(Some oxidant- antioxidant Studies in Type-II Diabetic Patient's)

دراسة بعض مضادات الاكسدة- الاكسدة في مرضى النوع الثاني لداء السكري

ابراهيم لفتة كاظم
كلية الزراعة / جامعة كربلاء

الخلاصة :-

تمت دراسة الأكسدة الفوقية للدهون عن طريق قياس (4-HNE) **4-hydroxynonenal** في مصل دم المرضى والأصحاء ، كما تم تقدير مستويات مضاد الأكسدة **Glutathione (GSH)**، الهيموغلوبين المرتبط مع السكر **Glycosylated hemoglobin (HbAlc)** ، العناصر المعدنية الضئيلة **Trace element** (النحاس ، الزنك) في مصل الدم أظهرت النتائج أن للجذور الحرة والأكسدة الفوقية للدهون دوراً كبيراً في تطور مرض السكري النوع الثاني غير المعتمد على الأنسولين **(NIDDM)** أذ وجد أن هناك ارتفاع في مستويات **(4-HNE)** والهيموغلوبين المرتبط مع السكر والنحاس في مصل دم المرضى مقارنة بالأصحاء ، وانخفاض في معدل مستوى **(GSH)** والزنك في مصل دم المرضى مقارنة بالأصحاء.

Abstract : -

Lipid peroxidation was studied by evaluated the level of (4-HNE) in serum of patients and healthy . In addition the levels of (GSH , HbA1c , Cu , Zn) were evaluated .

Our results indicated and confirmed the roleof free radicals and lipid Peroxidation in the development of Diabetes Mellitus Type II , serum 4-HNE and Cu, HbA1c ware found higher in all patients compared to healthy.

This study also showed that the Levels of (GSH) and Zinc Ware decreased in all patients compared to healthy .

المقدمة :-

يعد داء السكري من الأمراض الواسعة الانتشار(1)، يتميز بزيادة مستوى السكر في الدم **(Hyperglycemia)** (2) نتيجة لنقص نسبي أو كامل في الأنسولين الذي يفرز من خلايا البنكرياس من نوع بيتا **(β)** الموجودة في جزر لانكرهانز **Islets of Langherhans** (3) أو أن خلايا الجسم فقدت أو ضعفت استجابتها للأنسولين (4) .وتعتبر السمنة (5) ، العامل الوراثي ، ألتهابات البنكرياس و عجز الدورة الدموية عن تغذية البنكرياس بصورة كافية (6)، خلل في المناعة الذاتية و التوتر النفسي والمعانات الصحية (7)، أمراض الغدة النخامية وأختلال التوازن الهرموني (8) ، من العوامل التي تساعد على ظهور الحالة المرضية . كما أشارت الدراسات أن زيادة تكون الجذور الحرة ، الجزيئات الحاوية على أوكسجين فعال **(ROS)** والأكسدة الفوقية للدهون تلعب دوراً مهماً في المسار المسبب لكثير من الأمراض ولا سيما مرض السكري من النوع الثاني (**Diabetes Millitus Type II**) (9، 10)

