

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

قال تعالى :

وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ ۗ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا

سورة الإسراء الآية (85)

DEDICATION

To my dear parents

Who have offered me everything without taking
anything?

To.....

To my wife and our son A homed and our
daughters.

Elrasheed

ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are first and last to (ALLAH) who enabled me to conduct this study by the grace of him and give me strength and patience.

I would like to express my deep and sincere gratitude and appreciation to my supervisor, *Dr. Badreldien Hassan Elabid* for his encouragement, supervision, time, patience, effort, critical comment and invaluable sound advice and careful guidance.

My very special thanks and sincere respect to my co-supervisor, *Dr. Mhomed Abdelraheem Abdallah*, for his suggestion, close supervision and guidance throughout the study period.

My thanks are extended to the laboratory staff of Shmpat Research centre University of Khartoum, Abelmoniem centre for diabetes, and Jabir Abulizz Diabetes Centre for their kind help.

My very special thanks are due acknowledged to *Ustza Rasha Dafa alla & Ustaz Monzer Omer & Ustaz Mohaned Mohamed mohamed (Shmpat Research centre University of Khartoum)* for their kind help.

It is pleasure to acknowledge the volunteers who were enrolled in this study, without them this work would not have been done.

Finally I would like to thank everybody who positively contributes in finalizing this thesis.

ABSTRACT

A cross-sectional study conducted during the period from January 2009 to December 2011 to determine and evaluate the plasma levels of Malondialdehyde, antioxidants vitamins (A, E, C) and selenium in Sudanese patients with type 2 diabetes mellitus. Two hundred eighty five patients with type 2 diabetes mellitus were selected as a test group from. The test group was compared with the control group which included 100 apparently healthy volunteers (non diabetics). Blood specimens were collected from both groups, and plasma levels of Malondialdehyde, antioxidants vitamins (A, E, C) and selenium, in addition to fasting plasma glucose (FPG) and glycated hemoglobin (HbA1c) were determined. Age and gender of the test group were matched with the control group.

The results of this study indicate a significantly raised means of the plasma levels of malondialdehyde, fasting plasma glucose, and blood HbA1C of the test group when compared with healthy control subjects, whereas the means of the plasma levels of antioxidant vitamins (A, E, C), and selenium showed significant reduction when compared with that of the control group.

The results of the present study indicate also significant elevations of the mean of plasma levels of antioxidant vitamins (A, E,) and selenium of the diabetic patients on multivitamins when compared with those not taking multivitamins, and there is significant reduction of the means of plasma levels of MDA, FPG, and blood HbA1C% of the diabetic patients on multivitamins when compared with those not taking multivitamins, where as there is insignificant difference between the mean of plasma levels of vitamin C between the two groups. Whereas there is insignificant difference between the mean of plasma levels malondialdehyde, antioxidant vitamins (A, E, C), selenium, fasting plasma glucose, and blood HbA1C% of the diabetic patients on hypoglycemic drugs and those on diet control.

The results of the current study indicate significant reduction of the means of plasma levels of antioxidant vitamins (A, E, C) of the diabetic patients with hypertension when compared with normotensive diabetic patients, where as there is insignificant difference between the means of plasma levels of malondialdehyde, selenium, plasma fasting glucose, and blood HbA1C between the two groups.

In this study there is insignificant difference between the means of the plasmas levels of antioxidant vitamins (A, E, C), fasting plasma glucose, and blood HbA1C of the diabetic patients with ischemic heart disease and those without ischemic heart disease, and there is significant increase in the mean of plasma

levels of malondialdehyde of patients with ischemic heart disease and those without this disease, also there is significant decrease in the mean of plasma levels of selenium of the patients with ischemic heart disease and those without this disease.

The results of this study indicate significant strong positive correlation between HbA1C percentage and fasting plasma glucose (FPG), and significant negative correlation between HbA1C and plasma selenium, whereas there is insignificant weak positive correlation between HbA1C and plasma levels of malondialdehyde, vitamin A, and vitamin C, also there is weak negative correlation between HbA1C and vitamin E.

The current study indicate no correlation between the BMI and plasma levels of MDA, selenium, vitamin A, vitamin E, FPG, and HbA1C, and there is insignificant weak negative correlation between the BMI and the plasma levels of vitamin C.

The results of the current study indicate no correlation between the duration of disease (in years) and the plasma levels of MDA, selenium, vitamin A, and vitamin C, and show weak positive correlations between the duration of diabetes (in years) and plasma levels of vitamin E, and HbA1C, also there is moderate positive correlation between the duration of diabetes (in years) and FPG, also the study showed insignificant negative correlation between the duration of diabetes (in years) and the BMI.

