Dedication

To .....

My father ..... who worked hardly for us.

To .....

My mother .....Who taught me

How I could be human

To .....

My lovely wife Nossiba and our sons Ahmed & Mohammed

To .....

My beloved brothers and sisters for their continuous support

To .....

The people whom I respect and appreciate

Acknowledgements

All praise and thanks to Allah the Almighty, who blessed me with the courage for the preparation and completion of this study.

With a great deal of respect I want to thank my supervisor **Dr. Badreldien Hassan Alabid**, who spared neither time nor effort in enlightening and helping me. I want to extend my deep thank to my co-supervisor Dr. Mohammed Abdelraheem for helping and supporting. Great appreciation to Ustaz Abualgasim Abbas, Ustaz Ayman Modawy, Ustaz Bahaeildeen, Ustaz Sohair Ramadan Mr Mohammed Sayed and Miss Asmahan Mohamed for unlimited helping in all steps until completion of this study.

I am very grateful to the staff of Clinical Chemistry in Sudan University who supported me on this study.

It is a pleasure to express my respect, sincere thanks and gratitude to all test subject group for their agreement to participate in this study.

Abstract

A cross-sectional study conducted during the period from November 2008 to June 2011 to determine and to evaluate the plasma lipid peroxidation product Thio Barbituric Acid Reactive Substances (TBARS), catalase, superoxide dismutase and lipid profile in Sudanese with type 2 diabetes mellitus. Two hundred Sudanese with type 2 diabetes mellitus were selected as a test group from Jabir AbuElizz Diabetes Centre in Khartoum state, Sudan. The test group was compared with a control group which included 100 apparently healthy volunteers. Blood specimens were collected from both groups and plasma levels of TBARS, catalase, superoxide dismutase activity and lipid profile (total cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein cholesterol (HDLc) and low density lipoprotein cholesterol (LDLc), in addition to fasting blood glucose (FBG) and glycated hemoglobin (HbA_{1c}) were determined. Age and gender of the test group were matched with the control group.

TBARS, catalase and superoxide dismutase activity were measured using chemical methods from Cayman Chemical Company and ELISA reader. Autoanalyzer with commercial kits from Biosystem Company and spectrophotometeric methods were used for measuring plasma glucose, plasma total cholesterol, plasma HDLc, plasma LDLc, plasma triglycerides and HbA_{1C}. Statistical Package for Social Science (SPSS version 11.5) computer software was used for data analysis.

Results of this study indicated that, there is significant increase in the means of the plasma levels of TBARS and catalase activity with significant decrease in superoxide dismutase, in addition to significant increase in serum levels of total cholesterol, LDLc, triglycerides and HDLc of the test group when compared with the control group.

Results of the present study showed significant elevation of the mean of plasma levels of TBARS, significant reduction in the mean of plasma activity of catalase and insignificant differences in the mean of plasma activity of superoxide

dismutase among diabetic patients with ischemic heart disease when compared with those without ischemic heart disease.

Results of the present study showed insignificant differences in the mean of plasma levels of TBARS, catalase and superoxide dismutase activity among diabetic patients with diabetic septic foot when compared with those without diabetic septic foot.

Also the results of the current study showed significant decrease in the mean of plasma levels of malondialdehyde, significant increase in the mean of plasma activity of superoxide dismutase and in significant differences in the mean of plasma activity of catalase among diabetic patients with multivitamins supplementations when compared with those without multivitamins supplementations.

Results of present study indicated that, there was significant increase in the means of the plasma levels of total cholesterol, LDLc, triglycerides and HDLc of the test group when compared with the control group.

Results of present study showed significant increase in the mean of plasma levels total cholesterol, LDLc, triglycerides and HDLc among diabetic patients with hypertension, diabetic septic foot and eye problem when compared with those without hypertension, diabetic septic foot and eye problem consecutively, also the results showed significant increase in the mean of plasma levels total cholesterol, LDLc and insignificant differences in the mean of plasma level HDLc in diabetic patients who receive lipid lowering drugs when compared with diabetic patients not receive lipid lowering drug.