أن **(4-hydroxynonenal)** (**4-HNE** ذات الصفة السمية **(cytoxicity)** والناتج عن تحلل الهيدروبيروكسيدات المتكونة بفعل هجوم الجذور الحرة على الحوامض الشحمية غير المشبعة **(PUFA)** (11) يعمل على أحداث عدد من التغيرات البايولوجيه **(Biological changes)**حيث له القابلية على الارتباط بالمجاميع الفعالة للكثير من المركبات الحيوية الموجودة داخل الخلية ومنها (مجاميع الأمين للبروتينات **Protein Mitochondrial electron transport chain proteins' chaperone' Proteasomal proteins**وقواعد الأحماض النووية ، والقواعد النتروجينية ، والليبيدات الفسفورية ، ومجاميع **SH**، وفي مركبات الثايول) مكوناً بذلك تكتلات **4-HNE-adducts** التي ترص الى المستقبلات الخلوية الخاصة بجزيء الأنسولين على شكل قفل ومفتاح معطلة بذلك وظيفة هذه المستقبلات فلا تعود تتعرف على جزيئه الأنسولين .كما يحدث خلل في وظيفة المركبات الحيوية .(12) كما أنة يزيد من علامات الألتهاب النظامي **Inflammation** مثل (**Interleukin-1-**, **TNF**) المولدة للسيتوكينات **Cytokines** التي تساعد في أنتاج الجذور الحرة و يتلف المستقبلات الخلوية الخاصة بالأنسولين **Tyroise Kinase** الموجود على أغشية أغلب الأنسجة وخاصة الكبد والعضلات والأنسجة الدهنية (13) ، يوقف فعالية **Trypsing ,Chymotrypsin , and peptidyl glutamyl peptide hydrolase**التي لها دور في تحويل جزيئته ما قبل الأنسولين **Pro-Insullin** الى **Insullin** .(14) ، يفعل المسارات الحيوية **C-jun N-terminal Kinase (JNK) and P38 kinase** (15) ، يمنع تفعيل **NF-KB (nuclear Facter-KB)** ويثبط **IKB phosphorylation** (16) ، يثبط فعالية الأنزيمات **isocitrate dehydrogenase** المنظمة لطاقة المايتوكوندريا (**(NADP+** (17).، يسبب خلل في وظائف الأغشية البلازمية ، **Na^+/K^+, Ca^+ -ATPases , glucose transporter , glutamate transporter , potassium channels . (18** (19) ، كما انه يزيد من معدل أنتاج **mRNA** . ، يفعل **Protein Kinase isoforms** وينشط فعالية أنزيم **Hormone-sensitive lipase** . (20) ، يزيد من فعالية المسار

الحيوي لل **hexosamine** . (21)، يوقف تفعيل المسار الحيوي لتخليق **nitric oxid** من الخلايا المبطنة **Endothelial** و يخفض من معدلات أطلاق هرمون الأديبوبكتين من الخلايا الدهنية والذي يعمل على زيادة نشاط مستقبلات الأنسولين . (22) ، يوقف تفعيل المسار الحيوي لتخليق **Prostacycline** و يخفض أنتاج **Plasminogene** التي لها دور في إذابة الخثرات الدموية ، مما يؤدي إلى رفع نسبة الدهون والسكريات في الدم . (23) ، يوقف فسفرة ركائزمستقبل الأنسولين **Insullin receptor substrate (IRS) protein .(24)** ويرفع مستويات الكورتيزون الذي يقلل من ارتباط الأنسولين بالمستقبلات و ينشط **Phosphotyrsine phosphatase (PTPIB)** و **Phosphotyrosine and tensin homologne (PTEN)** اللذان يلعبان دوراً مهماً في التنظيم السلبي لإشارات الأنسولين . (25) ، يزيد من إفراز هرمون **epinephrine** الذي يسبب استهلاك سريع للمركبات المنتجة للطاقة و يخفض مستويات **ATP** وبذلك تمنع أيونات C^{+2} من دخول الخلية مما يسبب عدم تحفيز أنزيم **phospholipase C** الذي يقوم بتحويل **Phospholipid phosphatidyl inositol 4,5-bis phosphate** **inositol 1,5,4-Tri phosphate + Diacylglycerol (26)**

جميع هذه التغيرات البايلوجية تؤدي إلى ضعف استجابة الخلايا لمفعول الأنسولين (مقاومة أو مناعة ضد الأنسولين) (Insulin Resistance) فلن يمتص الكلوكوز بطريقة صحيحة من الخلايا الجسم التي تحتاجه ، ولن يخزن الكلوكوز في الكبد والعضلات بصورة مناسبة ، وبذلك تكون المحصلة النهائية هي استمرار ارتفاع مستويات الكلوكوز في الدم ، ضعف تخليق البروتين ، اضطراب التمثيل الغذائي ، تحميض الدم وهذا ما يعزز تقدم المرض.

