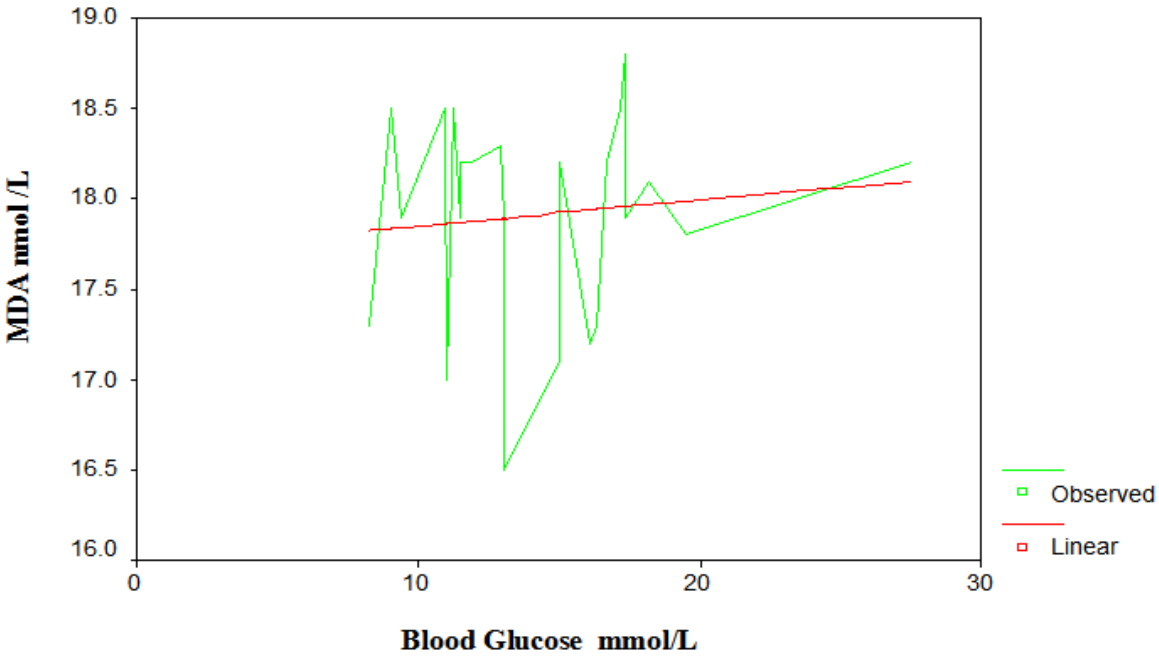
ان دور ايض المالون داي الديهايد (MDA) يكمن في أرتباطه بالمجاميع الفعالة للكثير من المركبات الحيوية الموجودة داخل الخلايا ومنها (مجاميع الأمين للبروتينات وقواعد الأحماض النووية والقواعد النتروجينية واللبيدات الفسفورية ومجاميع SH وفي مركبات الثايول[٢٠] .

فيلاحظ تفاعل MDA مع المجاميع الأمينية للأحماض الامينية وخاصة المجاميع الطرفية في اللايسين مكوناً معقد MDA-lycine كنتائج أيضي للإدرار في الفئران والأنسان [٢١]. وبالتالي فأن MDA له دور في تكوين LDL المؤكسد حيث يتفاعل MDA مع بروتينات (apo-B) وخاصة الحامض الأميني (Lysin) الموجود في بروتينات apo-B،مما يؤدي إلى تغيير تركيبLDL- C[٢١]. لذا يلاحظ أن الأبحاث تؤكد على الترابط بين زيادة الأكسدة بالجسم مع زيادة LDL-C المؤكسد وزيادة أمراض تصلب الشرايين التي تعتبر من مضاعفات مرض السكري[٢٢] إن فحص MDA يعتبر ضروري لمعرفة الأكسدة الداخلية بالجسم وبالأخص الأكسدة الفوقية للدهون غير المشبعة وعلاقتها بتطور مرض السكري ومضاعفاته.[9]

من خلال الشكلين (٤) و (٥) يلاحظ وجود علاقة ارتباط موجبة بين كلوكوز الدم و MDA لكلا النوعين حيث إن هنالك تغيراً ملحوظاً P=0.0001 وبمعامل ارتباط (٠,٦٠٩،٠,٦٢٧) على التوالي . إن ارتفاع مستوى السكر في داخل الخلايا يمكن أن يؤدي إلى زيادة الأكسدة الذاتية وانتاج جذر الأوكسجين الحر، كما تم ملاحظته في ارتفاع مستوى MDA المبين في الجدول (٢) ، وكذلك الارتفاع في السكري يؤدي إلى تسكير (glycation) بعض البروتينات كما هو الحال في توليد الهيموغلوبين المسكر وارتفاع مستواه لدى مرضى السكري[١٨].



الشكل رقم(٤): العلاقة بين مستويات المالون داي الديهايد والكلوكوز لمرضى السكري من النوع الأول



الشكل رقم (٥) :العلاقة بين مستويات المالون داي الديهايد والكلكوزلمرضى النوع الثاني

References

المصادر:

١. اليوسفي ، خليل، مرضى السكري المجلة الطبية الكويتية، الكويت (٢٠٠٤) .

