

تأثیر مکمل رزوراترول بر میزان پارامترهای آنتی‌اکسیدانی و پروفایل لیپیدی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی در بیماران دیابتی تیپ دو: کارآزمایی بالینی تصادفی شده دوسوکور محمدحسین غریب¹، کیهان قطره سامانی²، زرین زرین آبادی³، مریم مختاری⁴، اسفندیار حیدربان⁵

- 1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ سازمان تامین اجتماعی ایران
- 2- نویسنده مسئول: دانشیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
پست الکترونیکی: mohogharib@gmail.com
- 3- دکتری کتابداری و اطلاع‌رسانی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- 4- کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- 5- استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: 95/12/4

تاریخ دریافت: 95/8/15

چکیده

سابقه و هدف: دیابت نوع دو یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک در سراسر جهان می‌باشد که با توجه به ماهیت چند عاملی بیماری، عوامل مختلفی در آن نقش دارند. افزایش استرس‌اکسیداتیو در هایپرگلیسمی یک فاکتور کلیدی در پیشرفت دیابت و عوارض آن است. هدف این مطالعه بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدان با منشاء طبیعی - رزوراترول در بهبود و کاهش عوارض بیماران دیابتی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه کارآزمایی بالینی دوسوکور از بین بیماران دیابتی، 80 بیمار به طور تصادفی انتخاب و به دو گروه مصرف‌کننده رزوراترول و کنترل تقسیم شدند و به مدت 60 روز به ترتیب مکمل رزوراترول (200 mg/day) و دارونما دریافت کردند. در ابتدای مطالعه و پس از 60 روز از بیماران خونگیری به عمل آمد و آزمایش‌های مربوط به پارامترهای آنتی‌اکسیدانی، پروفایل لیپیدی و برخی دیگر از شاخص‌های بیوشیمیایی روی آنان انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: مصرف رزوراترول موجب کاهش معنی‌دار BMI (p=0.000) و HbA1C (p=0.041) و افزایش معنی‌دار پاراکسوناز (p=0.001) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (p=0.008) و APOA (p=0.000) و HDL (p=0.038) گردید. در گروه کنترل آنزیم‌های پاراکسوناز (p=0.005) و گلوکاتیون‌ردوکتاز (p=0.036) کاهش معنی‌دار یافتند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه مشخص کرد که رزوراترول نقش مهمی در کنترل هایپرگلیسمی و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی دارد. به نظر می‌رسد با شناسایی اولویت‌های اصلی درمانی در هر بیمار دیابتی، می‌توان از این مکمل همراه با داروی آنتی‌دیابتیک بیمار برای کنترل و پیشگیری از عوارض بیشتر این اختلال استفاده کرد.

واژگان کلیدی: دیابت، آنتی‌اکسیدان، رزوراترول، استرس‌اکسیداتیو

• مقدمه

گلیسمیک و فاکتور مرتبط با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شناخته می‌شود (4-2) افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس‌اکسیداتیو از عوامل مهم در پاتوژنز بیماری دیابت هستند (5).

استرس‌اکسیداتیو که حاصل عدم‌توازن میان تولید رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانی است در هایپرگلیسمی

دیابت نوع دو یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک در سراسر جهان می‌باشد که با توجه به ماهیت چند عاملی بیماری، عوامل مختلفی در آن نقش دارند (1).

پروتئین گلیکوزیله که نتیجه اتصال غیرآنزیمی گلوکز با هموگلوبین‌های طبیعی است به عنوان یک مارکر کنترلی در دیابت، مارکر پیشگویی‌کننده دیس‌لیپیدمی، شاخص استرس

طول کشیده دارند سطح لپتین سرم تقریباً 40% افزایش می‌یابد که احتمالاً ناشی از اثرات رشد سلول‌های چربی است (17). برای لپتین نقش لیپوتوکسیسیتی و اثر مثبت کنترلی در دیابت تیپ دو نیز ذکر شده است (18).

در مطالعه Liu-kai و همکاران در سال 2014 مشخص شد که بروز اثرات ضد دیابتی رزوراترول در بیماران دیابتی بسیار آشکارتر و معنی‌دارتر از افراد سالم و گروه کنترل بوده است (11).

در مطالعه‌ای در سال 2012، Bagul و همکاران با مقایسه‌ای که بین اثرات آنتی‌دیابتیک رزوراترول و متفورمین بر روی رت‌ها انجام دادند به این نتیجه رسیدند که رزوراترول نسبت به متفورمین در القاء و افزایش حساسیت به انسولین و کاهش قند و استرس‌اکسیداتیو عملکرد بهتری دارد (19).

در تحقیقی در سال 2014، Brasnyo و همکاران نشان دادند که استرس‌اکسیداتیو نقش کلیدی در دیابت ملیتوس ایفا می‌کند و رزوراترول با اثرات ایمنوساپرسیو و آنتی‌اکسیدانی خود سبب کاهش استرس‌اکسیداتیو (ناشی از پاسخ لنفوسیت‌ها به افزایش لکوسیت‌ها) در دیابت و همچنین کاهش مقاومت به انسولین و کاهش قند خون می‌شود (20).

در تحقیقی در سال 2013 Singh و همکاران اثر رزوراترول بر کاهش مقاومت به انسولین و کاهش چاقی و اثر آن در درمان سندرم متابولیک در زنان دچار دیابت حاملگی مورد بررسی و تأیید قرار دادند (21).