المواد وطرائق العمل :-

تم سحب عينات الدم من (80) مريض بواقع (40) ذكور و (40) أناث تتراوح أعمارهم بين (30-70) سنة مشخصين سريريا بمرض السكري من النوع الثاني من المركز الوطني لعلاج وبحوث السكري للفترة من 2013/6/15 ولغاية 2013/8/27 وكذلك جمعت نماذج دم (40) متطوعاً من الاصحاء كمجموعة سيطرة بواقع (20) ذكور و (20) أناث وكانت اعمارهم تتراوح بين (30-70) سنة ، تم قياس الدليل البايوكيميائي لعملية الاكسدة الفوقية للدهون (4-HNE) في مصل الدم بأستخدام العده الجاهزة (kit) (27) وقدر مستوى مضاد الاكسدة الكلوتاثايون (GSH) في الدم لونيا بواسطة جهاز قياس الكثافة الضوئية (Ellmans Reagent)،بينما قدر الهيموغلوبين المرتبط مع االسكر **(HbAlc)** في مصل الدم بأستخدام طريقة كروموتوغرافيا السائل ذي الاداء السائل (28) والنحاس والزنك باستخدام جهاز الامتصاص الذري ، كما تم أجراء التحليل الاحصائي لنتائج البحث حيث حددت المتوسطات والانحرافات المعيارية للقيم التي توصل اليها البحث .

النتائج والمناقشة :-

أوضحت نتائج هذة الدراسة عدم وجود فروق معنوية بين الذكور والاناث لمرضى السكري من النوع الثاني ، لذا فقد تم اعتماد العدد الكلي للمرضى والاصحاء في جداول هذة الدراسة .

1- مستوى الهيموغلوبين المرتبط مع السكر (c1HbA) Haemoglobin GlycosylatedLevel

يبين الجدول رقم (1) ان هناك زيادة في معدل مستويات الهيموغلوبين المرتبط مع السكر (c1HbA) لدى مجموعة المرضى عما هو في مجموعة السيطرة

جدول رقم (1)يحدد المعدل والانحراف المعياري لل- (c1HbA) عند مجموعة السيطرة (A) ومجموعة المرضى (B)

مجموعة	العدد	معدل الـ c1HbA **(Mean± SD µM/ L)**	p-value
control	40	3.83 ± 0.43	
patients	80	8.66 ± 0.52	P<0.001

أن فحص HbA1c يعطي صورة واضحة عن مدى حالة الشخص المصاب بالسكري وذلك لأن c1HbA موجود في كريات الدم الحمراء ، وحيث ان عمر هذة الكريات بحدود (3) اشهر ، لذا قياس c1HbA يعطي صورة دقيقة وواضحة عن حالة الشخص المصاب خلال ثلاثة أشهر بعكس فحص مستوى السكر بالدم الذي يعتبر متغيرا حسب مايتناولة الشخص المصاب من الغذاء أو الدواء ، أن العلاقة بين مستويات c1HbA المتكون ومرضى السكري علاقة وثيقة تعتمد على تراكيز كلوكوز الدم التي تتعرض لها كريات الدم الحمراء خلال مدة وجودها في المجرى الدموي والذي يؤدي بدورة الى الارتباط بجزيئة الهيموغلوبين ، وهكذا يلاحظ أرتفاع في مستويات c1HbA لدى مرضى السكري من النوع الثاني بسبب نقص في عدد مستقبلات الانسولين الوجودة على أغشية أغلب الانسجة وخاصة الكبد ، العضلات والانسجة الدهنية والتي هي مستقبلات عديدة مثل **α2** ، **β2** وأذا حدث خلل في شكل تلك المستقبلات فأن الكلوكوز لايستطيع دخول الخلايا مما يؤدي الى أرتفاع نسبة السكر بالدم وبالتالي ترتبط مجموعة الامين للحامض الاميني فالين (Valine) عند النهاية الامينية لسلسلة **β** في جزيئة بروتين كلوبين عن طريق تفاعل عكسي وتكوين مركب الدايمين **(Aldimine compound)** أو مايسمى بقاعدة – شف (Shiff-base) غير المستقر وسرعان مايعاني أعادة ترتيب (Almadori Reaction) مكوناً مشتق كيتوني ثابت (c1HbA Glycosylated Haemoglobin) (29) أن النتائج التي توصلنا اليها تتفق مع ماجاء في نتائج الباحثين (31) (30)