The present study showed significant week positive correlations between plasma levels of malondialdehyde and HbA1c, in addition to no significant correlation between plasma levels of TBARS with fasting blood glucose and superoxide dismutase in diabetic patients. Also the result of present study showed significant week negative correlation between plasma activity of catalase and plasma level of TBARS, in addition to non significant correlation between plasma levels of

TBARS with plasma levels of total cholesterol, LDLc, triglycerides and HDLc consecutively in diabetic patients.

The present study showed week negative correlation between the plasma activity of catalase and HbA1c, and has no significant correlation with the levels of fasting blood glucose with both plasma activity of catalase and superoxide dismutase.

There is significant correlation between plasma activity of superoxide dismutase and HbA1c in the diabetic patients.

The present study also showed a significant moderate positive correlation between fasting blood glucose and the HbA_{1C}.

In conclusion, the present study indicated that the plasma levels of TBARS is one of the important marker for the evaluation of ischemic heart diseases, because it is significantly increased in diabetics with ischemic heart diseases and this lipid peroxidation product is correlated to glycation control more than to lipids levels, as TBARS has significant positive correlation with HbA1c, whereas it has non significant correlation with lipid profile.

مستخلص الدراسة

اجريت هذه الدراسة المقطعية في الفترة ما بين نوفمبر 2008 حتى يونيو 2011 لتحديد و لتقويم مستويات ناتج اكسدة الدهون(المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك), نشاط إنزيمى الكتاليز ,السوبراوكساید دسميوتيز ومجموعة الدهون فى البلازما السودانيين المصابين بداء السكر النوع الثاني. تم إختيار 200 من السودانيين المصابين بداء السكر من النوع الثاني كمجموعة إختبار من مركز جابر ابوالعز لمرضى السكر بولاية الخرطوم (السودان)، حيث قورنت هذه المجموعة مع مجموعة ضابطة تضم 100من المتطوعين الأصحاء. تم جمع عينات الدم من كلا المجموعتين ومن ثم تم تحديد مستويات المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك و إنزيمى الكتاليز والسوبراوكساید دسميوتيز ومجموعة الدهون (الكولستيرول الكلي، و الكولستيرول عالي الكثافة، والكولستيرول منخفض الكثافة ، وثلاثي الجليسريدات) وجلكوز الدم فى حالة الصيام فى البلازما ، والهيموقلوبين المجلكز. وفي هذه الدراسة طابقت أعمار وجنس مجموعة الإختبار أعمار وجنس المجموعة الضابطة.

تم قياس المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك و إنزيمى الكتاليز والسوبراوكساید دسميوتيز بواسطة طرق كيميائية من شركة كايمان الكيميائية وإستعمال قارئ ELISA. تم إستخدام المحلل الذاتى مع طقم محاليل شركة بيوسيستيم التجارية وطرق جهاز قياس الأطياف الضوئية لقياس سكر الدم الصائم ، الكولستيرول الكلي، الكولستيرول عالي الكثافة، الكولستيرول منخفض الكثافة، ثلاثي الجليسريدات والهيموقلوبين المجلكز. كما تم إستخدام برنامج الحزمة الاحصائية للعلوم الاجتماعية (SPSS) لتحليل النتائج.

اشارت نتائج هذه الدراسة الى زيادة ذي دلالة إحصائية في متوسطات مستويات بلازما المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك و الكتاليز مع نقصان ذى ذي دلالة إحصائية في متوسط السوبراوكساید دسميوتيز بالإضافة الى زيادة ذات دلالة إحصائية في متوسطات بلازما الكولستيرول الكلي، الكولستيرول منخفض الكثافة، ثلاثي الجليسريدات والكولستيرول عالي الكثافة للمجموعة المختبرة عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة.

