



Iron Homostatin as a Marker on the Oxidative Stress in Patients for Diabetes Mellitus Type 2

Saada M. Ali Younis Al-Hamadany
mohanad.a1986@gmail.com

Dr. Rukzan M. Dawood Al-Saffar
ruzan.saffar@gmail.com

Department of Chemistry / College of Education for Girls
University of Mosul

Dr. Layla Abdulla Mustafa
Department of Chemistry / College of Science
University of Mosul
Layla.mustafa@gmail.com

DOI: [10.33899/edusj.2019.162954](https://doi.org/10.33899/edusj.2019.162954)

Received
06 / 02 / 2019

Accepted
12 / 03 / 2019

ABSTRACT

The study included measurement of the level of glucose, iron, ferritin, transferrin, Total iron binding capacity, Ceruloplasmin Ferroxidase activity, peroxidase activity and lipid peroxidation in the serum of people with type 2 diabetes mellitus (T₂DM). The study included (90) blood samples and divided into three groups (I, II, III) each of them (30) samples, (I) control group, (II, III) Type 2 diabetes patients with complications and without of complications, respectively. The results showed a significant increase in the level of glucose, iron, ferritin and lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes with and without complications respectively compare with control group. While a decrease was observed efficacy of peroxidase and ferroxidase in patients Compare with control group as well as decreased transferrin and total iron binding capacity.

Key word : T₂DM, ferritin, iron, ferroxidase, TIBC.

استقلاب الحديد كمؤشر على الكرب التأكسدي لمرضى داء السكري من النوع الثاني

سعدة محمد علي يونس الحمداني mohanad.a1986@gmail.com
أ.م.د. ركزان محمود داؤود ruzan.saffar@gmail.com

قسم الكيمياء / كلية التربية للبنات
جامعة الموصل

أ.م.د. ليلى عبدالله مصطفى
قسم الكيمياء / كلية العلوم
جامعة الموصل

Layla.mustafa@gmail.com

DOI: [10.33899/edusj.2019.162954](https://doi.org/10.33899/edusj.2019.162954)

القبول

2019 / 03 / 12

الاستلام

2019 / 02 / 06

الخلاصة

تضمنت الدراسة قياس مستوى كل من الكلوكوز والحديد والفريتتين والترانسفيرين وسعة ارتباط الحديد الكلية وفعالية إنزيم السيرويلوبلازمين فيرواوكسيديز والبيروكسيديز والمالوندايديهايد في مصل دم الأشخاص المصابين بالنوع الثاني من داء السكر. وشملت الدراسة (90) عينة دم وقسمت الى ثلاث مجاميع لكل منهم (30) عينة، (I) مجموعة السيطرة، (II , III) ومجموعة المرضى المصابين بالنوع الثاني من داء السكر بوجود المضاعفات وعدم وجود المضاعفات على التوالي. اشارت النتائج الى وجود زيادة معنوية في مستوى الكلوكوز والحديد والفريتتين وبيروكسيد الدهن في مصل دم المرضى المصابين بالنوع الثاني من داء السكر عند وجود المضاعفات وعدم وجودها في المجموعة (II , III) على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة. في حين لوحظ انخفاض فعالية إنزيم البيروكسيديز والفيرواوكسيديز في المرضى مقارنة مع مجموعة السيطرة إضافة الى انخفاض الترانسفيرين وسعة ارتباط الحديد الكلية.

الكلمات الدالة: داء السكر من النوع الثاني، الفريتتين، الحديد، الفيرواوكسيديز، سعة ارتباط الحديد الكلية

المقدمة Introduction

داء السكر Diabetes mellitus : مرض مزمن يتميز بارتفاع السكر في الدم ويصاحبه اضطرابات في أيض الكربوهيدرات والدهون والبروتينات الناتج عن عيوب في إفراز الأنسولين أو عمل الأنسولين أو كليهما [1]. ويتزايد انتشاره في جميع أنحاء العالم، وإن الأشخاص الذين يعيشون مع داء السكر من النوع الثاني هم أكثر عرضة للإصابة بمضاعفات مثل اعتلال العين واعتلال الأعصاب واعتلال الكلى وغيرها من المضاعفات التي غالباً ما تؤدي إلى وفاتهم المبكرة [2].

الحديد هو عنصر انتقالي مهم جدًا للخلايا في الجسم، ويرتبط توازنه غير الطبيعي مع التسبب في الأمراض المزمنة المختلفة بما في ذلك مرض السكر [3]. وتكمن أهمية الحديد في السهولة التي يتأكسد بها ويختزل [4]، ويؤثر زيادة تراكم الحديد على تخليق وإفراز الأنسولين من البنكرياس [5]. إضافة إلى أن ترسب الحديد في الكبد يسبب مقاومة الأنسولين، وذلك عن طريق التدخل في قدرة الأنسولين على كبت إنتاج الكلوكوز الكبدية، إضافة إلى أن الحديد يحفز تحويل الجذور الحرة المتفاعلة بشكل سيء مثل (H₂ O₂) إلى جزيئات شديدة التفاعل مثل جذر الهيدروكسيل وانيون فائق الأكسدة، وبالتالي فإنها تبدأ تنتشر وتؤدي إلى أضرار مؤكسدة [6].

الفريتين هو عبارة عن بروتين يوجد في كل مكان داخل الخلايا، ويقوم بتخزين الحديد، وهو مؤشر لمخازن الحديد في الجسم، وترتبط هذه المخازن في الجسم بشكل إيجابي مع ارتفاع كلوكوز الدم في ظهور النوع الثاني من داء السكر [7].

