

مقایسه رابطه آنزیم سوپراکسید دیس موتاز خارج سلولی با لیپوپروتئین با دانسیته کم اکسیده در بیماران دیابتی نوع دو ماکروآلبومینوریک و نورموآلبومینوریک

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۵/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: شواهد موجود مؤید افزایش استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی و بروز عوارض میکروواسکولار است. در مقابل تولید رادیکال‌های آزاد، دفاع آنتی‌اکسیدان، که شامل تعدادی از اجزاء آنزیماتیک چون Superoxide (SOD) Dismutase است، وارد عمل می‌گردند. این مطالعه به بررسی تعامل این دو سیستم در بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی می‌پردازد. **روش بررسی:** ۱۳۳ بیمار (۷۴ زن و ۵۹ مرد) مبتلا به دیابت نوع دو، مورد بررسی قرار گرفتند. براساس میزان پروتئین ادراری، بیماران به دو گروه با دفع طبیعی پروتئین (پروتئین ادراری کمتر از ۳۰ میلی‌گرم) و گروه با افزایش دفع پروتئین (پروتئین ادراری بیشتر از ۳۰۰ میلی‌گرم روزانه) تقسیم گردیدند. در هر گروه سطح سرمی oxidized-LDL و آنزیم سوپراکسید دیس موتاز خارج سلولی (Extracellular-Superoxide Dismutase, EC-SOD) تعیین و ارتباط این عوامل از طریق آنالیز رگرسیون بررسی شدند. **یافته‌ها:** سطح پلاسمایی لیپوپروتئین با دانسیته کم اکسیده (oxidized-LDL) و آنزیم سوپراکسید دیس موتاز خارج سلولی (EC-SOD) در گروه ماکروآلبومینوریک به‌طور واضح بالاتر از گروه نورموآلبومینوریک بود (۸۸/۵۷±۳۳/۳۶ در مقابل ۷۶/۲۵±۱۶/۵۲u/ml برای oxidized-LDL و ۸۷/۶۰±۲۱/۱۸ در مقابل ۷۶/۲۵±۱۶/۵۲u/ml برای EC-SOD) (p<۰/۰۰۱). ارتباط قابل توجه بین oxidized-LDL و EC-SOD در گروه ماکروآلبومینوریک وجود داشت (r=۰/۴۲۸، p<۰/۰۰۱). **نتیجه‌گیری:** بالا بودن قابل توجه oxidized-LDL در بیماران ماکروآلبومینوریک، از نقش این عامل در بروز نفروپاتی دیابتی حمایت می‌کند. افزایش EC-SOD در گروه ماکروآلبومینوریک، می‌تواند مکانیسم جبرانی برای پیشگیری از آسیب بافتی باشد.

کلمات کلیدی: دیابت نوع دو، لیپوپروتئین با دانسیته کم اکسیده، سوپراکسید دیس موتاز خارج سلولی، پروتئینوری.

فیروزه عسگرانی، لیلا خواجه علی
فاطمه اصفهانیان، محمد حسین وثوق
علیرضا استقامتی، منوچهر نجحوانی*

گروه غدد و متابولیسم

دانشگاه علوم پزشکی تهران

* نویسنده مسئول: تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع
بیمارستانی امام خمینی (ره)، مرکز تحقیقات غدد
متابولیسم
تلفن: ۶۶۹۳۱۱۱۵-۹
email: nakhjavanim@tums.ac.ir

مقدمه

جزء آنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدان، توانایی اکتشاف و خنثی‌سازی یون سوپراکسید و سایر رده‌های فعال اکسیژن را دارد.^{۱،۲} شکل خارج سلولی این آنزیم Extracellular Superoxide Dismutase (EC-SOD)، یک تترامر، ۱۳۵ کیلودالتونی است، که هر ساب یونیت آن یک اتم مس (Cu) و یک اتم روی (Zn) دارد. این آنزیم به مقدار کم در ادرار ترشح شده، از غشاء دیالیز عبور نمی‌کند^{۱۱} و به‌طور عمده به پروتئوگلیکن هپاران سولفات سلول‌های اندوتلیال عروقی و مامبران بازال گلوامولی در کلیه متصل می‌گردد.^۹ در میان ایزوآنزیم‌های SOD، سوپراکسید دیس موتاز میتوکندریایی (MnSOD, Sod1) اولین و مهمترین قدم در مبارزه با یون سوپراکسید توکسیک می‌باشد.^{۱۲-۱۴} دومین مرحله در دفاع آنتی‌اکسیدانی فعالیت ایزوآنزیم CuZn (sod2)

استرس اکسیداتیو (oxidative stress) مسیر مشترک بسیاری از مکانیسم‌های معیوبی است که به عوارض دیابت می‌انجامد. سوپراکسید (O₂⁻) و سایر رده‌های فعال اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) به‌دنبال ایجاد اختلال در عملکرد سلول آندوتلیال به بروز و تکامل آنژیوپاتی دیابتی کمک می‌کنند.^{۱۵} از این میان می‌توان به شکل‌گیری نفروپاتی دیابتی به‌دنبال آغاز آبشار استرس اکسیداتیو اشاره نمود.^{۳-۵} در مقابل تولید رادیکال‌های آزاد و پیشرفت استرس اکسیداتیو، مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدان که شامل تعدادی از اجزاء آنزیماتیک چون Superoxide Dismutase (SOD) است، وارد عمل می‌گردند.^{۶-۸} آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (SOD) به عنوان مهمترین