2- مستوى قيم الاكسدة الفوقية في مصل الدم **Lipid peroxidation Level in Serum**

يبين الجدول رقم (2) ان هناك زيادة في معدل مستويات الاكسدة الفوقية للدهون لدى مجموعة المرضى عما هو في مجموعة السيطرة

جدول رقم (2)يحدد المعدل والانحراف المعياري لل- (4-HNE) عند مجموعة السيطرة (A) ومجموعة المرضى (B)

مجموعة	العدد	معدل الـ 4-HNE (Mean± SD µM/ L)	p-value
control	40	4.63 ± 0.66	
patients	80	14.86 ± 1.21	P<0.001

فسرت ميكانيكية الزيادة في معدل الاكسدة الفوقية للدهون في المرضى عنه في الطبيعي الى الارتفاع في مستويات ال (ROS) وذلك بسبب الانخفاض في مستويات العوامل البايوكيميائية المختزلة الموجودة في الجسم(32) أو بسبب أرتفاع مستوى الكلوكوز المزمن في مصل الدم والذي يعد عامل خطورة (Risk Facter) لتطور مرض السكري من النوع الثاني،حيث يعتبر أحد المسببات الرئيسية في أنتاج الجذور الحرة ، وذلك بسبب قدرة الكلوكوز على التاكسد الذاتي لتحرير أنواع مختلفة من جذور الاوكسجين الحره الفعالة (33) ، كما أن أرتفاع الكلوكوز في مصل الدم يعمل على أحداث خلل في بطانة الاوعية (Endothelial Dysfuction) مما يؤدي الى اطلاق جذور السوبر أوكسايد الفعالة التي تدخل في سلسلة من التفاعلات لأنتاج أنواع أخرى من جذور الاوكسجين الفعالة ، كما أن زيادة مستوى الحوامض الشحمية الغير مشبعة (PUFA) في مصل الدم تقابلها زيادة في مستوى الاكسدة الفوقية للدهون بأعتبار سلاسل هذه الحوامض هي المادة الاساس (Substrate) في الاكسدة الفوقية للدهون (Lipid peroxidation)

أن النتائج التي توصلنا اليها تتفق مع ماجاء في نتائج الباحثين (34) (35)

3- مستوى تركيز الكلوتاثايون في الدم **Glutathione Level in Whole blood**

يبين الجدول رقم (3) ان هناك أنخفاض في معدل مستويات تركيز الكلوتاثايون (GSH) لدى مجموعة المرضى عما هو في مجموعة السيطرة

جدول رقم (3)يحدد المعدل والانحراف المعياري لمستوى تركيز الكلوتاثايون(GSH)عند مجموعة السيطرة(A) ومجموعة المرضى (B)

مجموعة	العدد	معدل الـ GSH (Mean± SD µM/ g ,Hb)	p-value
control	40	7.86 ± 1.88	
patients	80	5.65 ± 1.52	P<0.001

يعد الكلوتاثايون **GSH((Glutathione** من أوفر مركبات الثايول **Thiol Compaunds)** غير البروتينية الخلوية ، يوجد في خلايا مختلف أنواع الكائنات الحية ، أن أهم مجموعة فعالة في الكلوتاثايون هي مجموعة ال **Cysteine** الحاوية على مجموعة ال **SH**