در چند مطالعه در سال‌های 2008 و 2004، که توسط Curtin و همکاران، Gouedard و همکاران انجام گرفت اثر رزوراترول بر افزایش بیان ژن آنزیم پاراکسوناز 1 تأیید شد (22، 23).

اهمیت ترکیبات آنتی‌اکسیدان جهت پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد شناخته شده است، با توجه به عوارض جانبی ترکیبات آنتی‌اکسیدان شیمیایی، یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدان گیاهی و طبیعی از اهمیت فراوانی برخوردار است، لذا بر آن شدیم تا با بررسی اثر مصرف رزوراترول بر میزان پروفایل لیپیدی، پارامترهای آنتی‌اکسیدانی و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی در بیماران دیابتی تیپ دو و اثبات فرضیات مورد نظر، زمینه استفاده بهینه و بیشتری از مکمل‌های آنتی‌اکسیدان طبیعی و فرآورده‌های گیاهی برای مقابله با اثرات مخرب و فراوان تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس‌اکسیداتیو در بیماران دیابتی فراهم نماییم و به آنان در پیشگیری، بهبودی و کنترل عوارض این بیماری کمک کنیم.

افزایش می‌یابد. همچنین دیابت از طریق کاهش گلوکوتایون و کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز با کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه است (1). کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما در بیماران دیابتی بارها مورد مطالعه و تأیید قرار گرفته است (6).

امروزه کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی و میوه‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است و از این ترکیبات که به عنوان فرآورده‌های ثانویه توسط گیاهان ساخته می‌شود در پیشگیری از ابتلا و کنترل بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌شود که از جمله این مواد می‌توان به ترکیبات فنلی اشاره کرد (7).

رزوراترول نوعی فیتوالکسین است که توسط برخی اسپرماتوفیت‌ها در پاسخ به آسیب تولید می‌شود و در کاهش استرس‌اکسیداتیو و تجمع پلاکت و اکسیداسیون LDL نقش دارد (8).

رزوراترول یک پلی‌فنل قوی و ماده بیولوژیک فعال در برخی دانه‌ها، سبزیجات و میوه‌ها به خصوص توت و انگور قرمز است که سبب افزایش طول عمر سلول‌ها و کاهش مقاومت به انسولین می‌شود و پاسخ بدن به دیابت را بهبود می‌بخشد. محققین تأثیر این پلی‌فنل را به اثر آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط می‌دانند (9، 10).

برای این ترکیب خصوصیات دیگری مانند مقابله با سرطان، نوروپروتکتیو (محافظت‌کننده سیستم عصبی)، کاهش قند خون، کاهش هموگلوبین گلیکوزیله ذکر شده است (11). رزوراترول و انسولین در پیشگیری از عوارض قلبی اثر سینرژیکی دارند اما در حملات حاد قلبی، انسولین اثر رزوراترول را خنثی می‌کند (12).

آنتی‌اکسیدان‌ها به طور کلی از نظر شکل، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و جایگاه عمل‌شان با هم متفاوت و متنوع هستند، از جمله آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند گلوکوتایون ردوکتاز، یا برخی ویتامین‌ها و مینرال‌ها و یا برخی پروتئین‌ها مانند آلبومین و یا آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی موجود در مواد غذایی، نقش مهمی در حفظ سلامت انسان و پیشگیری از بیماری‌های مختلفی مانند سرطان، دیابت و بیماری‌های قلبی و عروقی دارند (13، 14، 3).

لپتین، یک هورمون پلی‌پپتیدی است که 146 اسیدآمینو دارد. پایین بودن لپتین در بیماران دیابتی و نقش مهم آن در کنترل هایپرگلیسمی در برخی مطالعات نشان داده شده است (15). همچنین از آن به‌عنوان فاکتور پیش‌بینی دیابت در مردان نام برده می‌شود (16). یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های هورمون لپتین، انسولین است. در افرادی که هایپرانسولینمی

• مواد و روش‌ها

در این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور از بین مراجعه‌کنندگان (دارای پرونده) به درمانگاه دیابت، تعداد 80 بیمار بعد از مصاحبه حضوری و توضیح اهداف کار و تکمیل فرم رضایت‌نامه و پرسشنامه به صورت تصادفی ساده و با استفاده از جدول اعداد تصادفی در دو گروه قرار گرفتند. معیارهای ورود به طرح عبارت بود از ابتلا به دیابت نوع دو، $A1C > 5/8$ و دارا بودن شرط سنی 30-60 سال و معیارهای خروج عبارت از مصرف سیگار، دارا بودن بیماری زمینه‌ای و متابولیک دیگر، مصرف الکل، مصرف داروهای دیگر از قبیل کورتون‌ها و مصرف سایر مکمل‌ها بود.

با فرض برابری انحراف معیار و جهت نشان دادن اختلاف حداکثر $\delta = 0.7$ بین میانگین‌ها و بازده اطمینان 95 درصد و توان آزمون 90 درصد، حجم نمونه از رابطه زیر تعیین گردید که با در نظر گرفتن احتمال ریزش در طول مطالعه و برای افزایش اطمینان بخشی و بازدهی، مطالعه با تعداد 80 بیمار آغاز شد.

$$n = [(z_{1-\alpha/2}) + (z_{1-\beta})]^2 * 2 * \delta^2 / (\mu_2 - \mu_1)^2 = (1.96 + 1.28)^2 * 2 * \delta^2 / (0.8 \delta)^2 = 32$$

همه بیماران در طول مطالعه داروی دیابت خود را (متفورمین) طبق روال قبل دریافت می‌کردند و در کنار آن گروه اول کپسول 200 میلی‌گرمی رزوراترول (از شرکت بیوگلان، ساخت استرالیا) و گروه شاهد، کپسول ژلاتین خوراکی ساخت شرکت باریج‌اسانس که از نظر شکل ظاهری مشابه داروی گروه مداخله بود، به عنوان دارونما دریافت کردند. مقدار دوز مصرفی رزوراترول بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و طبق نظر و تأیید متخصص مربوطه، یک کپسول در روز (200 میلی‌گرم در روز) در نظر گرفته شد. مکمل و دارو نما با شماره یک و دو در ظرف‌های مشابه توسط داروخانه مرکز به بیماران داده می‌شد.