In conclusion; the current study indicates that the plasma levels of Malondialdehyde, antioxidants vitamins (A, E, C), selenium, fasting plasma glucose, and glycated hemoglobin (HbA1c) are important markers for evaluation of oxidative stress, antioxidants status, and glycemic control of diabetic patients respectively, so they can be used as prognostic markers for prediction of oxidative stress, antioxidants status, and glycemic control of diabetic patients especially in patients with complications such as hypertension, ischemic heart disease, lipid abnormalities, and uncontrolled diabetes.

مستخلص الدراسة

اجريت هذه الدراسة المقطعية فى الفترة ما بين يناير 2009 حتى ديسمبر 2011 لتحديد وتقويم مستويات بلاسما المألون ثناى الالدهايد ومجموعة الفتيامينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم فى السودانين المصابين بدا السكرى النوع الثانى.

تم اختيار 285 من السودانين المصابين بدا السكرى النوع الثانى كمجموعة اختبار من مركز جابر ابوالعز لمرضى السكر, مستشفى امدرمان التعليمى (عيادة مركز عبدالمنعم المحولة لمرضى السكرى) ومراكز السكرى الاخرى بولاية الخرطوم, حيث قورنت هذه المجموعة مع مجموعة ضابضة تضم 100 من المتطوعين الاصحاء.

تم جمع عينات الدم من كلتا المجموعتين من ثم تم تحديد مستويات بلاسما المألون ثناى الالدهايد ومجموعة الفتيامينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم و جلکوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکزوفى هذه الدراسة تطابقت اعمار و جنس مجموعة الاختبار والمجموعة الضابطة.

تم قياس المألون ثناى الالدهايد باستخدام تقنية جهاز ال ELISA وتم قياس الفيتامينات المضادة للاكسدة باءستخدام جهاز قياس الطيف اللونى السائل العالى الكفاءة HPLC كذلك استخدمت طرق جهاز قياس الاطياف الضوئية Auto analyzer Spectrophotometr لقياس جلکوز الدم وتم قياس هيموقلوبين المجلکز بجهاز NycoCard READER على اساس تقارب البورونيد الونى, وتم استخدام الحزمة الاحصائية للعلوم الاجتماعية لتحليل النتائج.(SPSS)

اظهرت نتائج هذه الدراسة زيادة ذات دلالة احصائية فى مستويات بلاسما المألون ثناى الالدهايد و جلکوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکز للمجموعة المختبرة عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة, كما اظهرت انخفاض ذات دلالة احصائية فى متوسط مستويات مصل الفتيامينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم للمجموعة المختبرة عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة.

بينت نتائج هذه الدراسة زيادة ذات دلالة احصائية فى متوسط مستويات مصل مجموعة الفتيامينات او ,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم ونقص ذات دلالة احصائية فى متوسط مستويات بلاسما المألون ثناى الالدهايد و جلکوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکز للمجموعة مرضى السكر الذين يتعاطون الفيتامينات عندما قورنت لدى مرضى السكرى الذين لا يتعاطون هذه الفيتامينات و بينت نتائج هذه الدراسة عدم وجود فرق ذات دلالة احصائية بين متوسط مستويات مصل فايامين ج للمجموعة مرضى السكر الذين يتعاطون الفيتامينات عندما قورنت لدى مرضى السكرى الذين لا يتعاطون هذه الفيتامينات, كما اظهرت

نتائج الدراسة الحالية الى عدم وجود فرق ذات دلالة احصائية فى متوسط مستويات بلاسما المألون ثناى الالدهايد ومجموعة الفتيمينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم و جلوكوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکز عندما قورنت لدى مرضى السكر اللذين يتناولون ادوية سكر الدم مع اللذين يستخدمون الحماية الغذائية.

بينت نتائج هذه الدراسة وجود نقص ذات دلالة احصائية بين متوسط مستويات مصل مجموعة الفتيمينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة لدى مرضى السكر اللذين يعانون ارتفاع فى ضغط الدم عندما قورنت لدى مرضى السكر اللذين لا يعانون من هذا المرض وبينت الدراسة عدم وجود فرق ذات دلالة احصائية بين متوسط مستويات المألون ثناى الالدهايد و جلوكوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکز للمجموعة مرضى السكر اللذين يعانون ارتفاع فى ضغط الدم عندما قورنت لدى مرضى السكر اللذين لا يعانون من هذا المرض.