يتكون الفريتين من 24 وحدة فرعية تترتب بشكل ثلاثي الأبعاد للتخزين الديناميكي للحديد، وله وزن جزيئي 420 كيلودالتون [8]. والدور الرئيس للفريتين هو عزل الحديد وإدخاله، وبهذا فهو يعمل كفيروأوكسيداز لتحويل Fe²⁺ إلى Fe³⁺ وتخزينه في تجويفه المركزي [9]، ولكنه يوفر الحديد لآليات الأنسجة المختلفة، كما أنه يحمي الأنسجة من التأثيرات السامة للحديد [10]. الترانسفيرين هو بروتين سكري ويحتوي على 679 حامض اميني، له وزن جزيئي يبلغ 80 كيلودالتون الذي يرتبط بالحديد Fe³⁺ ويعمل على نقل الحديد في البلازما وتسليمها إلى خلايا مختلفة حسب الحاجة [11]، والسيرويلوبلازمين فيروأوكسيداز [EC 1.16.3.1] وهو انزيم الفيروأوكسيداز في الإنسان، تم ترميزه بواسطة جين Cp، وهو عبارة عن بروتين سكري يحمل النحاس في الدم، إضافة إلى ذلك فإنه يلعب دورًا في استقلاب الحديد وتم وصفه لأول مرة في عام 1948م، وهناك بروتين آخر يسمى هيفاستين يشبه السيرويلوبلازمين، يشارك أيضا في استقلاب الحديد والنحاس [12]، ويتم تكوينه في الكبد ويحتوي على 6 ذرات من النحاس في هيكله. ويظهر السيرويلوبلازمين نشاط Oxidase المعتمد على النحاس الذي يرتبط بالأكسدة المحتملة ل Fe²⁺ إلى Fe³⁺ وبالتالي يساعد على نقله في البلازما بالتعاون مع الترانسفيرين، والذي يمكن ان يحمل الحديد في حالة الحديد فقط، وله وزن جزيئي 151 كيلودالتون [13]. انزيم البيروكسيداز [EC 1.11.1.7] يعد من أحد أهم مضادات الأكسدة الانزيمية، يوجد في أغلب الأنسجة مثل الطحال والكبد وجدار المعدة، ويمتلك هذا الانزيم دورًا مضادًا للبكتيريا، ويدافع عن الخلية ضد الكرب التأكسدي الناتج عن أصناف الأوكسجين الفعالة، يبلغ الوزن الجزيئي له 75-100 كيلودالتون، ويتكون من أربعة وحدات ثنائية متماثلة، وكل وحدة تحتوي على ذرة السلينيوم في الموقع الفعال [14]. الجذور الحرة مسؤولة عن أمراض كثيرة وتعمل على إلحاق الضرر بمكونات الخلية والهدف الرئيس لتفاعلات تلك الجذور الحرة هي الأغشية الخلوية، إذ تعمل هذه الجذور مع الأصناف الفعالة للأوكسجين على تدمير الأغشية الخلوية من خلال الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في تلك الأغشية، غالبًا ما تتضرر الدهون مما يسبب بيروكسيدها [15, 16, 17]. الناتج النهائي لعملية بيروكسيدها الدهن هو المألوندايالديهيد عن طريق تحويل بيروكسيدها الدهن للأحماض الدهنية غير المشبعة إلى المألوندايالديهيد، الذي يقاس عادة بواسطة تفاعل حامض ثيوباربيتوريك، وأنه يعكس حالات زيادة توليد الجذور الحرة والكرب التأكسدي كما في داء السكر [18].

الهدف من البحث

دراسة استقلاب الحديد في النوع الثاني من داء السكر، وابعاد العلاقة بين سكر الصيام والحديد والفريتين والترانسفيرين والبيروكسيديز والفيرواوكسيديز وكذلك المالمونالديهايد. نلاحظ من خلال ايجاد العلاقة بين المتغيرات المقاسة في المرضى مع تركيز الكلوكوزر وجود علاقة بين الحديد والكلوكوز في المرضى المصابين بداء السكر من النوع الثاني بوجود المضاعفات.

المواد وطرق العمل Materials and methods

أجريت هذه الدراسة على (60) عينة دم لأشخاص يعانون من داء السكر من النوع الثاني من كلا الجنسين وبفئات عمرية مختلفة، تتراوح (28-64) سنة خلال الفترة المحصورة من أكتوبر -2017 إلى فبراير -2018 الذين راجعوا (مستشفى السلام التعليمي) في محافظة نينوى، إضافة إلى (30) عينة دم لأشخاص اصحاء ليكونوا كمجموعة السيطرة، وقسمت هذه العينات إلى ثلاث مجاميع:

- المجموعة الأولى:- مجموعة السيطرة، وتضم (30) عينة دم لأشخاص لا يعانون من داء السكر أو أي مرض آخر.
- المجموعة الثانية:- وتضم (30) عينة دم لأشخاص يعانون من داء السكر من النوع الثاني (بدون مضاعفات)، وكانوا على تحكم في مستوى السكر في الدم، ومدة إصابتهم أقل من 7 سنوات.
- المجموعة الثالثة:- وتضم (30) عينة دم لأشخاص يعانون من داء السكر من النوع الثاني (بوجود المضاعفات)، ومدة إصابتهم أكثر من 7 سنوات.

تم جمع عينات الدم الوريدي في حالة الصيام لكل من مجموعتي المرضى والسيطرة، إذ تم تقدير مستوى الكلوكوز في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة (Biolabo, France) الفرنسية [19] وكذلك تم تقدير مستوى كل من الحديد وسعة ارتباط الحديد الكلية في مصل الدم باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة (Wiesbaden , Germany) الألمانية [20,21].

قدر مستوى الفريتين باستخدام عدة التحليل الجاهزة من شركة (Cairo, Egypt) المصرية [22] وقياس الترانسفيرين باستخدام المعادلة: $TIBC * 0.7 = \text{Transferrin}$ ، وتم تقدير فعالية الفيرواوكسيديز في مصل الدم باستخدام الطريقة اللونية [23]، وأيضاً قدرت كل من فعالية البيروكسيديز [24] وبيروكسيديز الدهون (MDA) Malondialdehyde في مصل الدم [25].