دفاعی در بیماران دیابتی نوع دو، امکان دستیابی به عوامل درمانی که آسیب ناشی از گلیکاسیون و واکنش‌های اکسیداتیو را، به‌خصوص در افراد مبتلا به نفروپاتی محدود می‌سازند، امکان‌پذیر می‌کند.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی طبقه‌بندی شده (stratified cross sectional)، ۱۳۳ بیمار دیابتی نوع دو که از ابتدای سال ۱۳۸۵ تا انتهای فروردین ۱۳۸۶ جهت پی‌گیری وضعیت بیماری به درمانگاه دیابت مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره) تهران مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه اطلاعات حاصل از شرح حال، معاینات و آزمایشات بیماران در پرسشنامه‌های مخصوص وارد شده و از کلیه بیماران رضایت‌نامه کتبی جهت معاینات، آزمایشات مربوطه و ورود به مطالعه گرفته شد. به کلیه بیماران توضیح کافی مبنی بر عدم تاثیر نتایج آزمایشگاهی بر روی روند بیماری و درمان ایشان داده شد. از آنجا که تنها مسئله خون‌گیری از بیمار مطرح بود و مداخله‌ای در درمان آنها صورت نمی‌گرفت، ملاحظه اخلاقی خاصی در این مطالعه وجود نداشت. بیماران مبتلا به دیابت نوع دو شناخته شده که محدوده سنی بین ۳۵ تا ۷۰ سال داشته، در شش ماه اخیر از ترکیبات آنتی‌اکسیدان و پایین آورنده چربی، به‌خصوص استاتین استفاده نکرده، در سه ماه قبل از ورود به مطالعه در بیمارستان بستری نگردیده، مبتلا به نارسایی قلبی (کلاس III، IV)، کم کاری و پر کاری تیروئید و بیماری التهابی و حاد کلیوی نبودند، وارد این مطالعه شدند. همچنین افراد مبتلا به پای دیابتی از مطالعه خارج گردیدند. آزمایشات اولیه شامل اندازه‌گیری قند خون ناشتا، HbA1c، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با دانسیته کم، لیپوپروتئین با دانسیته بالا و کراتینین انجام گرفت. میزان GFR بر حسب میلی‌لیتر در دقیقه و براساس فرمول Cockcroft-Gault و میزان پروتئین ادراری با توجه به میزان آلبومین ادرار ۲۴ ساعته اندازه‌گیری شد. سطح سرمی oxidized-LDL توسط کیت‌های Mercodia کشور سوئد براساس دو آنتی‌بادی مونوکلونال و به روش ELISA اندازه‌گیری شد. Intra assay (cv) و coefficient of variation به ترتیب ۴/۵٪ و ۷٪ بود. اندازه‌گیری میزان سرمی آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (EC-SOD) سلولی (EC-SOD) به روش ELISA و توسط کیت chemicals Cayman انجام پذیرفت. Intra assay cv و Inter assay cv به ترتیب

SOD موجود در سیتوزول سلولی می‌باشد. این ایزوآنزیم از عملکرد دفاعی sod1 حمایت کرده و به خنثی‌سازی O_2^- ایجاد شده در سیتوزول و میتوکندری می‌پردازد.^{۱۵} در مقابل دو ایزوآنزیم نامبرده، فرم خارج سلولی این آنزیم (EC-SOD)، O_2^- را بر سطح خارج سلولی شناسایی کرده و بدین‌وسیله با برداشت O_2^- به محافظت سلول‌ها می‌پردازد. همچنین این آنزیم در حفظ حیات بیولوژیک اکسیدنیتر (No) در بافت اندوتلیال نقش اساسی دارد.^{۱۶} محققین معتقدند فرم خارج سلولی این آنزیم بین برداشت O_2^- و تولید H_2O_2 توازن ایجاد نموده و در اغلب روندهای حیاتی مهم چون پرولیفراسیون و آپوپتوزیس شرکت می‌کند.^{۱۷} به نظر می‌رسد توانایی مبارزه سیستم آنتی‌اکسیدان با عوامل استرس اکسیداتیو پس از حدود دو تا سه ماه درمان ناکافی دیابت به ناکارآمدی این سیستم منجر می‌شود.^{۱۸،۱۹} کاهش فعالیت این آنزیم به گلیکاسیون غیر آنزیمی وابسته بوده و مطالعات مؤید گلیکاسیون حدود ۵۰ درصد از SOD در ایتروسیت‌های افراد دیابتی است.^{۱۰} براین اساس اکثر محققین معتقدند، فعالیت آنزیم SOD در بیماران دیابتی نوع دو مبتلا به انواعی از عوارض میکرو و ماکروواسکولار کاهش می‌یابد و کاهش میزان این آنزیم با مدت ابتلاء به دیابت و عوارض آن مرتبط است.^{۲۰-۲۲} در مقابل نظریات یاد شده، تعداد دیگری از محققین به دلیل مجموعه‌ای از عوامل از جمله تاثیر شرایط هیپرگلیسمیک بر کاهش تمایل اتصال EC-SOD گلیکوزیله به هپارین سولفات سطح اندوتلیال، کاهش توانایی جذب این عامل توسط سلول اندوتلیال و متعاقباً ورود به جریان خون و همچنین کاهش کلیرانس آن، که خود به افزایش سطح سرمی این آنزیم (EC-SOD) در بیماران دیابتی نوع دو مبتلا به نفروپاتی منجر می‌شود، معتقد هستند.^{۱۱،۲۳} با توجه به نتایج متفاوت در مورد توازن عوامل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان در بیماران دیابتی مبتلا به عوارض میکروواسکولار، برآن شدیم به بررسی تعامل بین این دو سیستم در بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی پردازیم. از oxidized-LDL با توجه به گزارشات اخیر که از نقش آن در بروز نفروپاتی دیابتی حمایت می‌کند، به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو و از اندازه‌گیری سطح خارج سلولی آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (EC-SOD) به‌عنوان نماینده دفاع آنتی‌اکسیدان استفاده و به مقایسه این دو در گروه بیماران مبتلا به ماکرو و نورموآلبومینوریا پرداختیم. بدون شک افزایش اطلاعات در زمینه استرس اکسیداتیو و مکانیسم‌های