از بیماران درخواست شد که در طول مطالعه حتی‌الامکان برنامه غذایی و شیوه زندگی خود را تغییر ندهند. جهت نظارت بر مصرف مرتب مکمل، هر دو هفته یک بار با بیماران تماس گرفته می‌شد.

بیماران قبل و بعد از مطالعه از نظر وزن، فشار خون، نمایه توده بدنی و میزان فعالیت مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از یک پرسشنامه عمومی، اطلاعات مربوط به سن تقویمی، سابقه عمل جراحی و بیماری‌های متابولیک مزمن، بیماری قلبی و عروقی، سابقه مصرف دارو و دخانیات و موارد دیگر جمع‌آوری گردید. در طی مطالعه بیماران، پرسنل

داروخانه کلینیک و پزشک در رابطه با بیمار، هیچ اطلاعی از اینکه بیمار در کدام گروه قرار می‌گیرد، نداشتند. نمونه‌گیری این مطالعه در تابستان 1394 و در درمانگاه دیابت تأمین اجتماعی شهر اصفهان صورت گرفت و آزمایشات مربوطه در مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد در نیمه دوم سال 1394 و نیمه اول سال 1395 انجام شد.

در ابتدای مطالعه و 60 روز پس از شروع مطالعه و مصرف رزوراترول، از همه افراد گروه‌ها 10 سی‌سی خون وریدی به صورت ناشتا گرفته شد که به دو قسمت شامل 8 سی‌سی نمونه لخته و 2 سی‌سی نمونه حاوی EDTA تقسیم گردید. سرم در کمتر از نیم ساعت با استفاده از سانتریفیوژ JUAN در دور 3000 و به مدت ده دقیقه از لخته جدا شد و تا زمان انجام آزمایشات (2 ماه بعد از اتمام نمونه‌گیری) در منهای 20 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

بر روی نمونه‌ها آزمایشات مربوط به پروفایل لیپیدی شامل کلسترول (CHOL) و تری‌گلیسیرید (TG) و آزمایش گلوکز ناشتا (FBS) و پروتئین گلیکوزیله (A1C) به روش آنزیمی، آزمایش HDL و LDL به روش مستقیم، آپولیپوپروتئین A (APOA) و آپولیپوپروتئین B (APOB) به روش ایمنوتوربیدومتریک انجام شد. آزمایشات فوق به همراه آهن (FE) با دستگاه اتوآنالایزر BT3000 (ساخت ایتالیا) انجام گرفت. پروتئین گلیکوزیله با استفاده از کیت شرکت پیشتاز طب (ساخت ایران) و سایر تست‌ها با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون (ساخت ایران) انجام شد.

تست‌های لپتین (کیت Biovendor ساخت کشور چک)، انسولین (کیت مونوبایند ساخت ایران)، گلوکاتایون ردوکتازو گلوکاتایون احیا (کیت زلیبو ساخت آلمان) به روش الیزا انجام گرفتند.

در این تحقیق میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی TAC (Ferric Reducing Ability of Plasma) به روش (FRAP) با استفاده از ماده اصلی تری‌پیریدیل-اس-تریازین، فعالیت آریل‌استرازی آنزیم پاراکسوناز (PON) از روش تجزیه فنیل‌استات، و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) سرم از روش تیوباربی‌توریک‌اسید و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شد.

اندازه‌گیری فعالیت آریل‌استرازی آنزیم پاراکسوناز با اندازه‌گیری تجزیه فنیل‌استات به فنل صورت می‌گیرد. فعالیت این آنزیم در بافر تریس-HCL با $PH=8$ و غلظت 0/1 مولار در

اجرای این تحقیق با هزینه دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و با کد اخلاق 1393-8-29 اجرا گردید. این پژوهش در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران با کد IRCT2014100619420N1 ثبت شده است.

همچنین با توجه به توضیح اهداف کار و اخذ رضایت‌نامه کتبی از بیمار و این‌که جهت انجام آزمایشات و مطالعه هزینه‌ای متوجه بیمار نبود و همچنین داوطلب می‌توانست در هر مرحله‌ای از مطالعه و با اطلاع مجری طرح از ادامه همکاری انصراف دهد؛ و با عنایت به این موضوع که اثربخشی مکمل رزوراترول توسط مطالعات بسیار و نهادهای مرجع پزشکی در کشورهای مختلف تأیید شده است و گزارش منفی خاصی در مورد وجود اثرات جانبی آن وجود ندارد، به نظر می‌رسد که مشکل اخلاقی خاصی جهت انجام این طرح وجود نداشته است.