التحليل الإحصائي

حللت نتائج مستويات كل من الكلوكوز والحديد والفريتين والترانسفيرين وسعة ارتباط الحديد الكلية وفعالية كل من الفيرواوكسيديز والبيروكسيديز إضافة إلى المالمونالديهايد، وذلك باستخدام اختبار تحليل التباين anova (Dunn-cun) On way، عند مستوى الاحتمالية $P < 0.05$ [26].

النتائج والمناقشة Results and discussion

أظهرت النتائج في الجدول التالي والشكل (1) أن هناك زيادة معنوية عالية في مستوى الكلوكوز لكل من المجموعتين الثانية والثالثة (10.39 ± 0.65) (12.47 ± 0.74) ملي مول/لتر على التوالي مقارنة مع

مجموعة السيطرة (6.33 ± 0.03) ملي مول/لتر، وهذا يتفق مع دراسات عديدة وجدت ارتفاعاً في مستوى الكلوكوز في مصل دم المرضى المصابين بالنوع الثاني من داء السكر بوجود المضاعفات وبعدها وجودها [27]. ويعود سبب الارتفاع في مستوى الكلوكوز في مصل دم المرضى المصابين بالنوع الثاني من داء السكر إلى قلة إفراز الأنسولين أو خلل في مقاومة الأنسولين في الجسم، وزيادة سكر الدم لفترات طويلة في مصل دم هؤلاء المرضى قد يسبب في تسريع تلف الجزيئات والأغشية الحيوية، مما يؤدي إلى ظهور مضاعفات مختلفة مرتبطة بالسكري [28].

وكذلك تشير النتائج في الجدول أعلاه والشكل (2) إلى وجود زيادة معنوية في مستوى الحديد في المجموعة الثالثة (101.20 ± 4.62) ميكروغرام/100 مليلتر وكذلك زيادة غير معنوية في المجموعة الثانية (66.82 ± 3.67) ميكروغرام/100 مليلتر مقارنة مع مجموعة السيطرة (59.61 ± 4.09) ميكروغرام/100 مليلتر، وكذلك وجدت زيادة معنوية في مستوى الفيريتين في المجموعتين الثانية والثالثة (84.98 ± 8.076) (74.03 ± 8.30) ميكروغرام/لتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (46.45 ± 7.52) ميكروغرام/لتر عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ وهذا يتفق مع دراسات سابقة أشارت إلى وجود زيادة معنوية في مستويات الحديد والفيريتين في المرضى المصابين بالنوع الثاني من داء السكر [29][30] ويعود سبب هذه الزيادة إلى أن العلاقة بين الحديد والكلوكوز ثنائية الاتجاه، بمعنى أن الحديد يؤثر على استقلاب الكلوكوز، وكذلك يؤثر الكلوكوز على استقلاب الحديد، والحديد مؤكسد قوي، وقد ثبت أن أنواع الأوكسجين التفاعلية تتداخل مع إشارات الأنسولين على المستوى الخلوي، والفيريتين عبارة عن بروتين متخصص لتخزين الحديد، الذي يعكس مخازن الحديد في الجسم، ويلعب دوراً في الحفاظ على توازن الحديد داخل الخلايا. إضافة إلى ذلك أظهرت دراسات سابقة وجود ارتباط بين مستويات الفيريتين وزيادة مخاطر داء السكر [33] [32] [31]، ووجد أن زيادة الفيريتين تكون عاملاً خطراً مستقلاً في اعتلال الكلية في المرضى الذين يعانون من النوع الثاني من داء السكر [34].

أظهرت النتائج انخفاضاً غير معنوي في مستوى كل من الترانسفيرين (204.34 ± 3.05) (204.26 ± 3.14) ميكروغرام/100 مليلتر مقارنة مع مجموعة السيطرة (211.06 ± 3.88) ميكروغرام/100 مليلتر وسعة ارتباط الحديد الكلية (291.91 ± 4.36) (291.80 ± 4.48) ميكروغرام/100 مليلتر مقارنة مع مجموعة السيطرة (301.51 ± 5.55) ميكروغرام/100 مليلتر، كما موضح في الشكل (4، 5)، وكذلك تشير النتائج إلى إنخفاض معنوي في مستوى الفيرواوكسيديز في المجموعتين الثانية والثالثة (2281.73 ± 0.10) (2281.39 ± 0.12) وحدة/لتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (2282.89 ± 0.15) وحدة/لتر، كما موضح في الشكل (6)، وهذا يتفق مع دراسات سابقة وجدت انخفاضاً في مستوى الفيرواوكسيديز في مصل دم المرضى [35] [36]، ويعود سبب انخفاض مستويات السيرويلوبلازمين فيرواوكسيديز بسبب مضادات الأوكسدة الأولية، وهذه يمكن أن تعمل عن طريق منع تشكيل جذور تفاعلية مثل البروتينات التي تتحكم في مستوى الحديد الحر (Fe^{+2}) أو أيون النحاس (Cu^{+2}) مثل الألبومين والمايوكلوبين والتراتسفيرين والسيرويلوبلازمين [37]. ووجد نقص وراثي لسيرويلوبلازمين فيرواوكسيديز في أربع حالات لأفراد متماثل الزيجة وتشوه الشبكية وداء السكري والخرف [38,39,40].