معادل ۳/۲ و ۳/۷ درصد و محدوده قابل قبول ۰/۲۵-۰/۲۵ u/ml بود. کل بیماران براساس میزان پروتئین ادرار به دو گروه نورموآلبومینو-ریک و ماکروآلبومینوریک تقسیم شدند. در گروه نورمو و ماکرو-آلبومینوریک، به ترتیب ۷۰ و ۷۵ بیمار، جای گرفتند. اطلاعات پس از کامل شدن پرسشنامه‌ها در نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۵ ثبت و داده‌ها با استفاده از جداول و نمودارها توصیف شدند. مقادیر داده‌های کمی با میانگین ± انحراف معیار (SD) و داده‌های کیفی با میزان فراوانی (شیوع)، به صورت نسبی و مطلق گزارش گردید. سطح oxidized-LDL و میزان فعالیت EC-SOD در دو گروه ماکروآلبومینوریک و نورموآلبومینوریک به کمک student's t-test مقایسه گردیدند. رابطه این دو عامل در هر گروه از طریق آنالیز رگرسیون و محاسبه ضریب همبستگی r به نمایش گذاشته شد. پس از احتساب آلبومینوری به عنوان متغیر وابسته، میزان همبستگی این عامل با سایر متغیرها توسط multivariate logistic regression analysis محاسبه گردید. p<۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

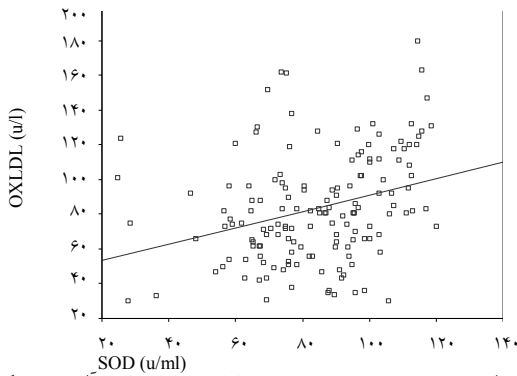
در این مطالعه ۱۳۳ بیمار دیابتی نوع دو (۷۴ زن و ۵۹ مرد) بررسی

شدند. متوسط سن بیماران ۵۹/۰±۸/۲۶ سال و متوسط زمان ابتلاء به دیابت ۱۳۷/۹۲±۶۵/۹۱ ماه بود، که در دو گروه نورموآلبومینوریک و ماکروآلبومینوریک تفاوت قابل توجه به لحاظ آماری نداشت. ۴٪ بیماران گروه نورموآلبومینوریک و ۵٪ افراد گروه ماکروآلبومینوریک در پنج سال اخیر قبل از مطالعه (البته به استثناء سه ماه قبل از مطالعه)، سابقه بستری در CCU به دلیل انفارکتوس قلبی، آنژین صدری و نارسایی احتقانی قلب داشتند که البته بین دو گروه تفاوت قابل توجه از نظر تعدد بستری در CCU به دست نیامد (p=۰/۸۵). نکته مهم آنکه دو گروه ماکرو و نورموآلبومینوریک از نظر متوسط اندکس توده بدنی، فشار خون سیستولی و دیاستولی، میزان HbA1c، قند خون ناشتا، کلسترول، c-LDL، c-HDL و تری گلیسرید، اختلاف معنی‌دار نداشتند (جدول ۱). متوسط سطح سرمی oxidized-LDL در بیماران وارد شده به این مطالعه ۸۰/۳۹±۳۰/۴۰ u/l و متوسط سرمی آنزیم SOD، ۸۱/۹۲±۰۲/۱۲ u/ml محاسبه گردید. Oxidized-LDL و SOD با مدت ابتلا به دیابت، تعداد بستری در CCU و میزان HbA1c چه در گروه نورموآلبومینوریک و چه در گروه ماکروآلبومینوریک ارتباط قابل توجه نشان ندادند. متوسط مقدار oxidized-LDL به ترتیب در گروه نورموآلبومینوریک و گروه ماکروآلبومینوریک، ۷۵/۰۷±۲۶/۴۶ u/L