• یافته‌ها

از بین بیماران داوطلبی که وارد مطالعه شدند، در طول فرایند مداخله 7 نفر از گروه مداخله به دلیل عدم تمایل به ادامه همکاری از مطالعه خارج شدند و 73 نفر، شامل 33 نفر در گروه رزوراترول و 40 نفر در گروه کنترل، مطالعه را به پایان رساندند (شکل 1) که مشخصات دموگرافیک آن‌ها در جدول 1 به صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) آمده است.

37 درجه سانتیگراد و با استفاده از اسپکتروفوتومتر توسط کووت 1cm اندازه‌گیری گردید:

ابتدا محلول کار به نسبت 50 سی‌سی فنیل‌استات به 330 سی‌سی بافر تریس‌اسیدی تهیه گردید. فعالیت در روش اسپکتروفوتومتری با اضافه کردن 10 μ l از نمونه به 2 سی‌سی از محلول کار شروع و سپس اختلاف جذب طی 4 دقیقه در طول موج 270 نانومتر در ضریب جذب مولی (1310) ضرب و فعالیت برحسب میکرومول در دقیقه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی با استفاده از اسیدکلریدریک 40 میلی‌مولار، استات سدیم 3 آبه، اسیداستیک غلیظ، FeCl₃ شش آبه و محلول تریازین در طول موج 593 نانومتر انجام شد.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید با روش تیوباربیتوریک‌اسید و با استفاده از سدیم‌دودسیل‌سولفات 8/1 درصد و اسیداستیک 20 درصد در طول موج 532 نانومتر با اسپکتروفوتومتر صورت گرفت.

پس از انجام آزمایشات در پایان مطالعه، داده‌های به دست آمده از طریق آزمون t و t زوجی و نرم‌افزار SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه P value کمتر از 0/05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول 1. اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه

گروه	تعداد	سن (سال)	وزن (Kg)	BMI	جنس (f/m)	قد (cm)
رزوراترول	33	57/0 \pm 6/0	75/1 \pm 13/1	27/1 \pm 4/0	16/17	166/3 \pm 9/0
کنترل	40	56/4 \pm 5/4	73/2 \pm 12/0	27/4 \pm 4/0	10/30	163/3 \pm 8/2



شکل 1. خلاصه‌ای از نحوه مطالعه و بیمارگیری

HbA1C ($p=0.015$) و افزایش در میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی ($p=0.030$) و APOA ($p=0.009$) و در زنان شامل کاهش در گلوکاتایون‌احیا ($p=0.030$) و BMI ($p=0.015$) و افزایش در پاراکسوناز ($p=0.012$) و APOA ($p=0.012$) است. در مردان شاهد کاهش کلسترول ($p=0.067$) و انسولین ($p=0.052$) و افزایش پاراکسوناز ($p=0.061$) تا نزدیک سطح معنی‌دار هستیم.

در گروه کنترل تغییرات معنی‌دار ($p<0.05$) در مردان شامل کاهش در میزان گلوکاتایون‌ردوکتاز ($p=0.048$) و در زنان شامل کاهش پاراکسوناز ($p=0.013$) است. البته گلوکاتایون‌ردوکتاز در زنان نیز کاهش داشته‌است اما این میزان ($p=0.066$) اندکی کمتر از سطح معنی‌دار است.

در جدول 2 نتایج تست‌های انجام شده قبل و بعد از مداخله در گروه‌های مختلف به صورت میانگین \pm انحراف معیار آمده‌است. ($p<0/05$) به معنای اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

همان‌طور که در جدول 2 ملاحظه می‌شود، نتایج نشان دهنده کاهش معنی‌دار ($p<0.05$) در میزان BMI و HbA1C و افزایش معنی‌دار در میزان آنزیم آنتی‌اکسیدانی پاراکسوناز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و APOA و HDL در پایان ماه دوم مصرف رزوراترول است. هم‌زمان در گروه کنترل کاهش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پاراکسوناز و گلوکاتایون‌ردوکتاز دیده می‌شود.

همچنین نتایج آزمون‌های آماری به تفکیک جنسیت نشان داد که پس از 60 روز مصرف مکمل رزوراترول، تغییرات معنی‌دار در مردان شامل کاهش در میزان BMI ($p=0.003$) و

جدول 2. نتایج تست‌های انجام شده قبل و بعد از مداخله و مقایسه آن‌ها

متغیر	گروه		رزوراترول		کنترل	
	قبل	بعد	P,value	بعد	قبل	P,value
BMI	27/1 \pm 4/0	26/6 \pm 3/7	0/000	27/4 \pm 4/0	27/4 \pm 4/0	0/631
FBS	147/0 \pm 7/5	140/2 \pm 6/2	0/166	153/1 \pm 5/8	158/7 \pm 6/3	0/202
A1C	7/0 \pm 0/2	6/8 \pm 0/2	0/041	6/8 \pm 1/3	7/1 \pm 1/4	0/175
TG	149/1 \pm 12/1	135/6 \pm 13/1	0/095	134/7 \pm 8/3	146/0 \pm 8/1	0/064
CHOL	155/3 \pm 7/6	150/3 \pm 6/7	0/252	150/8 \pm 5/5	152/4 \pm 5/0	0/743
HDL	44/1 \pm 7/4	45/6 \pm 7/5	0/038	49/5 \pm 2/9	48/7 \pm 2/3	0/620
LDL	80/5 \pm 4/2	78/1 \pm 4/6	0/435	78/6 \pm 3/1	80/0 \pm 3/7	0/630
FE	73/0 \pm 4/7	77/8 \pm 3/3	0/135	68/1 \pm 4/5	72/6 \pm 4/8	0/405
GSH	0/22 \pm 0/04	0/20 \pm 0/04	0/101	0/24 \pm 0/01	0/24 \pm 0/01	0/716
G.RED	61/7 \pm 18/5	41/1 \pm 6/5	0/273	362/5 \pm 82/3	221/0 \pm 49/1	0/036
PON	49/1 \pm 5/3	56/5 \pm 5/3	0/001	49/4 \pm 4/8	39/5 \pm 3/9	0/005
MDA	20/2 \pm 3/7	21/1 \pm 4/4	0/190	19/3 \pm 3/7	18/4 \pm 3/3	0/180
APOA	141/4 \pm 11/5	144/6 \pm 12/6	0/000	151/3 \pm 14/0	149/5 \pm 15/1	0/183
APOB	75/1 \pm 13/8	74/7 \pm 12/3	0/726	77/3 \pm 9/5	77/8 \pm 10/1	0/682
TAC	769/0 \pm 133/0	832/4 \pm 159/7	0/008	792/6 \pm 245/8	856/8 \pm 453/0	0/152
LEP	12/3 \pm 1/9	13/7 \pm 2/2	0/139	18/5 \pm 3/4	18/7 \pm 3/6	0/811
Ins	8/8 \pm 1/0	7/3 \pm 0/9	0/172	5/9 \pm 0/6	5/9 \pm 0/9	0/885