نتائج الدراسة الحالية تظهر زيادة ذات دلالة إحصائية في متوسط مستوي بلازما المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك, نقصان ذو دلالة احصائية فى متوسط نشاط بلازما الكتاليز و فرق غير معنوى فى متوسط نشاط السوبراوكساید دسميوتيز لدى مرضى السكر المصابين بمرض نقص تروية القلب عندما قورنت بمرضى السكر غير المصابين بمرض نقص تروية القلب.

نتائج الدراسة الحالية أظهر انه ليس هنالك فرق ذي دلالة إحصائية في متوسطات مستويات بلازما المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك, نشاط الكتاليز و السوبراوكساید دسميوتيز لدى مرضى السكر المصابين بتقرح القدم عندما قورنت بمرضى السكر غير المصابين بخمج القدم.

كما أظهرت النتائج الحالية نقصان ذو دلالة إحصائية في متوسط مستوي بلازما المواد المتفاعلة مع حمض الثيوباربيتيرك, زيادة ذو دلالة احصائية فى متوسط نشاط بلازما السوبراوكساید دسميوتيز و فرق غير ذى دلالة احصائية فى متوسط مستوى الكتاليز لدى مرضى السكر الذين يتعاطون فيتامينات عديدة عندما قورنت بمرضى السكر الذين لا يتعاطون تلك الفيتامينات العديدة.

وتشير نتائج هذه الدراسة الى زيادة ذات دلالة إحصائية في متوسطات مستويات بلازما الكولستيرول الكلي، الكولستيرول منخفض الكثافة، ثلاثي الجليسريدات والكولستيرول عالي الكثافة للمجموعة المختبرة عند مقارنتها مع المجموعة الضابطة.

كما تشير نتائج هذه الدراسة الى زيادة ذات دلالة إحصائية في متوسطات مستويات بلازما الكولستيرول الكلي، الكولستيرول منخفض الكثافة، ثلاثي الجليسريدات والكولستيرول عالي الكثافة لدى مرضى السكر المصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم, المصابين بخمج القدم والذين لديهم مشاكل فى النظر عندما قورنت بمرضى السكر الغير المصابين بمرض ارتفاع ضغط الدم, غيرمصابين بخمج القدم والذين لا يعانون من مشاكل فى النظر بالتتابع, ايضا اوضحت الدراسة زيادة ذات دلالة إحصائية في متوسطات مستويات بلازما الكولستيرول الكلي، الكولستيرول منخفض الكثافة والكولستيرول عالي الكثافة و فرق غير ذى دلالة احصائية فى متوسط مستوى بلازما ثلاثي الجليسريدات لدى مرضى السكر الذين

يتناولون ادوية خافضة لمسوى الـدهون عنـدما قـورنت بمرضـى السـكرى الـذين لا يتناولون ادوية خافضة لمسوى الدهون.

وأظهرت هذه الدراسة أيضا وجود علاقة إرتباط ايجـابي ضـعيف ذي دلالـة إحصـائية بيـن مسـتوى بلازمـا المـواد المتفاعلـة مـع حمـض الثيوبـاربيتيرك و الهيموقلـوبين المجلكز, بالإضافة لعدم وجود علاقة ارتباط ذات دلالة احصائية بين مسـتوى بلازمـا المواد المتفاعلة مع حمض الثيوبـاربيتيرك مـع سـكر الـدم الصـائم و نشـاط بلازمـا السوبراوكساید دسميوتيز عند مرضى السكرى. كذلك أظهرت النتائج الحالية وجـود علاقة ارتباط سلبى ضعيف بين نشاط بلازمـا الكتـاليز ومسـتوى بلازمـا المالونـداى الدهيد, بالاضافة الى عدم وجود علاقة ارتباط ذات دلالة احصائية بين مستوى بلازما المواد المتفاعلة مع حمض الثيوبـاربيتيرك ومسـتويات بلازمـا الكولسـتيرول الكلـي، الكولستيرول منخفض الكثافة، ثلاثـي الجليسـريدات والكولسـتيرول عـالي الكثافـة على التوالى عند مرضى السكرى.