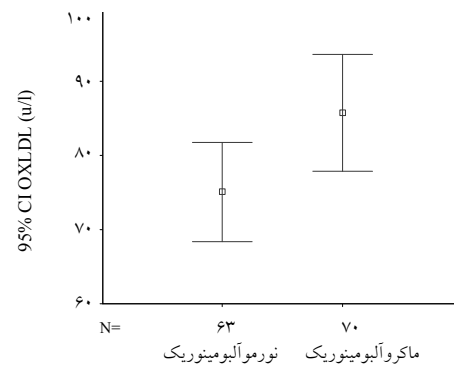
جدول ۱: خلاصه اطلاعات بالینی و آزمایشگاهی در دو گروه نورموآلبومینوریک و گروه ماکروآلبومینوریک

متغیر	گروه الف (نورموآلبومینوریک) n=۶۳	گروه ب (ماکروآلبومینوریک) n=۷۰	p
متوسط سن (سال)	۵۸/۴۸±۸/۲۷	۵۹/۲۹±۸/۳	۰/۵۵
درصد مردان در هر گروه	۳۸/۴	۵۵/۱	* ۰/۰۴
متوسط مدت ابتلا به دیابت (ماه)	۱۳۸/۹±۷۷/۹۳	۱۴۱/۹۴±۷۰/۴۴	۰/۸۰۱
درصد افراد بستری شده در CCU	۵/۵	۶/۴	۰/۸۰۹
اندکس توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۶/۶۴±۵/۴۷	۲۵/۴۸±۴/۱۴	۰/۱۴۶
فشار خون سیستولی (میلی‌متر جیوه)	۱۳۵/۰۳±۱۷/۵۶	۱۳۸/۶±۱۵/۸۲	۰/۱۹۰
فشار خون دیاستولی (میلی‌متر جیوه)	۸۳/۶۴±۱۰/۵	۸۴/۸۶±۹/۵۲	۰/۴۵۱
کراتینین (گرم در دسی‌لیتر)	۰/۹۳±۰/۲۳	۱/۱۳±۰/۳۳	*** <۰/۰۰۱
میزان فیلتراسیون گلوبولینی (میلی‌لیتر در دقیقه)	۷۸/۸۱±۲۲/۸۹	۶۷/۵۷±۲۳/۱۹	** <۰/۰۰۳
قند خون ناشتا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۷۲/۵۲±۶۹/۰۲	۱۷۴/۷۶±۵۳/۹۶	۰/۸۲۶
میزان پروتئین ادرار ۲۴ ساعته (mg/24h)	۹/۳۹±۴/۱۰	۸۵±۴۸	*** ۰/۰۰۰۱
HbA1C (%)	۸/۵۷±۱/۷۰	۹/۷±۱/۷۸	۰/۰۸۴
کلسترول تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۹۰/۸۵±۵۰/۵	۱۹۷/۷۱±۵۰/۳۸	۰/۴۰۳
لیپوپروتئین با دانسیته کم (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۸۵/۸۴±۲۷/۹۴	۹۱/۶۷±۲۷/۳۱	۰/۱۹۸
لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۳۲/۲۷±۷/۴۹	۳۱/۲۸±۵/۲۸	۰/۳۳۸
تری گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۸۹/۳۵±۸۸/۵۹	۱۹۴/۹±۶۷/۷۸	۰/۷۱۲
لیپوپروتئین با دانسیته کم اکسیده (u/L)	۷۸/۲۴±۲۷/۵۹	۸۸/۵۷±۳۳/۳۶	* ۰/۰۳۹
میزان سرمی آنزیم سوپراکسید دیس‌موتاز - خارج سلولی (u/mL)	۶۹/۲۵±۱۶/۵۲	۸۷/۴۴±۲۱/۱۸	*** ۰/۰۰۱

* وجود ارتباط معنی‌دار در سطح p < ۰/۰۵ ** وجود ارتباط معنی‌دار در سطح p < ۰/۰۱ *** وجود ارتباط معنی‌دار در p < ۰/۰۰۱ آزمون آماری مورد استفاده t-test بود.