GSH, Reduced Glutathione; G.RED, Glutathione reductase; APOA, ApolipoproteinA; APOB, ApolipoproteinB; LEP, Leptin; Ins, Insulin; FBS, Fasting blood sugar; A1C, Glycated hemoglobin; PON, Paraoxonase enzyme; MDA, Malondealdehyde; TAC, Total antioxidant capacity

P,value<0.05 with paired t.test

• بحث

پروتئین SIRT1 که رزوراترول اغلب اثرات خود را از طریق آن در بدن پستانداران اعمال می‌کند از خانواده پروتئین‌های دی‌استیلاز وابسته به NAD⁺ است و در متابولیسم و هموستاز گلوکز و حساسیت به انسولین نقش دارد و افزایش فعالیت آن وابسته به افزایش نسبت NAD⁺/NADH است، احتمال می‌رود فعال کردن این پروتئین از دیگر مکانیسم‌های اثر رزوراترول باشد (25، 19، 13). فعال شدن پروتئین SIRT1 سبب فعالیت‌های بیولوژیکی مثل افزایش حساسیت به انسولین، اثر محافظتی بر قلب، کاهش ترشح انسولین از پانکراس و محدودیت انرژی (از مکانیسم‌های مؤثر در کنترل دیابت) می‌شود (19).

رزوراترول می‌تواند از طریق فعال کردن پروتئین کیناز وابسته به AMPK/AMP (و افزایش فسفریلاسیون آن سبب افزایش برداشت گلوکز و کاهش سطح لیپیدها شود، یکی دیگر از مکانیسم‌های مطرح شده برای اثر بهبودی رزوراترول بر هموستاز در دیابت، افزایش بیان ژن انتقال دهنده گلوکز وابسته به انسولین (GluT-4) و در نتیجه افزایش ورود گلوکز به داخل سلول‌ها است (26، 19).

رزوراترول به عنوان یک پلی‌فنل و آنتی‌اکسیدان قوی، مستقیماً توانایی حذف و مقابله با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش HbA1C را دارد، همچنین غیرمستقیم و با فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پاراکسوناز، نقش خود را در محافظت از سلول‌های پانکراس و افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و APOA و HDL و کاهش HbA1C نشان می‌دهد (19). از اعمال مهم پاراکسوناز فعالیت آتروژنیک و کاهش اکسیداسیون لیپیدهای پلاسما، LDL و HDL است. پاراکسوناز عمدتاً به HDL (LDL و VLDL) متصل است و ارتباط با HDL برای پایداری و حفظ فعالیت سرمی طبیعی آن لازم است. از طرفی وجود APOA1 برای عمل آنتی‌اکسیدانی HDL و پاراکسوناز ضروری است (27)، پس با توجه به ویژگی‌های متعدد رزوراترول و ارتباط فیزیولوژیک ضروری HDL و APOA1 و پاراکسوناز با یکدیگر، تأثیر معنی‌دار مصرف رزوراترول بر افزایش آن‌ها قابل پیش‌بینی است.

در جدول 3 مکانیسم‌های دیگر رزوراترول در دیابت به طور خلاصه آورده شده است.

اختلال متابولیک دیابت تیپ دو، متأثر از عوامل مختلفی از جمله رژیم غذایی و سبک زندگی، ژنتیک، کمبود فعالیت فیزیکی، مصرف الکل و دخانیات و استرس است. در حال حاضر درمان این بیماران شامل کنترل گلیسمیک، در کنار پیشگیری و مهار عوارض متعدد پاتولوژیک این اختلال است. این مطالعه بر بررسی چگونگی تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی با استفاده از منابع دارویی طبیعی برای تسهیل دسترسی به این اهداف متمرکز شده است.

در این مطالعه مصرف 2 ماهه رزوراترول موجب کاهش BMI و HbA1C و افزایش در میزان آنزیم آنتی‌اکسیدانی پاراکسوناز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و APOA و HDL گردید. کاهش HbA1C و افزایش ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در مردان، در زنان دیده نمی‌شود و از طرف دیگر افزایش آنزیم پاراکسوناز زنان در مردان معنی‌دار نیست. رزوراترول در بیماران با BMI بیشتر از 30 توانسته تأثیر معنی‌داری بر افزایش لپتین داشته‌باشد. به طور کلی مشاهده می‌شود که رزوراترول بر پارامترهای آنتی‌اکسیدانی تأثیر مشخص‌تری داشته‌است.