وتشير النتائج الموضحة في الجدول إلى انخفاض غير معنوي في مستوى البيروكسيديز (5.30 ± 1.22) (8.79 ± 1.47) وحدة/لتر مقارنة مع مجموعة السيطرة (9.22 ± 1.64) وحدة/لتر، كما موضح في الشكل (7)، ووجود ارتفاع معنوي في مستوى المالوندايالدهيد في المجموعتين الثانية والثالثة (30.57 ± 2.09) ($32.20 \pm$)

1.64 نانومول/لتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة (17.06 ± 0.69) نانومول/لتر، كما موضح في الشكل (8)، يعود السبب إلى حدوث بيروكسيده الدهن وذلك بسبب زيادة الجذور الحرة الناتجة عن نشوء حالة الكرب التأكسدي المرافقة لمرضى داء السكر، بالتالي تؤدي إلى تحطيم الأنسجة والخلايا [41]. والإجهاد التأكسدي يؤثر على استقلاب كل من الكلوكوز والحديد، بالتالي يؤدي إلى مقاومة الأنسولين، ويرتبط الحديد ارتباطاً وثيقاً بالإجهاد التأكسدي، يشارك أيضاً من خلال تفاعل فنتون في تكوين جذور حرة عالية السمية مثل سوبر أوكسايد القادر على تحفيز بيروكسيده الدهن [4].

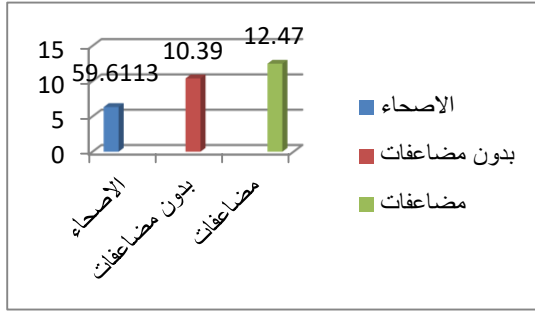
الاستنتاجات Conclusions

يستنتج من هذه الدراسة بان للحديد دوراً مهماً في التوازن، وبالتالي يمكن أن تكون دراسة الحديد والمتغيرات ذات الصلة فرعاً مفيداً للدراسات التحويلية على مرض السكري ومضاعفاته، وبالتالي يمكن أن يكون تقليل الحديد الزائد المرتبط بسوء التحكم في نسبة السكر في الدم على أنه علامة متاحة لمرض السكري ليس فقط في مرضى السكري من النوع الثاني ولكن أيضاً في أقربائهم من الدرجة الأولى.

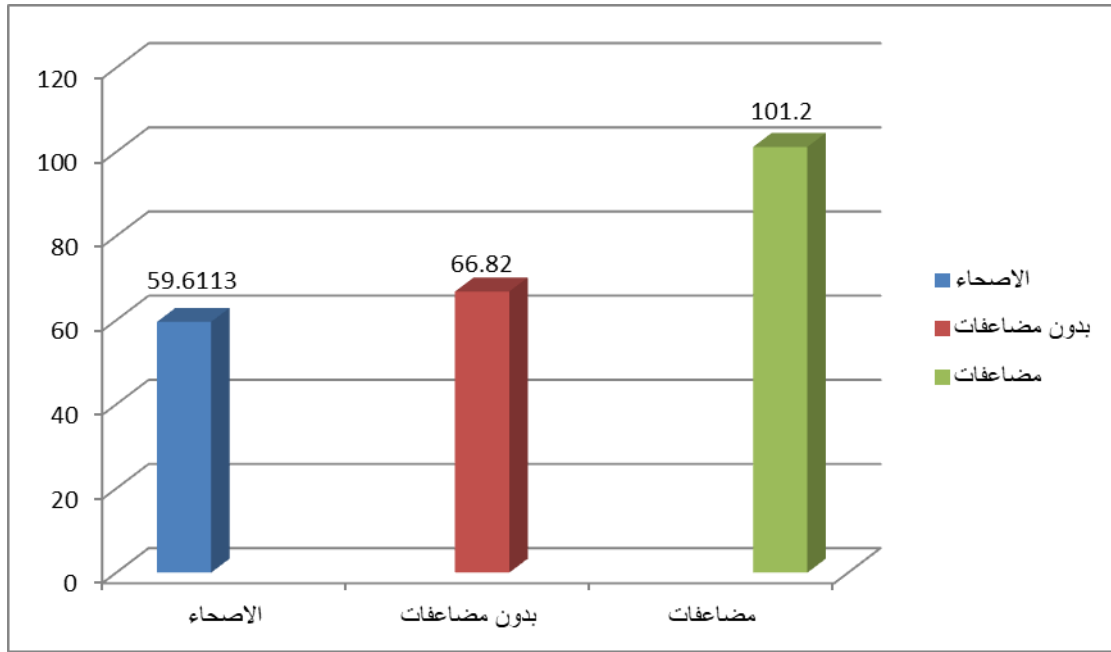
الجدول (1): مستوى المتغيرات الكيموحيوية للمجاميع الثلاثة المدرسة

مجموعة السيطرة العدد = 30 Mean ± SE	مرضى بدون مضاعفات العدد = 30 Mean ± SE	مرضى بمضاعفات العدد = 30 Mean ± SE	المتغيرات الكيموحيوية
6.33 ± 0.03 a	10.39 ± 0.65 b	12.47 ± 0.74 c	الكلوكوز mmol/L
59.61 ± 4.09 a	66.82 ± 3.67 a	101.20 ± 4.62 b	الحديد µg/dL
46.45 ± 7.52 a	74.03 ± 8.30 b	84.98 ± 8.08 b	الفيريتين µg/L
211.06 ± 3.88 a	204.34 ± 3.05 a	204.26 ± 3.14 a	الترانسفيرين µg/dL
301.51 ± 5.55 a	291.91 ± 4.36 a	291.80 ± 4.48 a	سعة ارتباط الحديد الكلية µg/dL
2282.89 ± 0.15 b	2281.73 ± 0.10 a	2281.39 ± 0.12 a	الفيرواوكسيداز U/L
9.22 ± 1.64 a	8.79 ± 1.47 a	5.30 ± 1.22 a	البيروكسيداز U/L
17.06 ± 0.69 a	30.57 ± 2.09 b	32.20 ± 1.64 b	المالوندايالديهيد nmol/L