نمودار-۳: رابطه oxidized-LDL و SOD در بیماران دیابتی ماکروآلبومینوریک (r=۰/۴۲۸ و p<۰/۰۰۱)



نمودار-۱: مقایسه سطح oxidized-LDL در بیماران نورمو و ماکروآلبومینوریک

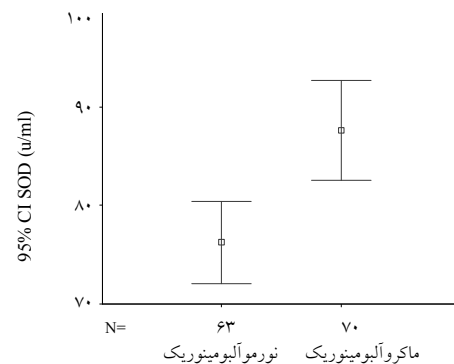
جدول-۲: متغیرهای ماکروآلبومینوریا با آنالیز multivariate logistic regression

متغیر	Odds ratio	95% CI	p
کراتینین	۲۱/۵۱۷	۲/۲۱۳-۲۰۹/۲۳۲	** ۰/۰۰۸
SOD	۱/۰۲۶	۱/۰۰۵-۱/۰۴۸	* ۰/۰۱۷

آنالیز رگرسیون چند متغیره: * ارتباط معنی دار: p<۰/۰۰۵ ** ارتباط معنی دار: p<۰/۰۱
SOD= Superoxide Dismutase

بحث

در مطالعه‌ای که گذشت سطح oxidized-LDL در گروه ماکروآلبومینوریک به‌طور واضح بالاتر از گروه نورموآلبومینوریک بود که از نقش استرس اکسیداتیو و از جمله oxidized-LDL در پیشرفت نروپاتی دیابتی حمایت می‌کند. این نتیجه با ماحصل مطالعات Atchley D, Wang H, Sac hie Tsuzura, Noriko ujihara, Nakhjavani M منطبق بود.^{۲۴-۲۸} شواهد در دسترس مؤید نقش oxidized-LDL در بروز نفرواسکلروزیس و آترواسکلروزیس است.^{۲۹} به‌عبارت بهتر، در بیماران دیابتی نوع دو، LDL کوچک و متراکم به‌نسبت LDL معمولی به اکسیداسیون حساس‌تر می‌باشد.^{۳۰} همچنین وجود LDL اکسیده در گلوامرول موش‌های مبتلا به گلوامرولواسکلروزیس فوکال سگمنتال اثبات شده است.^{۳۱،۳۲} ضمن اینکه تمایل سلول مزانژیال گلوامرولی به oxidized-LDL به مراتب بیشتر از native LDL بوده، که خود موید رسپتورهای کاوشگر (Scavenger receptor) بر روی این سلول‌ها و توانایی بالقوه oxidized-LDL در بروز گلوامرولواسکلروزیس دیابتی است.^{۳۳،۳۴} همچنین بررسی سطح آنزیم سوپراکسید دیس موتاز خارج سلولی (EC-SOD) نتایج قابل توجهی به‌دست داد. سطح این آنزیم در بیماران مبتلا به نروپاتی واضح به‌مراتب بیشتر از گروه نورموآلبومینوریک



نمودار-۲: مقایسه سطح SOD خارج سلولی در بیماران نورمو و ماکروآلبومینوریک

و $85/72 \pm 32/92 \mu/ml$ بود که با $p < 0/041$ از نظر آماری تفاوت قابل توجه داشتند (نمودار ۱). همچنین میزان سرمی آنزیم SOD در گروه نورموآلبومینوریک $76/25 \pm 16/52$ و در گروه ماکروآلبومینوریک $87/60 \pm 21/18 \mu/ml$ به‌دست آمد که با $p < 0/001$ تفاوت قابل ملاحظه بین دو گروه وجود داشت (نمودار ۲). ضریب همبستگی oxidized-LDL و SOD در گروه نورموآلبومینوریک و در گروه ماکروآلبومینوریک به‌ترتیب معادل $-0/12$ و $0/428$ محاسبه گردید، که در گروه ماکروآلبومینوریک با $p < 0/0001$ ارتباط این دو عامل قابل توجه بود، (نمودار ۳). درصد مردان در گروه ماکروآلبومینوریک بیشتر از گروه نورموآلبومینوریک بود ($38/4\%$ در مقابل $55/1\%$ ، $p=0/04$). با این وجود پس از adjustment یافته‌های بیوشیمیایی براساس جنس، سن، مدت ابتلاء به دیابت، درصد بستری در CCU، فشار خون سیستولی و دیاستولی تفاوت معنی‌داری بین یافته‌های بیوشیمیایی به‌دست نیامد. در آنالیز multivariate logistic regression براساس متغیرهای مرتبط با ماکروآلبومینوریا ارتباط SOD و کراتینین به لحاظ آماری قابل توجه بود (جدول ۲).