افزایش گلوکز و لیپیدها، باعث افزایش وزن و بسیاری عوارض دیگر در دیابت می‌شود. از آنجایی که کاهش BMI گروه کنترل مشاهده نشد، به احتمال زیاد کاهش آن در گروه مداخله تحت تأثیر مصرف رزوراترول بوده است. این کاهش BMI که در پی مصرف رزوراترول در این مطالعه به دست آمد می‌تواند از لحاظ روحی و فیزیولوژیکی کمک فراوانی به بیماران دیابتی برای کنترل بیماری و جدیت و پیگیری در ادامه روند درمان (که مهم‌ترین پارامتر در موفقیت هر پروسه درمانی - به خصوص دیابت - است) نماید.

رزوراترول هم به طور مستقیم و هم غیرمستقیم، هم وابسته به انسولین و هم غیروابسته به انسولین اثرات خود را در کاهش عوارض دیابت در بیماران ایفا می‌کند. یکی از مکانیسم‌های کنترل هایپرگلیسمی احتمالاً از طریق اثر رزوراترول بر کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP در میتوکندری سلول‌های بتای پانکراس و کاهش هایپرپلازاسیون آن‌ها از طریق کاهش ATP است و از آنجایی که افزایش نسبت ATP/ADP برای ترشح انسولین ضروری است در نتیجه موجب کاهش ترشح انسولین در پی افزایش حساسیت انسولینی در بافت‌ها می‌شود (24، 19).

جدول 3. نقاط اثر رزوراترول برای تعدیل عوارض دیابت

هدف (ملکول)	مکانیسم
VEGF	تنظیم VEGF و محافظت بیشتر سیستم قلبی
نیتریک اکساید	عمل تنظیم‌کنندگی NO و بهبود اتساع عروق مزانتریک
MnSOD	تنظیم MnSOD و محافظت بیشتر سیستم قلبی
فعالیت آگونیستی SUR	به عنوان آگونیست SUR باعث مدیریت و تعدیل آپوپتوز در بافت‌ها می‌شود
NFkB	مهار NFkB و محافظت از آسیب کبدی از طریق SIRT1
آنزیم‌های متابولیک کربوهیدرات	عملکرد آنتی‌دیابتیک از طریق تاثیر بر این آنزیم‌ها
NRF2	تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی با فعال کردن NRF2
TNF- α	بهبود عملکرد عروقی با مهار TNF- α و در نتیجه کاهش فعالیت NAD(P)H اکسیداز (از طریق محافظت نیتریک اکسایدسنز اندوتلیالی -eNOS)

VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor; SUR, Sulfonylurea Receptor; NFkB, Nuclear Factor kappa Beta; NRF2, Nuclear Factor2; TNF- α , Tumor Necrosis Factor alpha

کمک به آن‌ها در جهت کاهش عوارض متعدد و خطرناک این بیماری است.

به طور کلی در کنار نتایج فراوان این تحقیق می‌توان بیان کرد که تفاوت نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات احتمالاً ناشی از تفاوت در ژنتیک بیماران و تفاوت‌های جغرافیایی، طول مدت مصرف مکمل، دوز مصرف مکمل، مصرف داروهای مختلف دیابت توسط بیماران، تحت کنترل نبودن رژیم غذایی بیماران و نوع مطالعه (کشت سلولی، حیوانی و انسانی) و تفاوت ذاتی مطالعات *invivo* و *invitro* است. در کنار همه این‌ها لازم به یادآوری است که حدود نیمی از زمان مطالعه ما در طول مدت مصرف مکمل‌ها توسط بیماران، در ماه رمضان واقع شد که تغییر شدید عادات و رژیم غذایی مردم را در کشور ما به همراه دارد.

لازم به ذکر است که امکان هیچ‌گونه نظارت بر نوع و تغییر رژیم غذایی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه در مدت اجرا وجود نداشت، و با توجه به این که بعضی متغیرهای مورد بررسی از جمله آنتی‌اکسیدان‌ها، تحت تأثیر رژیم غذایی قرار می‌گیرند بنابراین عدم ارزیابی دریافت غذایی یکی از محدودیت‌های این مطالعه بوده است. البته با لحاظ شدن گروه کنترل و حجم مناسب نمونه در این مطالعه، می‌توان امیدوار بود این تأثیرات به حداقل رسیده باشد.

نتایج این مطالعه مشخص کرد که رزوراترول نقش مهمی در کنترل هایپرگلیسمی و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی دارد. به نظر می‌رسد با تشخیص تفاوت‌های بین بیماران دیابتی و شناسایی اولویت‌های اصلی درمانی آنان، می‌توان از این مکمل همراه داروهای آنتی‌دیابتیک فعلی برای کنترل بهتر و پیشگیری از عوارض بیشتر، استفاده کرد. امید است در آینده‌ای نه چندان دور شاهد استفاده از این‌گونه

در مطالعه‌ای در سال 2012، Bhatt و همکاران نشان دادند که رزوراترول هم به طور مستقیم و هم غیرمستقیم سبب فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود و به این ترتیب در افرادی که روزانه و به مدت سه ماه 250 میلی‌گرم رزوراترول گرفته بودند، کاهش در پروتئین گلیکوزیله و کلسترول و فشار خون و پروتئین توتال دیده شد اما تغییر معنی‌داری در HDL و LDL مشاهده نشد (28).