بينت نتائج هذه الدراسة عدم وجود فرق ذات دلالة احصائية بين متوسط مستويات مصل مجموعة الفتيمينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة و جلوكوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکز للمجموعة مرضى السكر المصابين بمرض نقص تروية القلب عندما قورنت لدى مرضى السكر غير المصابين بمرض نقص تروية القلب, كما اظهرت زيادة ذات دلالة احصائية فى متوسط مستويات المألون ثناى الالدهايد للمجموعة مرضى السكر المصابين بمرض نقص تروية القلب عندما قورنت لدى مرضى السكر غير المصابين بمرض نقص تروية القلب, كذلك اظهرت الدراسة نقص ذات دلالة احصائية بين متوسط مستويات بلاسما عنصر السيلينيوم للمجموعة مرضى السكر المصابين بمرض نقص تروية القلب عندما قورنت لدى مرضى السكر غير المصابين بمرض نقص تروية القلب.

تشير نتائج الدراسة الحالية الى وجود علاقة ارتباط اجابية قوية ذات دلالة احصائية بين هيموقلوبين المجلکز و جلوكوز البلازما فى حالة الصيام كذلك توجد علاقة ارتباط سلبية قوية ذات دلالة احصائية بين هيموقلوبين المجلکز و عنصر السيلينيوم كما توجد ايضا علاقة ارتباط اجابية ضعيفة غير ذات دلالة احصائية بين هيموقلوبين المجلکز و المألون ثناى الالدهايد ومجموعة الفتيمينات ا,ج المضادة للاكسدة, كما اظهرت الدراسة علاقة ارتباط سلبية ضعيفة غير ذات دلالة احصائية بين هيموقلوبين المجلکز وفيتامين ه.

نتائج الدراسة الحالية بينت عدم وجود علاقة ارتباط ذات دلالة احصائية بين مؤشر كتلة الجسم و مستويات المألون ثناى الالدهايد ومجموعة الفتيمينات ا,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم و جلوكوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلکز, كما اظهرت الدراسة علاقة ارتباط عكسية ضعيفة غير ذات دلالة احصائية بين مؤشر كتلة الجسم وفيتامين ج.

بينت نتائج هذه الدراسة عدم وجود علاقة ارتباط ذات دلالة احصائية بين فترة مرض السكر(بالسنة) و مستويات بلاسما المالون ثنا ئ الالدهايد ومجموعة الفتيمينات ا,ج المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم, كذلك اظهرت الدراسة علاقة ارتباط ايجابية ضعيفة غيرذات دلالة احصائية بين فترة مرض السكر(بالسنة) و مستويات بلاسما فيتامين ه و هيموقلوبين المجلكز, وهناك وجود علاقة ارتباط متوسطة ايجابية ذات دلالة احصائية بين فترة مرض السكر (بالسنة) و جلکوز البلازما فى حالة الصيام, ايضا اظهرت الدراسة وجود علاقة ارتباط عكسية غيرذات دلالة احصائية بين فترة مرض السكر(بالسنة) و مؤشر كتلة الجسم. و فى الختام تشير هذه الدراسة الى ان مستويات بلاسما المالون ثنا ئ الالدهايد ومجموعة الفتيمينات ا,ج,ه المضادة للاكسدة و عنصر السيلينيوم و جلکوز البلازما فى حالة الصيام و هيموقلوبين المجلكز هي علامات مهمة لتقييم الاكسدة ، وضع المواد المضادة للتأكسد ، و السيطرة على نسبة السكر في الدم على مرضى السكري على التوالي ، بحيث يمكن استخدامها كمؤشرات للتنبؤ و النذير والاكسدة ، ووضع المواد المضادة للاكسدة ، والتحكم فى نسبة السكر فى الدم لمرضى السكري خاصة فى المرضى الذين يعانون من مضاعفات مثل ارتفاع ضغط الدم ، مرض قصور القلب ، والدهون بشكل غير طبيعى ونسبة مستوى السكر غير المنضبط .

ABBREVIATIONS

DM	Diabetes Mellitus
IHD	Ischemic Heart Disease
BMI	Body Mass Index
MI	Myocardial Infarction
AMI	Acute Myocardial Infarction
CHD	Coronary Heart Disease
ROS	Reactive Oxygen Species
HbA1c	Hemoglobin A1c
IDDM	Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
NIDDM	Non Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
ADA	American Diabetes Association
MODY	Maturity- Onset Diabetes of Youth
GDM	Gestational Diabetes Mellitus
ATP	Adenosine Tri-phosphate
ADP	Adenosine Di-phosphate
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence
DKA	Diabetic Keto Acidosis
HLA	Human Leukocyte Antigen
BUN	Blood Urea Nitrogen
HNS	Hyperosmolar Nonketotic State
HHNC	Hyperosmolar Hyperglycemic Nonketotic Coma