نفروپاتی است. Nakajima، نشان داد کاوشگرهای رادیکال‌های آزاد چون EC-SOD از بروز نفروپاتی شدید در موش‌هایی که به دنبال مصرف جنتامایسین دچار کاهش عملکرد کلیوی شدند، جلوگیری کرد.^{۳۸} Haurataka به نقش حفاظتی EC-SOD در پیشگیری از همودیالیز در مبتلایان به بی‌کفایتی کلیه اشاره می‌کند.^{۳۷} این نظریه باعث شد اثر مقلدهای دارویی SOD در پیشگیری از نفروپاتی دیابتی مورد آزمون قرار بگیرند. Asaba متوجه شد Tempol (مقلد صنعتی آنزیم سوپراکسید دیس موتاز) در موش‌های مبتلا به دیابت، مانع تولید NADPH اکسیداز و پراکسیداز شده و از وسعت‌یافتگی ماتریکس گلوامرولار پیشگیری می‌کند.^{۳۹} ب- افزایش سطح سرمی EC-SOD می‌تواند نتیجه کاهش تمایل اتصال EC-SOD گلیکوزیله به پروتئو-گلیکان‌های پاران سولفات آندوتلیوم عروقی باشد که خود حاصل دیابت طول کشیده و کنترل نشده است. همچنین آسیب آندوتلیال عروقی در جریان استرس اکسیداتیو، توانایی جذب EC-SOD را کاهش و باعث انتشار این عامل به جریان خون می‌گردد. کاهش کلیرانس کلیوی و از دست رفتن هپاران سولفات مامبران بازال گلوامرولی در جریان پروتئینوری نیز به افزایش سطح EC-SOD کمک می‌کند. در مطالعه ما، بالا بودن سطح SOD و فرآورده مهم استرس اکسیداتیو، یعنی oxidized-LDL در بیماران ماکروآلبومینوریک و همراهی واضح EC-SOD با این عامل، می‌تواند موید شدت استرس اکسیداتیو در این بیماران و افزایش جبرانی دفاع آنتی‌اکسیدان، در پیشگیری از ادامه روند آسیب بافتی باشد. اینکه افزایش EC-SOD توسط دلایل بند الف و یا ب توجیه‌پذیر است و یا به تلفیقی از این دو وابسته است، مشخص نیست. طراحی مطالعات ذیل کمک‌کننده خواهد بود: ۱- مداخله درمانی که در آن عملکرد مقلدهای SOD بر کاهش پروتئین ادراری بیماران ماکروآلبومینوریک سنجیده شود، که در صورت تأثیر می‌تواند نظریه «الف» و نقش حفاظتی EC-SOD را تایید کند. ۲- بررسی سطح پروتئوگلیکان‌های پاران سولفات ادراری و میزان سرمی EC-SOD که در صورت ارتباط مؤیدی بر توضیحات نظریه «ب» می‌باشد.

بود. اگر چه تعدادی از منابع بر تأثیر مدت زمان ابتلاء به دیابت، چگونگی کنترل گلیسمیک، سطح HbA1c و نوع داروی کاهنده گلوکز خون بر روی سطح خارج سلولی SOD تأکید دارند، عدم وجود تغییر معنی‌دار در مقادیر SOD در گروه ماکرو و نورموآلبومینوریک پس از تطابق (adjustment) مدت ابتلاء به دیابت، HbA1c، مصرف انسولین و داروهای خوراکی، بررسی ارتباط سطح این آنزیم با مقدار پروتئین ادراری را به شکل صحیح‌تر امکان‌پذیر ساخت. در مورد تغییرات سطح SOD در بیماران با عوارض میکروواسکولار دیابت و از جمله نفروپاتی دو دسته نظریه مجزا وجود دارد: گروه اول: این محققین معتقدند فعالیت نسبی آنزیم SOD در دیابت با عوارض میکرو و ماکروواسکولار کاهش می‌یابد و کاهش میزان فعالیت این آنزیم با مدت ابتلاء و عوارض آن مرتبط است.^{۳۶، ۳۵، ۱۱} استرس اکسیداتیو در اولین هفته بعد از القای هیپرگلیسمی تجربی به افزایش جبرانی ساخت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله SOD منجر می‌شود. ادامه و پیشرفت گلیکوزیلاسیون پروتئین‌های آنزیماتیک چون عوامل دفاع آنتی‌اکسیدان از حد فعالیت جبرانی این سیستم فراتر رفته و به کاهش عملکرد می‌انجامد.^{۱۰} در مطالعه Kornelia، ۲۱ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو با نفروپاتی واضح، ۱۴ بیمار دیابتی بدون نفروپاتی و همچنین ۱۹ فرد سالم بررسی و میزان فعالیت آنزیم SOD در گلبول‌های قرمز این افراد اندازه‌گیری شد.^{۱۰} استرس اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز افراد مبتلا به دیابت نوع دو بالاتر بود و میزان فعالیت آنزیمی دفاع آنتی‌اکسیدان در گروه با نفروپاتی واضحاً کمتر از گروه بدون نفروپاتی و گروه کنترل بود. ($130.3 \pm 134 \text{ u/gHb}$ در گروه نفروپاتی در مقابل $150.5 \pm 71 \text{ u/gHb}$ در گروه بدون نفروپاتی و $130.3 \pm 134 \text{ u/gHb}$ در گروه کنترل سالم، $p < 0.001$). گروه دوم: این محققین به افزایش نسبی سطح آنزیم SOD خارج سلولی در دیابت نوع دو با عوارض میکروواسکولار معتقدند.^{۳۷-۳۹، ۱۱} توجیه این گروه در دو مقوله می‌گنجد: الف- افزایش سطح و یا فعالیت آنزیم SOD یک مکانیسم جبرانی و حفاظتی در مقابل استرس اکسیداتیو شدید به خصوص در مبتلایان به