اما در مطالعه Tom و همکاران در سال 2014، نتیجه حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار رزوراترول بر پروفایل لیپیدی و گلوکز و پروتئین گلیکوزیله و مشاهده وجود اثر کاهشی بر پارامترهای التهابی بود (29).

در تحقیق حاضر مصرف 60 روزه رزوراترول، کاهش BMI و HbA1C و افزایش در میزان آنزیم آنتی‌اکسیدانی پاراکسوناز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی و APOA و HDL را به دنبال داشته است که با توجه به جامعیت و تعداد زیاد متغیرهای این مطالعه، طبیعتاً در مورد تعدادی از پارامترها با برخی مطالعات قبلی همسو است و برخی دیگر را تأیید نمی‌کند (35-30، 19، 11). بدیهی است انجام مطالعات بیشتر چه از نظر آماری و کمی و چه از نظر تفاوت‌های جنسیتی ضروری است.

معنی‌دارترین تغییرات در مدت مشابه در گروه کنترل شامل کاهش در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پاراکسوناز و گلوکاتایون‌ردوکتاز است، تغییرات معنی‌دار ($p < 0/05$) در مردان شامل کاهش در میزان گلوکاتایون‌ردوکتاز و در زنان شامل کاهش پاراکسوناز است. البته گلوکاتایون‌ردوکتاز در زنان نیز کاهش داشته است اما این میزان ($p = 0/066$) اندکی کمتر از سطح معنی‌دار است، که این‌ها خود نشان دهنده اهمیت تقویت و پرداختن به دفاع آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی و

این پروژه با هزینه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و حمایت مدیریت درمان تأمین اجتماعی استان اصفهان محقق گشته‌است، که در این راستا کمال تشکر و قدردانی را از آن‌ها می‌نماییم.

مکمل‌ها به عنوان داروهای درمانی اصلی باشیم. در پایان پیشنهاد می‌شود تحقیقات انسانی بیشتر با دوزهای متفاوت و دوره مصرف طولانی‌تر با جامعه آماری بزرگتر انجام گردد.

• References

- Kawamori R. Asymptomatic hyperglycaemia and early atherosclerotic changes. *Diabetes research and clinical practice*. 1998;31(40):35-42
- Gray R, Yudkin J. *Textbook of Diabetes 2nd Edition*, 1997. Blackwell Sciences.
- Haidara MA, Yassin HZ, Rateb M, Ammar H, Zorkani MA. Role of oxidative stress in development of cardiovascular complications in diabetes mellitus. *Current vascular pharmacology*. 2006;4(3):215-27.
- Ahmed SE, Mustafa E, AbdulRaheem EM. Assessment of Plasma Levels of Fasting Blood Glucose, Triglycerides, Total Cholesterol, and HbA1c in patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2013;13:16.
- Sharma A, Kharb S, Chugh S, Kakkar R, Singh G. Evaluation of oxidative stress before and after control of glycemia and after vitamin E supplementation in diabetic patients. *Metabolism*. 2000;49(2):160-2.
- Varvařovská J, Racek J, Štětina R, Sýkora J, Pomahačová R, Rušavý Z, et al. Aspects of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2004;58(10):539-45.
- Küçük M, Kolaylı S, Karaoğlu Ş, Ulusoy E, Baltacı C, Candan F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*. 2007;100(2):526-34.
- Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*. 2000 1/14;66(8):663-73.
- Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. 2003;425(6954):191-6.
- www.nutral gradient-usa.com[homeoage on the internet] Researchers tout 'fundamental' new mechanism for resveratrol's health benefits [07-Jan-2015] available from: [http:// www. nutral gradient-usa.com](http://www.nutral gradient-usa.com).
- Liu K, Zhou R, Wang B, Mi M-T. Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014 June 1, 2014;99(6):1510-9.
- Huang J-P, Huang S-S, Deng J-Y, Chang C-C, Day Y-J, Hung L-M. Insulin and resveratrol act synergistically, preventing cardiac dysfunction in diabetes, but the advantage of resveratrol in diabetics with acute heart attack is antagonized by insulin. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010;49(11):1710-21.
- Marouf BH, Aziz TA, Zalzal MH, Hussain SA. Free radical scavenging activity of Benfotiamine in nitrite-induced hemoglobin oxidation and membrane fragility models. *J Pharm Biomed Sci*. 2010;1(1):13-8.
- Prakash A, Rigelhof F, Miller E. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. 2001;19(2):1-4.
- Meek TH, Morton GJ. The role of leptin in diabetes: metabolic effects. *Diabetologia*. 2016;59(5):928-32.
- Lilja M, Rolandsson O, Norberg M, Söderberg S. The impact of leptin and adiponectin on incident type 2 diabetes is modified by sex and insulin resistance. *Metabolic syndrome and related disorders*. 2012;10(2):143-51.
- Saad MF, Riad-Gabriel MG, Khan A, Sharma A, Michael R, Jinagouda SD, et al. Diurnal and Ultradian Rhythmicity of Plasma Leptin: Effects of Gender and Adiposity 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(2):453-9.
- Erdmann J, Lippl F, Wagenpfeil S, Schusdziarra V. Differential association of basal and postprandial plasma ghrelin with leptin, insulin, and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(5):1371-8.
- Bagul P, Banerjee S. Application of resveratrol in diabetes: rationale, strategies and challenges. *Current molecular medicine*. 2015;15(4):312-30.
- Brasnyó P, Sümegi B, Winkler G, Wittmann I. Chapter 10 - Resveratrol and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. In: Preedy VR, editor. *Diabetes: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*. San Diego: Academic Press; 2014. p. 99-109.
- Singh CK, Kumar A, LaVoie HA, DiPette DJ, Singh US. Diabetic complications in pregnancy: is resveratrol a solution? *Experimental Biology and Medicine*. 2013 May 1, 2013;238(5):482-90.
- Curtin BF, Seetharam KI, Dhoieam P, Gordon RK, Doctor BP, Nambiar MP. Resveratrol induces catalytic bioscavenger paraoxonase 1 expression and protects against chemical warfare nerve agent toxicity in human cell lines. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2008;103(5):1524-35.
- Gouédard C, Barouki R, Morel Y. Induction of the paraoxonase-1 gene expression by resveratrol. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2004;24(12):2378-83.
- Kafeshani O, Ghiasvand R. The Relationship between Resveratrol and Diabetes Mellitus. *J Isfahan Med Sch* 2015; 32(310): 1993-2005[in Persian].
- Bhullar KS, Hubbard BP. Lifespan and healthspan extension by resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2015;1852(6):1209-18.