HHS Hyperglycemic Hyperosmolar State
HONKC Hyper osmotic Nonketotic Coma
AGEs Advanced Glycosylated End Products
VEGs Vascular Endothelial Growth Factor
GFR Glomerular Filtration Rate
CVA Cardio Vascular Disease
RIA Radio Immune Assay
ELISA Enzyme Link Immuno Sorbent Assay
HK Hexokinase
NADP Nicotinamide Adenine Dinucleotide- phosphate
GOD Glucose Oxidase
SPSS Statistical package for Social Science
MDA Malondialdehyde
FPG Fasting Plasma Glucose
RBG Random Blood Glucose
Se. Selenium
FAA Flameless Atomic Absorption
RBP Retinol Binding Protein
DA Dietary Allowance
RDA Recommended dietary Allowance
DRI Dietary Reference Intake
NAS National Academy of science
VE Vitamin E

RE Retinol Equivalent

CQ10 Co enzyme Q10

FAT Flavin Adenine dinucleotide

DHAA Dehydro Ascorbic acid

ETC Electron Transport Chain

PUF Polyunsaturated Fatty Acid

LDL Low Density Lipoprotein

CD Conjugated Diene

TBARS Thiobarbituric Acid Reactive Substance

TBA Thiobarbituric Acid

ALE Advanced lipoxidation End Product

IFCC International Federation of Clinical Chemistry

SDS Sodium Dodecyl Solution

CONTENTS

Topic	Page
Dedication	1
Acknowledgements	11
Abstract	111
مستخلص الدراسة	V
Abbreviations	VIII
Contents	XI
List of Tables	XVI
List of Figures	XV11
CHAPTER ONE	
1.Introduction	
1.1. Introduction	1
1.2.Rationale	4
1.3.Objectives	5
CHAPTER TWO	
2.Literature Review	
2.1. Diabetes Mellitus	7
2.1.1. Definition	7
2.1.2. Diabetes in Sudan	8
2.1.3.Epidemiology:	9
2.1.4.Etymology	12
2.1.5. History	12
2.1.6. Classification of diabetes mellitus	13
2.1.6.1. Type 1 diabetes	13
2.1.6.2. Type 2diabetes:	13
2.1.6.3. Etiologic Classification of Diabetes Mellitus	15
2.1.6.4. Gestational diabetes	16
2.1.7. Other specific causes of diabetes :(secondary)	16
2.1.8. Criteria for the Diagnosis of Diabetes Mellitus	18
2.1.8.1. Signs and symptoms:	18
2.1.9. Genetics:	19

2.1.10. Path physiology of Diabetes Mellitus	19
2.1.11. Complications of Diabetes Mellitus	21
2.1.11.1 .Acute complications	21
2.1.11.2. Chronic complications	25
2.1.12. Screening or Pre-diabetes Tests	27
2.1.12.1 Diagnosis of diabetes mellitus	28
2.1.13. Long-term indices of diabetic control	29
2.2. Selenium	30
2.2.1. Selenium Content in Foods	31
2.1.13. Long-term indices of diabetic control	29
2.2. Selenium	30
2.2.1. Selenium Content in Foods	31
2.3.1. Fat – Soluble Vitamins	34
2.3.1.1. Vitamin A	34
2.3.1.2. Vitamin E	37
2.3.1.3. Vitamin D	39
2.3.1.4. Vitamin K	39
2.3.2. Water-Soluble Vitamins	40
2.3.2.1. Thiamine	40
2.3.2.2. Riboflavin	40
2.3.2.3. Pyridoxine	40
2.3.2.4. Niacin	40
2.3.2.5. Folate	40
2.3.2.6. Vitamin B12	41
2.3.2.7. Biotin	41
2.3.2.8. Vitamin C: (Ascorbic Acid)	41
2.4. Glycosylated hemoglobin / Glycated hemoglobin	43
2.5. Free Radical Formation	45
2.5.1. Types of Free Radicals	46
2.5.2. Catalyst	47