أن من وظائف **(G-SH)** هو مضاد للأكسدة يلعب دوراً مركزياً في الدفاع ضد عدد من الأمراض والألتهابات الداخلية والخارجية ، تخفيف الخصائص السامة للأجسام الغريبة الداخلية ، المسرطنات ، الجذور الحرة ، البيروكسيدات ، تنظيم الوظائف المناعية ، الحفاظ على تركيب الروتين .(36)

كما يعمل **(G-SH)** كمرافق أنزيمي لبعض العمليات الأيضية الأنزيمية في الخلية مثل مجموعة الأنزيمات الناقلة للهيدروجين **Transhydrogenase** التي يكون فيها الكوتاثايون مرافق أنزيمي لتحفيز أنزيمات هذه المجموعة وهو أنزيم **Glutathion-Insulin-Transhydrogenase** المسؤول عن أيض الأنسولين في الكبد والكلتين .

كما يعمل **G-SH** كمنظم (أكسدة – اختزال) حيث له تأثير مميز في حماية بعض المركبات الأخرى المضادة للأكسدة وإدامة فعاليتها ومنها حامض الأسكوربيك الذي بتتفاعله مع الجذور الحرة يتحول الى مركب ضعيف الفعالية هو **Dehydroascorbate** الذي يقوم الكلوتاثايون باختزاله مرة أخرى إلى حامض الأسكوربيك الفعال بوجود أنزيم **ehydro ascorbate reductase** .

أن الزيادة العالية للجذور الحرة وزيادة مستوى الأكسدة تؤدي الى دخول الكلوتاثايون في العمليات الاختزالية للمركبات الفعالة والجذور الحرة مما يؤدي الى أكسدته الى شكل اخر هو الكلوتاثايون المؤكسد **(G-S-S-G)** الذي بوجوده داخل الخلية يعمل على الإتحاد مع العديد من المركبات الخلوية وتحويلها إلى مركبات كبريتية سامه ، ويثبط عملية صنع الكلوتاثايون المختزل**(G-SH)** الفعال .

لذا تتخلص منه الخلية جزيئاً بنقله عبر غشائها إلى الخارج بطريقة النقل الفعال ، ويتحول الجزء المتبقي منه مرة أخرى الى الشكل المختزل **(G-SH)** الفعال بواسطة أنزيم **Glutathion reductase (G-SH-RD)** بالأعتماد على **NADPH** كمصدر للهيدروجين لأسترجاع **GSH** .

وبسبب أضطراب وتعطل مسار **HeXose Monophosphate Shunt** الذي يعتبر المصدر الرئيسي لل **NADPH** لذلك سوف نلاحظ أنخفاض في مستوى معدل تركيز الكلوتاثايون .

4-HNE كما له القابلية على الأرتباط مع (G-SH) مكوناً المركب (GS-HNE) (GS-4-hydroxy-2-nonenal) أو المركب (GS-DHN) (GS-1,4-dihydroxy-2-nonenal) بعد أختزاله بأنزيم Aldose - reductase أو المركب (GS-HNA) (GS-4-hydroxy-2- nonenic Acid) بعد أكسدته بأنزيم Aldehyde dehydrogenase ..
أن النتائج التي توصلنا اليها تتفق مع ماجاء في نتائج الباحثين (37) (38)

4- مستوى تركيز النحاس (Cu) في مصل الدم Cupper Level in Serum

يبين الجدول رقم (4) ان هناك زيادة في معدل مستويات تركيز النحاس لدى مجموعة المرضى عما هو في مجموعة السيطرة

جدول رقم (4)يحدد المعدل والانحراف المعياري لتركيز النحاس عند مجموعة السيطرة (A) ومجموعة المرضى (B)

مجموعة	العدد	معدل الـ uC (Mean± SD µM/ L)	p-value
control	40	17.60 ± 4.82	
patients	80	29.94 ± 5.16	P<0.001