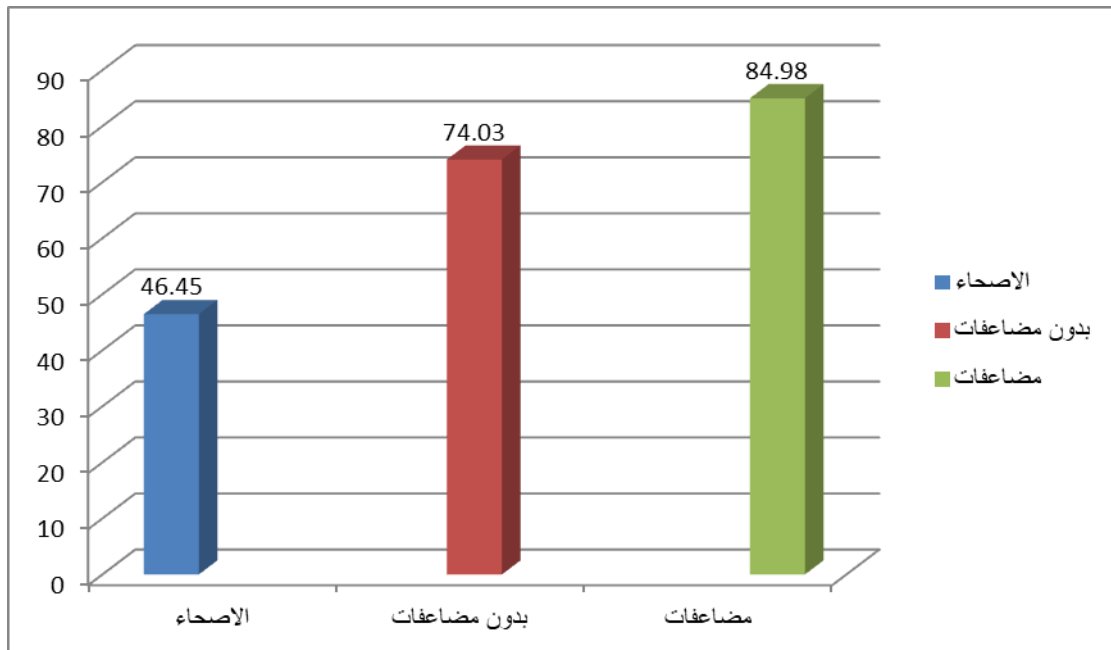
الأحرف الانكليزية الصغيرة المختلفة الموجودة بشكل أفقي تشير إلى اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).



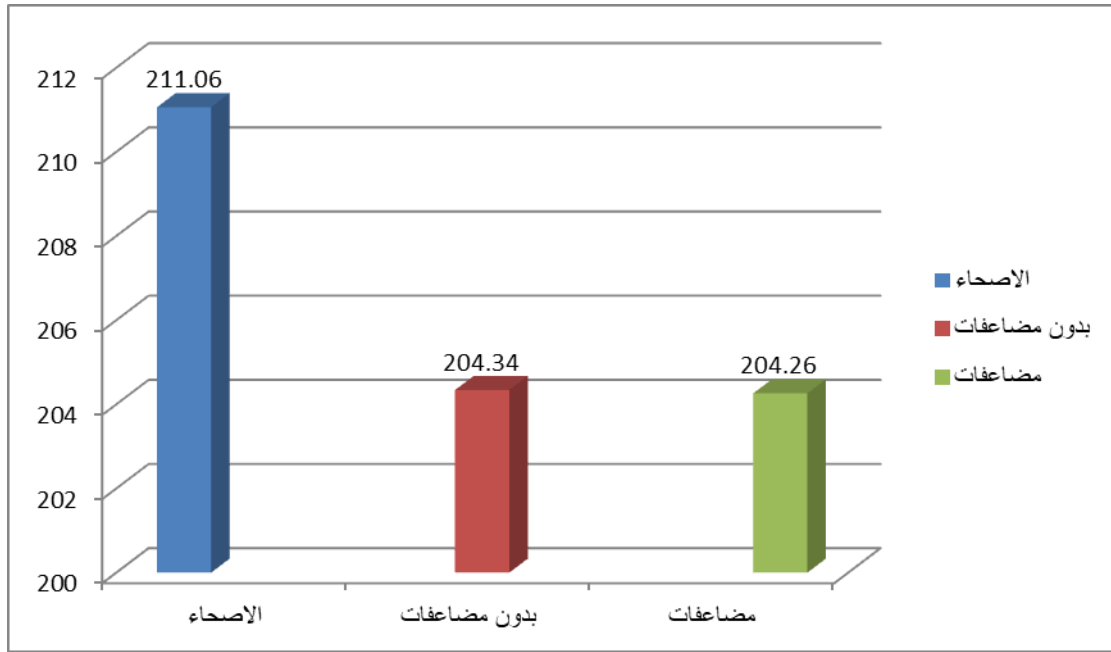
الشكل (1): مستوى الكلوكوز في المجاميع الثلاثة