26. Movahed A. Beneficial effects of resveratrol on reducing blood glucose and insulin resistance in T2DM. *ISMJ*. 2016;19(1):155-66.
27. Soran H, Schofield JD, Liu Y, Durrington PN. How HDL protects LDL against atherogenic modification: paraoxonase 1 and other dramatis personae. *Current opinion in lipidology*. 2015;26(4):247-56.
28. Bhatt JK, Thomas S, Nanjan MJ. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research*. 2012 7//;32(7):537-41.
29. Tomé-Carneiro J, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, Dávalos A, Gil-Zamorano J, González M, et al. One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease. *Pharmacological Research*. 2013 6//;72(0):69-82.
30. Izzicupo P, Di Valerio V, D'Amico M, Di Mauro M, Pennelli A, Falone S, et al. NAD (P) H oxidase and pro-inflammatory response during maximal exercise: role of C242T polymorphism of the P22PHOX subunit. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2009;23(1):203-11.
31. E Mf, N S, A S. The Effect of One Session Resvin (Resveratrol) Supplementation on Total Antioxidant Capacity, Super Oxide Dismutase and Creatine Kinase in Elite Women Volleyball Players. *ZUMS Journal*. 2013;21(89):64-75. eng % @ % [2013.
32. Kasdallah-Grissa A, Mornagui B, Aouani E, Hammami M, El May M, Gharbi N, et al. Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates ethanol-induced oxidative stress in rat liver. *Life Sciences*. 2007 2/20//;80(11):1033-9.
33. Spanier G, Xu H, Xia N, Tobias S, Deng S, Wojnowski L, et al. Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). *J Physiol Pharmacol*. 2009;60(Suppl 4):111-6.
34. Mokni M, Elkahoui S, Limam F, Amri M, Aouani E. Effect of Resveratrol on Antioxidant Enzyme Activities in the Brain of Healthy Rat. *Neurochem Res*. 2007 2007/06/01;32(6):981-7. English.
35. Movahed A, Nabipour I, Lieben Louis X, Thandapilly SJ, Yu L, Kalantarhormozi M, et al. Antihyperglycemic effects of short term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. *Evidence-Based complementary and alternative medicine*. 2013;2013.

Effect of Resveratrol Supplementation on Antioxidant Parameters, Lipids Profile and Several Biochemical Indices in Type 2 Diabetic Patients: A Double-Blind Randomized-Controlled Clinical Trial

Gharib MH¹, Ghatreh Samani K^{*2}, ZarrinAbadi Z³, Mokhtari M⁴, Heydarian E⁵

1- Msc in Clinical Biochemistry, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, Iran; Iranian social security organization

2- *Corresponding author: Associated Professor, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, Iran. Email: mohogharib@gmail.com

3- PHD in Librarianship and Information Science, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

4- Bachelor of Medical Laboratory Sciences, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

5- Professor, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, Iran

Received 5 Nov, 2016

Accepted 22 Feb, 2017

Background and Objectives: Type II diabetes is the most common metabolic disease in the world that is considered a multi factorial disorder. . Oxidative stress caused by high blood sugar is a key factor in the development and progression of diabetes and its complications. The aim of this study was to investigate the effects of resveratrol -as natural origin antioxidant- on improving and reducing the complications of diabetes.

Materials and Methods: In this double blind clinical trial study, 80 diabetic patients were randomly divided into two groups (resveratrol and control) and received treatment (200 mg / day) or placebo for 60 days:. Blood samples were taken at the beginning of the study and after 60 days from patients and the experiments on antioxidant parameters, lipid profile and other biochemical parameters were performed. Data analysis were done by the SPSS21 software.

Results: Resveratrol consumption decreased BMI (p=0.000) and HbA1C (p=0.041) and increased HDL (p=0.038), paraoxonase (p=0.001), total antioxidant capacity (p=0.001) and APOA (p=0.000). In the control group reduction in paraoxonase (p=0.000) and glutathione reductase (p=0.036) enzymes were seen.

Conclusion: The results of this study showed that resveratrol plays an important role in the control of hyperglycemia and improving the antioxidant defense in patients with diabetes. It seems by identifying key priorities in each diabetic patient, this supplement can be used in combination with anti-diabetic medication to control and prevent further diabetic complications.

Keywords: Diabetes, Antioxidant, Resveratrol, Oxidative stress