يعد النحاس من المعادن الضئيلة المهمة داخل جسم الأنسان وهو لا يوجد حراً في سوائل الجسم المختلفة أو الأعضاء ، أن النحاس بحالته الثنائية Cu^{+2} له طاقة تكوين معقدات مع عدة بروتينات ، كما يعتبر النحاس المفتاح الرئيسي لكثير من الأنزيمات مثل **Monoamine oxidas ، Caeruplasmin ، phenol oxidas ، Uricase Cytochrom oxidase**
يلعب النحاس دوراً رئيسياً في العمليات الفسيولوجية مثل عملية صنع الهيموغلوبين **Hemoglobin Synthesis**، المحافظة على حيوية الأوعية الدموية والعضلات الطلائية ، ودوراً وظيفياً في الجهاز العصبي المركزي .
في حالة مرض السكري تزداد الأكسدة الفوقية للدهون مما يسبب تحطم الخلايا وبالتالي يحدث خلل في توزيع الأيونات بالأضافة إلى تحطم البروتينات التي ترتبط بالنحاس وبالتالي يزداد النحاس الحر الذي يكون عاملاً مساعداً في توليد الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل **(Finton Reaction)**
أن النتائج التي توصلنا اليها تتفق مع ماجاء في نتائج الباحثين (39) (40)

5- مستوى تركيز الزنك (Zn) في مصل الدم Zinc Level in Serum

يبين الجدول رقم (5) ان هناك أنخفاض في معدل مستويات الزنك (Zn) لدى مجموعة المرضى عما هو في مجموعة السيطرة

جدول رقم (5)يحدد المعدل والانحراف المعياري لتركيز الزنك (Zn) عند مجموعة السيطرة (A) ومجموعة المرضى (B)

مجموعة	العدد	معدل الـZn (Mean± SD µM/ L)	p-value
control	40	11.14 ± 3.89	
patients	80	6.04 ± 2.97	P<0.001

يعتبر عنصر الزنك مهماً جداً في الإنسان أذا انه اساسياً لأكثر من **(100)** أنزيم معدني مثل الكحول ديهايدروجينتيز **Alcohole Dehydrogenase** والحامض النووي **(RNA)** وبلمرة الحامض النووي **(DNA)** ، والخارصين عنصر ضروري في النمو وانقسام الخلية ، وكذلك يدخل الزنك كعنصر أساسي في عملية أيض الكولاجين **Collagen metabolism** ، وأن نسبة إفراز الأنسولين استجابة إلى حافز السكر يقل في حالة نقص عنصرالزنك ، ويعزى سبب أنخفاض مستوى الزنك في مصل الدم إلى وظيفتة كحارس أمن للخلايا المنتجة للأنسولين حيث يرتبط مع بروتين الأميلين ويمنعه من تكوين كتله كثيفة تغلق تلك الخلايا ، وكعامل دفاعي للجسم ضد زيادة الأكسدة الفوقية للدهون تقوم الخلايا على زيادة تخليق**(SOD)** superoxidedismutase يتطلب الزنك في تركيبه ، بالاضافة الى زيادة كمية الإدرار التي تطرح في مرض السكري بسبب زيادة مستوى الكلوكوز في مصل الدم وبالتالي يزداد الزنك في الإدرار ، وكذلك عدم وجود أنظمة بروتونية تحافظ على مستوى الزنك في الجسم مثل السيروبلازمين لعنصر النحاس .
أن النتائج التي توصلنا اليها تتفق مع ماجاء في نتائج الباحثين (41) (42)

Reference

1- Whiting, D.R., Guariguata, L., Weil, C., Shaw, J.. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2011;94: 311–321

2- Lai, M. H.. Antioxidant effects and insulin resistance improvement of chromium combined with vitamin C and e supplementation for type 2 diabetes mellitus. J Clin Biochem Nutr,2008; 43: 191-198

3- Wright E, Jr JL. Scism-Bacon, and LC Glass. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. Int J Clin Pract. 2006;60:308–314

4- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2011; 34: 62-69

5- Barness LA, Opitz JM, Gilbert-Barness E. Obesity: genetic, molecular, and environmental aspects. Am J Med Genet A. 2007;143:3016–3034.