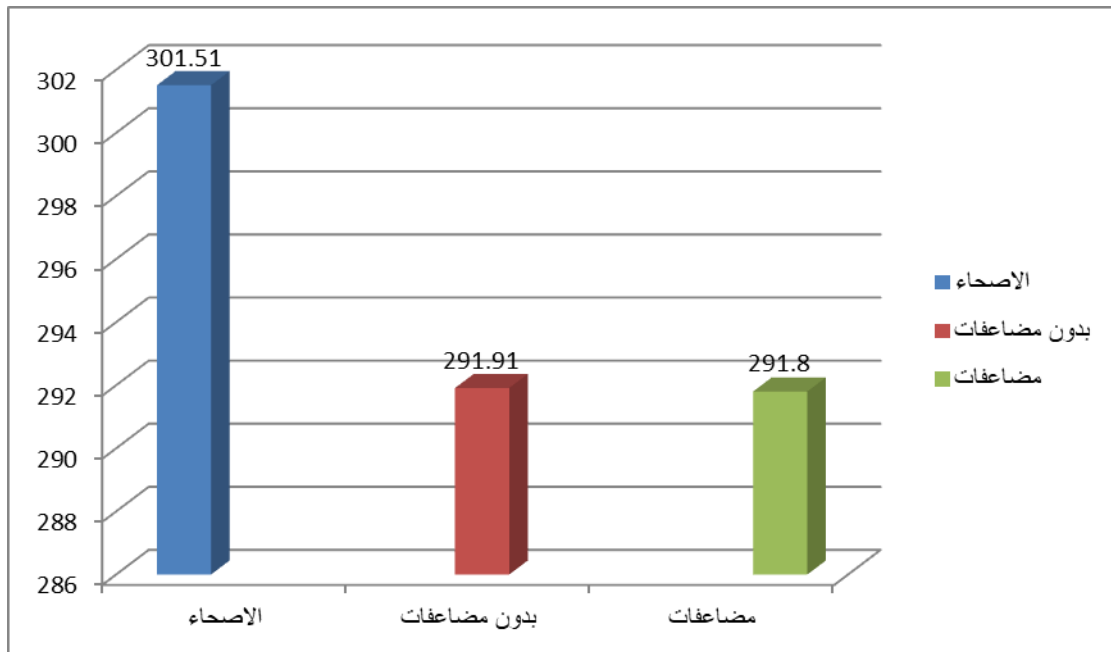
الشكل (2): مستوى الحديد في المجاميع الثلاثة



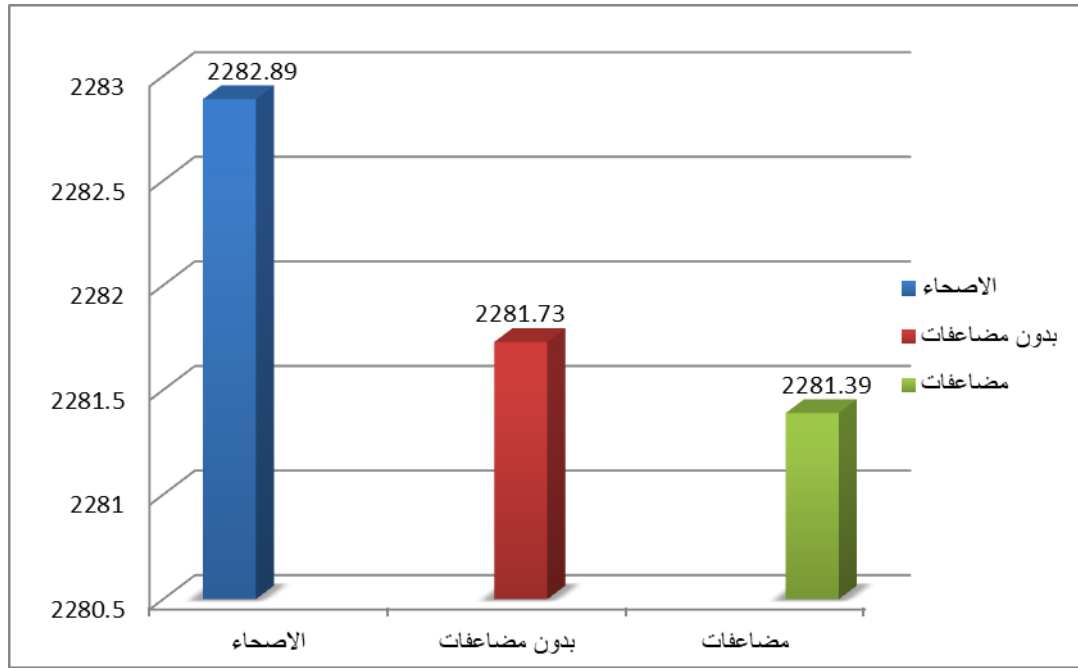
الشكل (3): مستوى الفيريتين في المجاميع الثلاثة



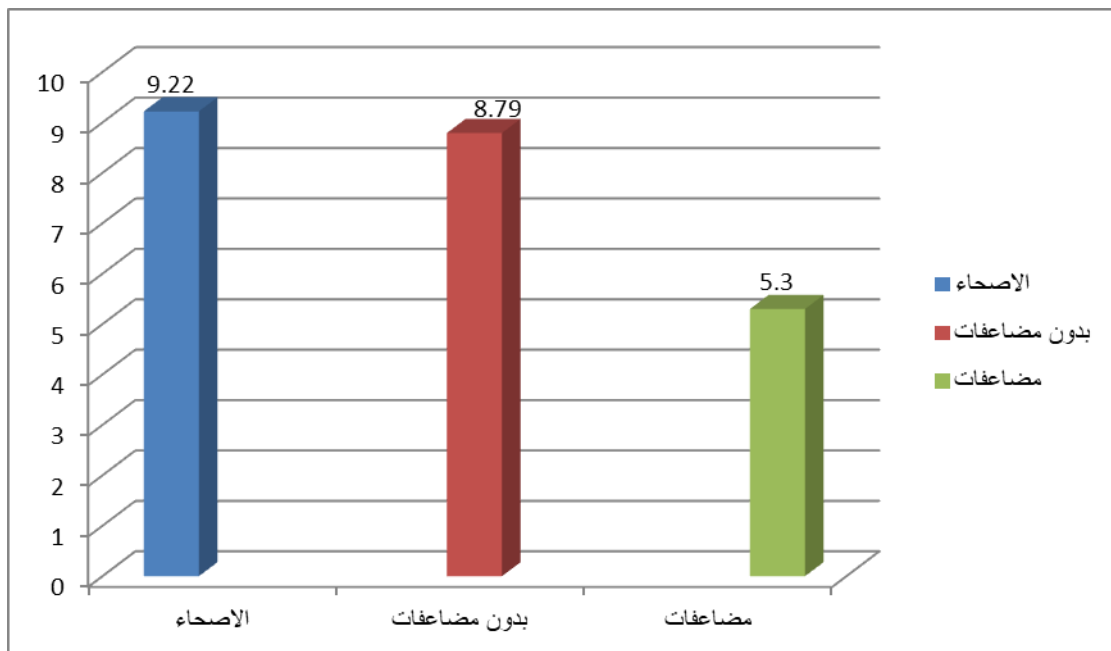
الشكل (4): مستوى الترانسفيرين في المجاميع الثلاثة