٢. راشد ، وائل احمد ، تعريف بداء السكري،مجلة نادي نوفو،العدد الرابع،عمان،الأردن (٢٠٠٤).

٣. ابو صالح : محمد صبحي ، عوض : عدنان محمد " مقدمة في الاحصاء " ، دار جون وايلـــي وابنـــاءه للنشـــر ، (١٩٨٣)، ص١٦٥-١٩٤.

4. Burtis,C.A, Ashwood,E.R, Tietz, "fundamentals of Clin.chem.",4th ed. ,(1996). PP: 308-312 W.B. Saundrs Co; Philadephia.
5. Davidsons "Principles and Practice of medicine".18th ed.Printed in the U.K. , (1999),PP. 34-37 .
6. Fredde,G.F;Many,E.W; Bonita,H.F.JAMA. , (1985)254:1469.
7. Birtannica "Diabetes Mellitus", Causes and types.Deluxe ed (2002).P.55
8. Hunt, J.Y., Dean, R.T. and Wolff, S.P., Biochem. J. ,(1988), 256:203
9. Arslanian, S., Becker, D., Drash, A: "Diabetes mellitus in the child and adolescent. In The Diagnosis and Treastment of Endocrine Disorder in childhood and Adolescent". Kappy Ms., Blizzard RM, Migeon CJ., EDS. Spring filed ,II Thomas,(1994), PP.961-1026.
10. Shibayma, R., Araki, N. and Nagai, R., Diabetes. ,(1999), 48(9),1842-9
11. Trinder, P. "Determintion of glucose by oxidase enzyme method", Ann Clin. Biochem. , (1969), 6:24-27
12. Shapiro, R, McManus, MJ, Zalut, C, Bunn, HF ."Sites of nonenzymatic glycosylation of human hemoglobin" J. Biol. Chem., (1980) , 255:3120-3127.
13. Roberts, NB, Green, BN, Morris, M. ,"Potential of electrospray mass spectrometry for quantifying glycohemoglobin" .Clin. Chem.,(1997) 43 : 771-778 .
14. Aust, S.D. & Buega, J.A. "Method Enzymol",1st ed. (1978); 52;302.
15. Fong, K.L.,Mc Cay, P.B. & poyer,J..J.Biol. Chem.,(1973),248:7792
16. Al-Azzawi, H.F.,Ph.D. Thesis University of Baghdad ,(2004).
17. Omer, A.J. "New Biochemis of indices for metabolic control of Diabetes Mellitus". M.S.C. Thesis College of Medicin, Baghdad 7University,(2000).
18. Blaktny, R. and Harding, J., Biochem. J., (1992),288,303-307.
19. Bursell, S.E. and King, G.L. Clin.Chem., (2000),46,145.
20. Lunec, J. , "Reviw Artice Ann" , Clin. Biochem, (1990),27:173-182
21. Niskanen, L.K., Salonen, J.T., Nyysonen,K. and Usitupa , M.I., Diabet. Med., (1995), 12(9),802-8.
22. Inouge , M., Nio, J., and Sumino, K.,Clin. Chem. Acta ,(1999), 285:PP.35-44.
23. Oberly, LW. "Free radicls and diabetes". Free Radic Biol Med., (1988), 5:PP.113-124.

Glycated Hemoglobin HbA1C and Oxidative Strees Levels in Diabetic Patients

Ferah Gh. Al-Salihi* **Manal A. Ibrahim****

*Dept. Of chemistry - College of Education For Women

**Dept. Of chemistry - College of Science

University of Tikrit- IRAQ

Abstract

This study was performed on (85) diabetic patients , classified as follows : 43 patients of type I (25 male and 18 femels) and 42 patients of type II (24 males and 18 femels .In addition , 55 healthy subjects were investigated as a control group.

Both types showed a highly significant increase (P=0.0001) in blood glucose level ; 12.00 ± 3.96 mmole/l and 13.52 ±3.96 mmole/ l . for type I and II respectively compared to healthy subjects 4.63± 0.66 mmmole/l .

This study also included the estimation of different biochemical parameters (Glycated hemoglobin HbA_1c and malondialdehyde (MDA) in diabetic patients, in which both types showed a highly significant increase (P=0.0001) in blood HbA_1 level ; 7.16 ± 0.62 µmole/l and 8.66 ± 0.50 µmole/l for type I and II respectively compared to healthy subjects 3.83 ± 0.40 µmole/l and in MDA level ; 12.22 ± 3.96 nmole/l and 13.52 ± 3.96 nmole/l for type I and II respectively compared to healthy subjects ; 14.63 ± 0.66 nmole/l .

The results of this study revealed a positive correlation of blood glucose level with glycated hemoglobin HbA_1c for diabetic patients –type I(Correlation Coefficient =0.397) and type II (Correlation Coefficient =0.388) . Blood glucose level had a positive correlation also with malondialdehyde (MDA) with correlation Coefficient =0.609 and 0.627 for type I and type II respectively .