6- Davidson, M. B. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. In "Diabetes Mellitus Diagnosis and Treatment". 4th Edition (1998). W. B. Saunders Company. P. 1 – 6

7- Belfiore, F. and Iannello, S. (2000) . Etiological, Classification, Path physiology and Diagnosis. In "New Concepts in Diabetes and It's Treatment". Belfiore, F. and Mogensen, C. E. (Eds.) . Karger Company. P. 1 – 6

8 - Cardell,B.S.(1978). The Pancreas. In "Systemic Pathology". Symmers, W. St C. (Eds.). P. 1332.

9- Henriksen, E. J., M. K. Diamond-Stanic, and E. M. Marchionne. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. Free Radic. Biol Med. 2011; 51: 993-999.

10 - Rains J.L. , K.Jain S.K., Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes, Free Radic.Biol. Med. 50 (2011) 567–575.

11- Demozay, D., J. C. Mas, S. Rocchi, and E. Van Obberghen. FALDH reverses the deleterious action of oxidative stress induced by lipid peroxidation product 4- hydroxynonenal on insulin signaling in 3T3-L1 adipocytes. Diabetes2008;57:1216-1226

12 -Pillon N.J., Vella R.E.,. Souleere L., Becchi M., Lagarde M., Soulage C.O. Structural and functional changes in human insulin induced by the lipid peroxidation byproducts 4-hydroxy-2-nonenal and 4-hydroxy-2-hexenal. Chem. Res. Toxicol. 2011; 24: 752–762

13- Grattagliano I, Palmieri VO, Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G. Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. J Nutr Biochem.2008;19:491–504

14 -Ferrington DA,Kappahahn RJ.Catalytic sit-spesific inhibition of the 250 proteasome by 4-hydroxynonenal.FEBSLett. 2004;578:217–223

15- Soh Y, Jeong KS, Lee IJ, Bae MA, Kim YC, Song BJ. Selective activation of the c-Jun N-terminal protein kinase pathway during 4-hydroxynonenal-induced apoptosis of PC12 cells. Mol Pharmacol. 2000;58:535–541

16-Valacchi G,Pagnin E,Phung A,Nardini M,Schock BC,Cross CE.Inhibition of NFkappaB activation and IL-8 expression in human bronchial epithelial cell by 4-hydroxynonenal.Antioxid Redox Signal. 2005;7:25-31

17-Benderdour M, Charron G, DeBlois D, Comte B, Des Rosiers C. Cardiac mitochondrial NADP+-isocitrate dehydrogenase is inactivated through 4-hydroxynonenal adduct formation: an event that precedes hypertrophy development. J Biol Chem. 2003;278:45154–45159

18-Lu C, Chan SL, Fu W, Mattson MP. The lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal facilitates opening of voltage-dependent Ca2+ channels in neurons by increasing protein tyrosine phosphorylation. J Biol Chem. 2002;277:24368-24375

19-de Villiers WJ,Song Z,Nasser MS,Deaciuc IV. 4-hydroxynonenal induced apoptosis in rat hepatic stellate cell : mechanistic approach . J Gastroenterol Hepatol.2007;22:414-422

20-Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. Circ Res. 2010; 106: 1319–1331

21 - Du XL , Edelstein D , Rossetti L , Fantus IG , Goldberg H , Ziyadeh F , Wu J , Brownlee M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the

hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000; 97:12222–12226

22- C.A. Chen, T.Y. Wang, S. Varadharaj, L.A. Reyes, C. Hemann, M.A. Talukder, Y.R. Chen, L.J. Druhan, J.L. Zweier, S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function. Nature .2010;468:1115–1118.