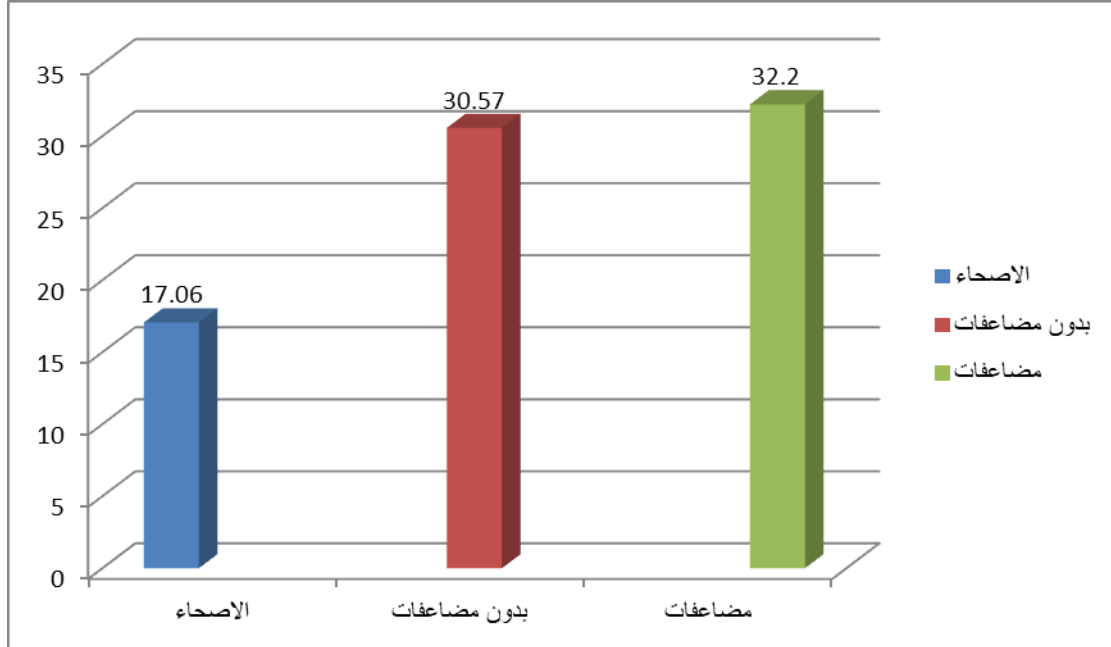
الشكل (5): مستوى سعة ارتباط الحديد الكلية في المجاميع الثلاثة



الشكل (6): مستوى الفيرواوكسيديز في المجاميع الثلاثة



الشكل (7): مستوى البيروكسيديز في المجاميع الثلاثة



الشكل (8): مستوى المالوندايالديهيد في المجاميع الثلاثة

References المصادر

- 1) Ngaski A.A., Correlation of Antioxidants Enzymes Activity With Fasting Blood Glucose in Diabetic Patients in Sokoto, Nigeria JAMMR 25(12):1-6 (2018).
- 2) Arora, P., Correlation between Serum Ferritin and Glycated Hemoglobin Level in Patients of Type 2 Diabetes Mellitus Original Research Article 9(6) :30-32. (2017).
- 3) Achuthan A and Mageswari U, Correlation between serum free iron, glycated hemoglobin and insulin resistance in uncontrolled type-2 diabetic patients, Natl J Physiology, Pharmacy and Pharmacology 7(6):642-645.(2017).
- 4) Gohel M., Sirajwala H.B., Chacko A., Serum Free Iron Concentration in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus with Good and Poor Control and Its Correlation with Glycemic Control. International Journal of Diabetes Research. 2(2): 33-38.(2013).
- 5) Rahier JR, Loozen S, Goebbels RM. The hemochromatotic human pancreas: a quantitative immuno-histochemical and ultrastructural study. Diabetologia; 30: 5-12. (1987).
- 6) Walter R. M., Uriu-Hare J.Y., Olin K.L., Oster M.H., Anawalt B.D., Critchfield J.W., Keen C.L. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. Diabetes Care.;14(11):1050-6. (1991).
- 7) Vashchenko G. and Ross T. A. MacGillivray Multi-Copper Oxidases and Human Iron Metabolism *Nutrients* 5, 2289-2313 (2013).
- 8) Finazzi, D. & Arosio, P. Biology of ferritin in mammals: an update on iron storage, oxidative damage and neurodegeneration. Archives of Toxicology; 88:1787- 1802. (2014).
- 9) Knovich, M.A., Storey, J.A., Coffman, L.G., Torti, S.V. & Torti, F.M. Ferritin for the clinician. Blood Reviews;23:95-104. (2009).
- 10) Marshall, W.J., Bangert, S.K. & Lapsley, M. Disorder of haemoproteins, porphyrins and iron. Clinical Chemistry, eds. Bowes Jeremy., McMurray Carole. & A. Collett, 7th edn, Mosby Elsevier:289. (2012a).
- 11) Luck, A.N. & Mason, A.B. Transferrin-mediated cellular iron delivery. Current Topics in Membranes;69:3-35. (2012).
- 12) Osaki S., Kinetic studies of ferrous ion oxidation with crystalline human ferroxidase (ceruloplasmin).J.Biol. Chem. 241(21):5053-9.(1966).
- 13) Osaki S., Walaas O., Kinetic Kinetic studies of ferrous ion oxidation with crystalline human ferroxidase.II. Rate constants at various steps and formation of a possible enzyme-substrate complex.J.Biol.Chem. 242 (11):2653-7.(1967).
- 14) Youngping B., Gray w., Selenium dependent glutathione peroxidase pro In Nature Sci 10: 321-330.(2000).
- 15) Matkovics A., An overview of free radical research Acta. Biol. Szeged. 47(1-4): 93-97.(2003).
- 16) Dubey N. K., Yadav P., Dutta A.K., Kumar V., Ray G.N. and Batra S., Free oxygen radicals in acute renal failure. India Pediatrics, 37:153-158.(2000).
- 17) Gupta S., and Deshmuk U., formation and function of free radicals in human body Ann Nat.Acod.Med. Sci(India), 30(1):45-54. (1994).