2.5.3. Measurement of Free Radicals	47
2.5.4. Physiological Effects	48
2.5.5. Importance of Free Radicals	49
2.6. Malondialdehyde	50
2.6.1. Structure and synthesis	50
2.6.2. Biochemistry	51
2.6.3. Analysis	51
2.6.4. Hazards and Pathology	52
2.7. Lipid peroxidation	53
2.7.1. Mechanism of lipid peroxidation	53
2.7.2. Tests to measure malondialdehyde	54
2.8. Body Mass Index (BMI)	55
CHAPTER THREE	
3. Matereal and Methods	
3.1. Study approach	58
3.2. Study type and design	58
3.3. Study Area	58
3.4. Study Subjects: (Target population and sample size)	58
3.5. Selection criteria	59
3.5.1. Inclusion criteria	59
3.5.2. Exclusion criteria	59
3.6. Ethical Consideration	59
3.7. Data collection and analysis	59
3.7.1. Interview with a questionnaire	59
3.7.2. Clinical examination of patients	59
3.8. Blood samples collection	60
3.9. Determination of Fasting plasma Glucose (FBG)	61
3.10. Determination of Hb A1c	61
3.11. Determination of selenium	63

3.12. Determination of vitamins (A, E, C) through the HPLC method	64
3.12.1. Determination of vitamin C	64
3.12.2. Determination of vitamin A and E through the HPLC method	65
3.13. Determination of Malondialdehyde (MDA) by using ELISA	68
3.14. Quality Control	72
3.15. Statistical analysis	72
<i>CHAPTER FOUR RESULTS</i>	
Results	74
<i>CHAPTER FIVE DISCUSSION</i>	
Discussion	110
<i>CHAPTER SIX CONCLUSION & RECOMMENDATIONS</i>	
6.1. Conclusion	121
6.2. Recommendations	122
<i>REFERENCES</i>	
REFERENCES	123
<i>APPENDXES</i>	
Questionnaire	152

LIST OF TABLES

Table No	<u>Title</u>	page
4.1	Baseline characteristics of the test group and control group.	81
4.2	Comparison of the means of plasma MDA and Selenium of the test group and control group.	82
4.3	Comparison of the means of plasma vitamins (A, E, C) of the test group and control group.	83
4.4	Comparison of the means of plasma fasting plasma glucose and HbA1C of the test group and control group.	84
4.5	Comparison of the means of the plasma levels of MDA, Selenium, vitamins (A, E, C), fasting blood glucose and HBA1C of the diabetic on multivitamins and those not taking multivitamins	85
4.6	Comparison of the means of the plasma levels of MDA, Selenium, vitamins (A, E, C), fasting blood glucose and HBA1C of the diabetic on hypoglycemic drugs and on diet control.	86
4.7	Comparison of the means of the plasma levels of MDA, Selenium, vitamins (A, E, C), fasting blood glucose and HbA1C of the diabetic with hypertensive and diabetic normotensive.	87
4.8	Comparison of the means of the plasma levels of MDA, Selenium, vitamins (A, E, C), fasting blood glucose and HbA1C of the diabetic with history of ischemic heart disease and those without ischemic heart disease.	88

LIST OF FIGURES

Fig No	Title	Page
2.1	Prevalence of diabetes worldwide in 2000.	9
2.2	Malondialdehyde structure.	50
2.3	Mechanism of lipid peroxidation.	53
4.1	A scatter plot shows the relationship between HbA1C% and plasma MDA of the test group.	89
4.2	A scatter plot shows the relationship between HbA1C% and plasma Selenium of the test group.	90
4.3	A scatter plot shows the relationship between HbA1C% and Vitamin A of the test group.	91
4.4	A scatter plot shows the relationship between HbA1C% and Vitamin E of the test group.	92
4.5	A scatter plot shows the relationship between HbA1C% and Vitamin C of the test group.	93
4.6	A scatter plot shows the relationship between HbA1C% and fasting plasma glucoses of the test group.	94
4.7	A scatter plot shows the relationship between BMI and plasma MDA of the test group.	95
4.8	A scatter plot shows the relationship between BMI and plasma Selenium of the test group.	96
4.9	A scatter plot shows the relationship between BMI and plasma Vitamin A of the test group.	97
4.10	A scatter plot shows the relationship between BMI and plasma Vitamin E of the test group.	98
4.11	A scatter plot shows the relationship between BMI and plasma Vitamin C of the test group.	99
4.12	A scatter plot shows the relationship between BMI and diabetic fasting plasma glucose of the test group.	100
4.13	A scatter plot shows the relationship between BMI and HbA1C of the test group.	101

4.14	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and plasma MDA of the test group.	102
4.15	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and plasma Selenium of the test group.	103
4.16	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and plasma Vitamin A of the test group.	104
4.17	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and plasma Vitamin E of the test group	105
4.18	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and plasma Vitamin C of the test group.	106
4.19	A Scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and fasting plasma glucose of the test group.	107
4.20	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and blood HbA1C% of the test group.	108
4.21	A scatter plot shows the relationship between the duration of diabetes and BMI of the test group.	109