23- Du X, Edelstein D, Obici S, Higham N, Zou MH, Brownlee M. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. J Clin Invest. 2006;116:1071-80

24 - Saltiel, A.R., and C.R. Kahn. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature 2001;14: 799-806..

25 -Lo YT, Tsao CJ, Liu IM, Liou SS, Cheng JT. Increase of PTEN Gene Expression in Insulin Resistance. Horm Metab Res. 2004;36:662–666

26-Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial Dysfunction and Type 2 Diabetes. Science. 2005;307:384–387.

- 4-HNE – HiS Adduct ELISA Kit**-27**

28- Variant Hemoglobin A1c Program. Bio – Rad Company. 2002. 5 – 8

29 -Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. Biochem J. 1999;344 :109–116

30 - Konstantinos M., Loukia S. There a Relationship between Mean Blood Glucose and Glycated Hemoglobin. J Diabetes Sci Technol 2011; 5: 1572-1582

31 - *Sumesh Raj, G. V. Rajan.* Correlation between elevated serum ferritin and HbA1c in type 2 diabetes mellitus. Int J Res Med Sci. 2013; 1: 12-15

32 - Voss P, Siems W. Clinical oxidation parameters of aging. Free Radic Res. 2006;40:1339–1349

33 - Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. Methylglyoxal comes of AGE. Cell. 2006;124:258–260.

34 - Pillon NJ., Croze ML., Vella RE., Soulère L., Lagarde M., Soulage CO.The lipid peroxidation by-product 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) induces insulin resistance in skeletal muscle through both carbonyl and oxidative stress. Endocrinology. 2012;153:2099-2111.

35- V. Calabrese, C. CorneliusV. Leso, A. Trovato-SalinaroB. Ventimiglia, M. CavallaroM. Scuto, S. L. Zanoli, Rizza S. Neri, P. Castellino. Oxidative stress, glutathione status, sirtuin and cellular stress response in type 2 diabetes . 2012; 5: 729–736

36 - Raza H, John A. 4-hydroxynonenal induces mitochondrial oxidative stress, apoptosis and expression of glutathione *S*-transferase A4-4 and cytochrome P450 2E1 in PC12 cells. Toxicol Appl Pharmacol. 2006;216:309–318

37- Ghousunnissa S, Nair S, Valluri VL, Mukhopadhyay S. Glutathione-redox balance regulates c-rel-driven IL-12 production in macrophages: possible implications in antituberculosis immunotherapy. J Immunol. 2010 ;184:2918-2925

38 - Calabrese , C. Cornelius, V. Leso, A. Trovato-Salinaro, B. Ventimiglia, M. Cavallaro, M. Scuto, S. Rizza, L. Oxidative stress, glutathione status, sirtuin and cellular stress response in type 2 diabetes. Biochim. Biophys. Acta. 2012;1822: 729–736.

39 - Tanaka A, Kaneto H, Miyatsuka T, Yamamoto K, Yoshiuchi K, Yamasaki Y . Role of copper ion in the pathogenesis of type 2 diabetes. Endocr J. 2009;56:699-706.

40 - Flores CR, Puga MP, Wrobel K, Garay Sevilla ME, Wrobel K. Trace elements status in diabetes mellitus type 2. Diabetes Res Clin Pract. 2011;91:333-41.

41 - Masood N, Baloch GH, Ghori RA, Memon IA, Memon MA, Memon MS. Serum zinc and magnesium in type-2 diabetic patients. J Coll Physicians Surg Pak 2009;19:483-488

42 - Fatma Bozkurt, Recep Tekin, Serda Gulsun, Ömer Satıcı, Ozcan Deveci, Salih Hosoglu. The levels of copper, zinc and magnesium in type II diabetic patients. International Journal of Diabetes in Developing Countries. 2013; 33: 165-169