- 18) Bengte J.A. and Aust S.D., Estimation of serum Malondialdehyde level. *Methods in Enzymology*, Academic press. London. 51:302. (1978).
- 19) Burtis C.A and Ashwood E.R., *Tietz Text Book of Clinical Chemistry*. W.B. Saunder Company, Philadelphia. pp: 490. (1999).
- 20) Callahan J.H., Cook O., *Anal. Chem.*, 54: 59-62. (1982).
- 21) Starr R.T., *Clin. Chem.*, 26(1): 156. (1980).
- 22) Miles L.E. et al., Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Anal. Biochem.*, 61:209-224. (1974).
- 23) Erel O., Automated measurement of serum peroxidase activity. *Clin. Chem.*, 44 (11): 2313-2319. (1998).
- 24) Trinder P., Determination of glucose in blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Am. Clin. Biochem.*, 6:24. (1966).
- 25) Bakan E., Taysi S., Polat M.F., Dalga S., Umudum Z., Bakan N. & Gumus M., Nitric Oxide levels and lipid peroxidation in plasma of patients with gastric cancer *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 32:162-166. (2002).
- 26) Kirkwood B.R., *Essentials of Medical statistics*, Blackwell Scientific Publication, U.K., pp. 33-41. (1988).
- 27) Habib P., Samir S., Peroxidase Activity and Other Biochemical Parameters in Female with Type 2 Diabetes Mellitus with and without Coronary Arteriosclerosis *International Journal of Applied Science and Technology*; 4(3):250-254. (2014).
- 28) Suvarna R., Rao S.S., Joshi K., Kedage V., Muttigi M.S., Shetty J.K. and Prakash M., Paraoxonase activity in type 2 Diabetes Mellitus patients with and without complications, *Journal of clinical and Diagnostic Research*. 5(1):63-65. (2011).
- 29) Ghosh D., Fariduddin M., Jahan S., Hasan M., Sultana N., Rahman M.A., Hasan K., Islam M., Atikur-Rahman M and Hasanat M.A., Serum Ferritin in Newly Detected Diabetes and Prediabetes. *Diabetes Obes Int J*, 2(3): 000158. (2017).
- 30) Leticia O.I., Ifeanyi O.E., Queen E., Chinedum O.K., Determination of Ferritin Level and Total Iron Binding Capacity in Pregnancy and Postpartum Subjects in Owerri. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 13(9): 70-73. (2014).
- 31) Qian M, Liu M, Eaton JW. Transition metals bind to glycosylated proteins forming redox active 'glycochelates'. implications for the pathogenesis of certain diabetic complications. *Biochem Biophys Res Commun*; 250: 385-9. (1998).
- 32) Andrews, N.C., "Disorders of iron metabolism", *The New England journal of medicine*, vol. 341, no. 26, pp. 1986-1995. (1999).
- 33) Abd El-Halim, S.S and Lobna M. El-Hadidy, L.M. The Relationship between Serum Ferritin and Glycosylated Hemoglobin in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* Vol. 64, Page 405- 410. (2016).
- 34) Ciudin A., Hernandez C., Simo R., Iron overload in Diabetic Retinopathy: A Cause or a Consequence of Impaired Mechanism? *Experimental Diabetes Research*, Article ID 714108, 8 pages, (2010).
- 35) Paul J.L., Sall N. D., Soni T., Poignet J. L., Lindenbaum A., Man N. K., Moatti N. & Raichvarg D., Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients. *Nephron*. 64 (1): 106-109. (1993).

- 36) AL-Emami S.A., and Hasan H., Phosphatases and Osteodystrophy in Chronic Renal Failure as Related to Oxidative Stress. B.Sc., M.Sc. College of Science. University of Baghdad.(2007).
- 37) Stahl W., Sies H., Antioxidant Defense : Vitamin E and C and Carotenoids. Diabetes, 46(2): 514-517. (1997).
- 38) Miyajima. H., Nishimura. Y., Mizoguchi. K.. et al.: Familial apo-Ceruloplasmin deficiency associated with blepharospasm and retina degeneration. Neurology. 37: 761 – 767. (1987).
- 39) Okamoto. N., wada. S.. Oga. T.. et al.: Hereditary ceruloplasmin deficiency with hemosiderosis. Hum. Genet.. 97 : 755 – 758. (1996).
- 40) Logan, J.I., Harveyson, KB, Wisdon.G.B., et al.:Hereditary caeruloplasmin deficiency, dementia and diabetes mellitus. Q. J. Med..87: 663-670.(1994).
- 41) El-Sayed E.M., Salem O., Aly H., and Mansur A.M., Potential anti diabetic and hypolipidemic effects of propolis extrac in streptozotocin - induced diabetic rats pak. J. Pharm. Sci. 22(2): 168-174.(2009).