References

- Barnett AH. Pathogenesis of diabetic microangiopathy: an overview. *Am J Med* 1991;90(6A):67S-73S.
- Ha H, Kim KH. Role of oxidative stress in the development of diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 1995;51:S18-21.
- Diamond JR. The role of reactive oxygen species in animal models of glomerular disease. *Am J Kidney Dis* 1992;19(3):292-300.
- Girach A, Vignati L. Diabetic microvascular complications: can the presence of one predict the development of another? *J Diabetes Complications* 2006;20(4):228-37.
- Anjaneyulu M, Chopra K. Nordihydroguaiaretic acid, a lignin, prevents oxidative stress and the development of diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology* 2004;72(1):42-50.

6. Oberley LW. Free radicals and diabetes. *Free Radic Biol Med* 1988;5(2):113-24.
7. Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K, Niitsu T, Miyao A, Kato K. Antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in various tissues of diabetic and starved rats. *Diabetes Res* 1989;12(2):85-91.
8. Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. *Diabetes* 1987;36(9):1014-8.
9. Skrzycki M, Czczot H. Superoxide dismutase as a potential therapeutic agent. *Adv Clin Exp Med* 2007;16(4):561-68.
10. Kedziora-Kornatowska K, Luciak M, Blaszczyk J, Pawlak W. Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with non-insulin dependent diabetes with or without diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(11):2829-32.
11. Shimomura H, Maehata E, Takamiya T, Adachi T, Komoda T. Blood extracellular superoxide dismutase levels in hemodialysis patients pre- and post-hemodialysis and its association with lipoprotein lipase mass and free fatty acid. *Clin Chim Acta* 2003;328(1-2):113-9.
12. Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. *J Biol Chem* 1997;272(30):18515-7.
13. Beckman KB, Ames BN. Endogenous oxidative damage of mtDNA. *Mutat Res* 1999;424(1-2):51-8.
14. Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the Cu, ZnSOD (sod 1), Mn-SOD (sod2) and EC-SOD (sod3) gene structures. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 2002;33(3):337-49.
15. Isoherranen K, Peltola V, Laurikainen L, Punnonen J, Laihia J, Ahotupa M, et al. Regulation of copper/zinc and manganese superoxide dismutase by UVB irradiation, oxidative stress and cytokines. *J Photochem Photobiol B* 1997;40(3):288-93.
16. Fattman CL, Schaefer LM, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic Biol Med* 2003;35(3):236-56.
17. Antunes F, Cadenas E. Cellular titration of apoptosis with steady state concentrations of H₂O₂: submicromolar levels of H₂O₂ induce apoptosis through Fenton chemistry independent of the cellular thiol state. *Free Radic Biol Med* 2001;30(9):1008-18.
18. Ndahimana J, Dorchy H, Vertongen F. Erythrocyte and plasma antioxidant activity in diabetes mellitus type I. *Presse Med* 1996;25(5):188-92.
19. Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. *Diabetes* 1987;36(9):1014-8.
20. Kesavulu MM, Giri R, Kameswara Rao B, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab* 2000;26(5):387-92.
21. Kratnov AE, Popov SA, Kratnov AA, Dem'iankova IuO. Antioxidative defense in patients with acute coronary syndrome and concomitant type 2 diabetes and its modification by lisinopril. *Kardiologiia* 2005;45(8):23-7.
22. Blaszczyk R, Kujawski K, Kedziora-Kornatowska K, Kornatowski T, Kedziora J, Szadujkis-Szadurski L, et al. The total antioxidant capacity and low-molecular antioxidant concentration in plasma of type-2 diabetes patients with different stage of metabolic compensation and concomitant diabetic nephropathy. *Pol Merkur Lekarski* 2005;18(103):29-32.
23. Kostić N, Caparević Z, Ilić S. Antioxidant status in type II diabetes mellitus patients with or without microvascular complications. *Srp Arh Celok Lek* 2007;135(3-4):143-6.
24. Ujihara N, Sakka Y, Takeda M, Hirayama M, Ishii A, Tomonaga O, et al. Association between plasma oxidized low-density lipoprotein and diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2002;58(2):109-14.
25. Tsuzura S, Ikeda Y, Suehiro T, Ota K, Osaki F, Arai K, et al. Correlation of plasma oxidized low-density lipoprotein levels to vascular complications and human serum paraoxonase in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2004;53(3):297-302.
26. Wang H, Deng H, Liu W. The effects of paraoxonase-1 and oxidized low density lipoprotein on nephropathy in type-2 diabetes mellitus. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2002;41(3):179-82.
27. Atchley DH, Lopes-Virella MF, Zheng D, Kenny D, Virella G. Oxidized LDL-anti-oxidized LDL immune complexes and diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2002;45(11):1562-71.
28. Nakhjavani M, Esteghamati A, Khalilzadeh O, Asgarani F, Mansournia N, Abbasi M. Association of macroalbuminuria with oxidized LDL and TGF-beta in type 2 diabetic patients: a case-control study. *Int Urol Nephrol* 2009 Sep 19.
29. Lee HS, Kim YS. Identification of oxidized low density lipoprotein in human renal biopsies. *Kidney Int* 1998;54(3):848-56.
30. Lamarche B, Lemieux I, Després JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab* 1999;25(3):199-211.
31. Magil AB, Frohlich JJ, Innis SM, Steinbrecher UP. Oxidized low-density lipoprotein in experimental focal glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1993;43(6):1243-50.
32. Lee HS, Jeong JY, Kim BC, Kim YS, Zhang YZ, Chung HK. Dietary antioxidant inhibits lipoprotein oxidation and renal injury in experimental focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1997;51(4):1151-9.
33. Coritsidis G, Rifici V, Gupta S, Rie J, Shan ZH, Neugarten J, et al. Preferential binding of oxidized LDL to rat glomeruli in vivo and cultured mesangial cells in vitro. *Kidney Int* 1991;39(5):858-66.
34. Schlondorff D. Cellular mechanisms of lipid injury in the glomerulus. *Am J Kidney Dis* 1993;22(1):72-82.
35. Kimura F, Hasegawa G, Obayashi H, Adachi T, Hara H, Ohta M, et al. Serum extracellular superoxide dismutase in patients with type 2 diabetes: relationship to the development of micro- and macrovascular complications. *Diabetes Care* 2003;26(4):1246-50.
36. Fujita H, Fujishima H, Chida S, Takahashi K, Qi Z, Kanetsuna Y, et al. Reduction of renal superoxide dismutase in progressive diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(6):1303-13.
37. Yamada H, Yamada Y, Adachi T, Fukatsu A, Sakuma M, Futenma A, et al. Protective role of extracellular superoxide dismutase in hemodialysis patients. *Nephron* 2000;84(3):218-23.
38. Nakajima T, Hishida A, Kato A. Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Am J Physiol* 1994;266(3 Pt 2):F425-31.
39. Asaba K, Tojo A, Onozato ML, Goto A, Fujita T. Double-edged action of SOD mimetic in diabetic nephropathy. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;49(1):13-9.