وأظهرت هذه الدراسة وجود علاقة إرتبـاط سـلبى ضـعيف ذي دلالـة إحصـائية بيـن نشاط بلازما الكتاليز و الهيموقلوبين المجلكز, بالإضافة لعـدم وجـود علاقـة ارتبـاط ذات دلالـة احصـائية بيـن مسـتوى سـكر الـدم الصـائم مـع نشـاط بلازمـا الكتـاليز والسوبراوكساید دسميوتيز عنـد مرضـى السـكرى و أظهـرت النتـائج الحاليـة عـدم وجـود علاقـة ارتبـاط ذات دلالـة احصـائية بيـن مسـتوى نشـاط السوبراوكسـايد دسميوتيز و الهيموقلـوبين المجلكـز عنـد مرضـى السـكري. كمـا اشـارت الدراسـة الحالية ايضاً لوجود علاقة إرتباط ايجابية متوسـطة ذات دلالـة إحصـائية بيـن سـكر الدم الصائم والهيموقلوبين المجلكز.

وقد خلصت هذه الدراسة الى أن مستوي بلازما المواد المتفاعلة مـع حمـض الثيوباربيتيرك مؤشر مهم لتقويم مرض نقص تروية القلب وذلك لوجـود زيـادة ذات دلالة إحصائية عند مرضى السكري الذين يعانون من مرض نقص تروية القلب و ان ناتج اكسدة الدهون يعتمد على ضـبط السـكر اكـثر مـن مسـتويات الـدهون و ذلـك لوجـود علاقـة ارتبـاط ايجابيـة ذات دلالـة احصـائية بـالمواد المتفاعلـة مـع حمـض الثيوباربيتيرك مع الهيموقلوبين المجلكز بينما لا توجد علاقة مع مسـتويات مجموعـة الدهون.

ABBREVIATIONS

ACE	Angiotensin-Converting Enzyme
ACTH	Adreno Cortico Tropic Hormone
ADA	American Diabetes Association
ADP	Adenosine Di-Phosphate
AGEs	Advanced Glycosylated End products
ALE	Advced lipoxidation end-products
ALS	Amyotrophic Lateral Sclerosis
AMI	Acute Myocardial Infarction
AOEs	Anti Oxidant Enzymes
ARBs	Angiotensin Receptor Blockers
ATP	Adenosine Tri-Phosphate
BMI	Body Mass Index
BUN	Blood Urea Nitrogen
CAT	Catalase
CHD	Coronary Heart Disease
CVA	Cerebro Vascular Accident
CVD	Cardio Vascular Disease
DKA	Diabetic Keto Acidosis
DM	Diabetes Mellitus
DTPA	DieThylenetriamine Pent Acetic acid
ELISA	Enzyme Link Immuno Sorbent Assay
ESRD	End Stage Renal Disease
FBG	Fasting Blood Glucose
FCH	Familial Combined Hyperlipoproteinemia
FH	Familial Hypercholesterolemia
G6PDH	Glucose-6 Phosphate Dehydrogenase

GDM	Gestational Diabetes Mellitus
GFR	Glomerular Filtration Rate
GOD	Glucose Oxidase
GPO	Glycerol Phosphate Oxidase
GPx	Glutathione Peroxidase
GR	Glutathione Reductase
HbA_{1C}	Glycated hemoglobin
HDLc	High Density Lipoprotein cholesterol
HHNC	Hyperosmolar Hyperglycemic Nonketotic Coma
HHS	Hyperglycemic Hyperosmolar State
HK	Hexokinase
HNS	Hyperosmolar Nonketotic State
HONKC	Hyperosmotic Non-Ketotic Coma
IDDM	Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
IHD	Ischemic Heart Disease
LCAT	Lecithin Cholesterol Acyl Transferase
LDLc	Low Density Lipoprotein cholesterol
Lp(a)	Lipoprotein (a)
LPL	Lipoprotein Lipase
LPO	Lipid Peroxidation
MAD	Malondialdehyde
MI	Myocardial Infarction
MODY	Maturity- Onset Diabetes of Youth
NADP	Nicotinamide Adenine Di-Phosphate
NHANES	National Health And Nutrition Examination Survey
NICE	National Institute for Health and Clinical Excellence
NIDDM	Non Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
POD	Peroxidase
PSL	Prenidsolone