The relationship of Extracellular- Superoxide Dismutase enzyme (EC-SOD) with oxidized- low density lipoprotein in type 2 diabetes with macro and normoalbuminuria

Received: May 03, 2009 Accepted: August 12, 2009

Abstract

Asgarani F.
Khajali L.
Esfahanian F.
Vosogh M.H.
Esteghamati A.R.
Nakhjavani M.*

Department of Endocrinology and Metabolism

Tehran University of Medical Sciences

Background: Increased rate of oxidative stress have important role in diabetic nephropathy. Oxidative stress induces the synthesis of antioxidant enzymes. One of them, Extracellular- SOD (EC-SOD) is a major anti-oxidative enzyme and the only one that neutralizes superoxide ion, a precursor of reactive oxygen species (ROS). The aim of this study was to evaluate the correlation between diabetes- associated oxidative stress and antioxidative defense in macroalbuminuric type 2 diabetic patients.

Methods: One hundred and thirty three patients (74 women, 59 men) with type 2 diabetes were studied during 1385-86. According to level of urinary protein, two groups of patients; normoalbuminuric (urinary protein excretion below 30mg/24h) and macroalbuminuric (urinary protein excretion more than 300mg/24) were recognized. In each group serum level of oxidized- LDL and EC-SOD were measured.

Results: The mean age of patients and the mean duration of diabetes was 59.09±8.26 years and 137.92±65.91 months, respectively. The plasma oxidized-LDL level and extracellular- superoxide dimutase level were significantly higher in macroalbuminuric than normoalbuminuric group (88.57±33.36 versus 78.24±27.59u/l, p=0.039 for oxidized-LDL and 87.60±21.18 versus 76.25±16.25mu/l, p<0.001 for EC-SOD). Oxidized- LDL was significantly correlated to EC-SOD in macroalbuminuric patients (r=0.425, p<0.0001). Oxidized-LDL and EC-SOD does not correlate to Fasting Plasma Glucose and HbA1c in each two groups.

Conclusion: The significantly elevated plasma oxidized-LDL in patients with macroalbuminuria suggests that, oxidized-LDL may play an important role in the progression of diabetic nephropathy. Besides severity of oxidative stress in macroalbuminuric patients, increase level of EC-SOD enzyme could be a compensatory mechanism to prevent tissue damage.

Keywords: Diabetes mellitus, oxidized- LDL, extracellular-SOD, proteinuria.

* Corresponding author: Endocrinology and Metabolism Research Center (EMRC), Imam Khomeini Hospital, Keshavarz Blvd., Tehran, Iran
Tel: +98-21-66931115-9
email: nakhjavanim@tums.ac.ir