PUFAs	Poly Unsaturated Fatty Acids
RIA	Radio Immuno Assay
ROS	Reactive Oxygen Species
SFAs	Saturated Fatty Acids
SOD	Super Oxide Dismutase
SPSS	Statistical Package for Social Science
TBARS	Thio Barbituric Acid Reactive Substances
ULN	Upper Limit of Normal
VLDLc	Very Low Density Lipoprotein cholesterol

Contents

Content		Page
Dedication		I
Acknowledgements		II
Abstract		III
مستخلص الدراسة		VI
Abbreviations		X
List of Tables		XV
List of Figures		XVI
CHAPTER ONE INTRODUCTION		
1.1	Introduction	1
1.2	Rationale	4
1.3	Objectives	6
CHAPTER TWO LITERATURE REVIEW		
2.1	Diabetes Mellitus	7
2.1.1	Definition of Diabetes Mellitus	7
2.1.2	Epidemiology of Diabetes Mellitus	8
2.1.3	Classification of Diabetes Mellitus	9
2.1.3.1	Type 1 Diabetes Mellitus	10
2.1.3.2	Type 2 Diabetes Mellitus	11
2.1.3.2.1	Medical conditions of Type 2 diabetes mellitus	11
2.1.3.2.2	Benefit of early detection of Type 2 diabetes mellitus	12
2.1.3.3	Other specific types of diabetes	12
2.1.3.4	Gestational diabetes mellitus	12
2.1.4	Pathophysiology of Diabetes Mellitus	13
2.1.5	Genetics of Diabetes Mellitus	14
2.1.6	Diagnosis of Diabetes Mellitus	15
2.1.7	Monitoring of blood glucose	17
2.1.8	Glycated hemoglobin	17
2.1.9	Complication of Diabetes mellitus	19
2.1.9.1	Acute Glycemic Complication	19
2.1.9.2	Chronic Glycemic complication	21
2.2	Lipids	26
2.2.1	Fatty Acids	26
2.2.2	Triglycerides	26
2.2.3	Phospholipids	27
2.2.4	Cholesterol	27
2.2.5	Lipoproteins	28
2.2.5.1	Lipoproteins structure & classification	28
2.2.5.2	Lipoprotein physiology and metabolism	33
2.2.5.3	Lipid Absorption	34
2.2.5.4	Diagnosis of lipid and lipoprotein disorder	35

2.3	Lipid peroxidation	40
2.3.1	Lipid peroxidation and Diabetes Mellitus	42
2.3.2	Free radicals	42
2.3.3	Measurement of free radicals	43
2.3.4	Malondialdehyde(Thiobarbituric Acid Reactive Substance TBARS)	44
2.4	Anti oxidant	44
2.4.1	Superoxide Dismutase	45
2.4.2	Catalase	46
CHAPTER THREE MATERIALS and METHODS		
3.1	Materials	48
3.1.1	Study design	48
3.1.2	Study area and period	48
3.1.3	Study population and sample size	48
3.1.4	Ethical consideration	48
3.1.5	Inclusion criteria	48
3.1.6	Exclusion criteria	48
3.1.7	Data collection and clinical examination	48
3.1.8	Sample collection	48
3.2	Methods	49
3.2.1	Measurement of Malondialdehyde	49
3.2.2	Measurement of Catalase	50
3.2.3	Measurement of Superoxide Dismutase	51
3.2.4	Measurement of Glycated hemoglobin	52
3.2.5	Measurement of Cholesterol	54
3.2.6	Measurement of HDLc	55
3.2.7	Measurement of LDLc	55
3.2.8	Measurement of Triglycerides	56
3.2.9	Measurement of Glucose	57
CHAPTER FOUR RESULTS		
4	Results	59
CHAPTER FIVE DISCUSSION		
5	Discussion	91
CHAPTER SIX CONCLUSION and RECOMMENDATIONS		
6.1	Conclusion	101
6.2	Recommendations	103
REFERENCES		
	References	104
APPENDEX		
	Questionnaire	123

List of Tables

Table	Title	Page
2.1	Characteristics of the major human lipoproteins	30
2.2	Adult Reference Ranges for Lipids	35
4.1	Baseline characteristic of study group between patients and control group	66
4.2	Comparison of means of plasma levels TBARS, CAT and SOD between test group and the control group	67
4.3	Comparison of means plasma levels TBARS, CAT and SOD in patients with IHD and those without IHD	68
4.4	Comparison of means plasma levels TBARS, CAT and SOD in patients with DSF and those without DSF	69
4.5	Comparison of means plasma levels TBARS, CAT and SOD in diabetic patients with multivitamin supplementation and those without multivitamin supplementation	70
4.6	Comparison of means of plasma levels total T. cholesterol, triglycerides, LDLc and HDLc between test group and control group	71
4.7	Comparison of means of plasma levels total T. cholesterol, HDLc, LDLc, triglycerides in patients with hypertension and those without hypertension	72
4.8	Comparison of means of plasma levels total T. cholesterol, triglycerides, LDLc and HDLc in patients with DSF and those without DSF	73
4.9	Comparison of means of plasma levels total T. cholesterol, triglycerides, LDLc and HDLc in patients with eye problem and those without eye problem	74
4.10	Comparison of means of plasma levels total T. cholesterol, triglycerides, LDLc and HDLc in patients who receive lipid lowering drugs and those not receive lipid lowering drugs	75
4.11	Comparison of means of FBG and HbA1c between test group and the control group	76

List of Figures

Figure	Title	Page
2.1	Model of lipoprotein structure	29
4.1	A scatter plot shows the relationship between levels of HbA_{1c} in(%) and plasma levels of TBARS in µmol/l	77
4.2	A scatter plot shows the relationship between levels of FBG in mg/dl and plasma levels of TBARS in µmol/l.	78
4.3	A scatter plot shows the relationship between levels TBARS in µmol/l. and plasma levels of SOD in U/ml	79
4.4	A scatter plot shows the relationship between levels of HbA1c in % and plasma levels of CAT in U/ml	80
4.5	A scatter plot shows the relationship between levels of FBG in mg/dl and plasma levels of CAT in U/ml	81
4.6	A scatter plot shows the relationship between levels of plasma CAT in U/ml and plasma levels TBARS in µmol/l	82
4.7	A scatter plot shows the relationship between levels of HbA1c in(%) and plasma levels of SOD in U/ml	83
4.8	A scatter plot shows the relationship between levels of FBG in mg/dl and plasma levels of SOD in U/ml	84
4.9	A scatter plot shows the relationship between levels of plasma SOD in U/ml and plasma levels of CAT in µmol/l	85
4.10	A scatter plot shows the relationship between levels of plasma total cholesterol in mg/dl and plasma levels of TBARS in µmol/l	86
4.11	A scatter plot shows the relationship between levels of plasma triglycerides in mg/dl and plasma levels of TBARS in µmol/l	87
4.12	A scatter plot shows the relationship between levels of plasma triglycerides in mg/dl and plasma levels of TBARS in µmol/l	88
3.13	A scatter plot shows the relationship between levels of plasma HDLs in mg/dl and plasma levels of TBARS in µmol/l	89

3.14	A scatter plot shows the relationship between the FBG (mg/dL) and HbA1C (%)	90