

تأثیر مکمل رزوراترول بر میزان پارامترهای آنتی اکسیدانی و پروفایل لیپیدی و برخی شاخص های بیوشیمیایی در بیماران دیابتی تیپ دو: کارآزمایی بالینی تصادفی شده دوسوکور

محمدحسین غریب¹، کیهان قطره سامانی²، زرین زرین آبادی³، مریم مختاری⁴، اسفندیار حیدریان⁵

- 1- دانش آموخته 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 اطلاع رسانی، 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 دریافت: 95/8/15

تاریخ پذیرش: 95/12/4

چکیده

سابقه و هدف: دیابت نوع دو یکی از شایع ترین بیماری های متابولیک در سراسر جهان می باشد که باتوجه به ماهیت چند عاملی بیماری، عوامل مختلفی در آن نقش دارند. افزایش استرس اکسیداتیو در هایپرگلیسمی یک فاکتور کلیدی در پیشرفت دیابت و عوارض آن است. هدف این مطالعه بررسی تأثیر آنتی اکسیدان با منشأ طبیعی - رزوراترول در بهبود و کاهش عوارض بیماران دیابتی است.

مواد و روش ها: در این مطالعه کارآزمایی بالینی دوسوکور از بین بیماران دیابتی، 80 بیمار به طور تصادفی انتخاب و به دو گروه مصرف کننده 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 آزمایش های مربوط به پارامترهای آنتی اکسیدانی، پروفایل لیپیدی و برخی دیگر از شاخص های بیوشیمیایی روی آنان انجام گرفت. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: مصرف رزوراترول موجب کاهش معنی دار BMI (p=0.000) و HbA1C (p=0.041) و افزایش معنی دار پاراکسوناز (p=0.001) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (p=0.008) و APOA (p=0.000) و HDL (p=0.038) گردید. در گروه کنترل آنزیم های پاراکسوناز (p=0.005) و گلوکاتیون ردوکتاز (p=0.036) کاهش معنی دار یافتند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه مشخص کرد که رزوراترول نقش مهمی در کنترل هایپرگلیسمی و تقویت دفاع آنتی اکسیدانی در بیماران دیابتی دارد. به نظر می رسد با شناسایی اولویت های اصلی درمانی در هر بیمار دیابتی، می توان از این مکمل همراه با داروی آنتی دیابتیک بیمار برای کنترل و پیشگیری از عوارض بیشتر این اختلال استفاده کرد.

واژگان کلیدی: دیابت، آنتی اکسیدان، رزوراترول، استرس اکسیداتیو

• مقدمه

گلیسمیک و فاکتور مرتبط با افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شناخته می شود (4-2) افزایش رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو از عوامل مهم در پاتوژنز بیماری دیابت هستند (5).

استرس اکسیداتیو که حاصل عدم توازن میان تولید رادیکال های آزاد و دفاع آنتی اکسیدانی است در هایپرگلیسمی

دیابت نوع دو یکی از شایع ترین بیماری های متابولیک در سراسر جهان می باشد که با توجه به ماهیت چند عاملی بیماری، عوامل مختلفی در آن نقش دارند (1).

پروتئین گلیکوزیله که نتیجه اتصال غیرآنزیمی گلوکز با هموگلوبین های طبیعی است به عنوان یک مارکر کنترلی در دیابت، مارکر پیشگویی کننده دیس لیپیدی، شاخص استرس

طول کشیده دارند سطح لپتین سرم تقریباً 40% افزایش می یابد که احتمالاً ناشی از اثرات رشد سلول های 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 معنی دارتر از افراد سالم و گروه کنترل بوده است (11).

در مطالعه های در سال 2012، Bagul و همکاران با مقایسه ای که بین اثرات آنتی دیابتیک رزوراترول و متفورمین بر روی رت ها انجام دادند به این نتیجه رسیدند که رزوراترول نسبت به متفورمین در القاء و افزایش حساسیت به انسولین و کاهش قند و استرس اکسیداتیو عملکرد بهتری دارد (19).

در تحقیقی در سال 2014، Brasnyo و همکاران نشان دادند که استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در دیابت ملیتوس ایفا می کند و رزوراترول با اثرات ایمنوساپرسیو و آنتی اکسیدانی خود سبب کاهش استرس اکسیداتیو (ناشی از پاسخ لنفوسیت ها به افزایش لکوسیت ها) در دیابت و همچنین کاهش مقاومت به انسولین و کاهش قند خون می شود (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 سال های 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 آنتی اکسیدان جهت پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری های ناشی از رادیکال های آزاد شناخته شده است، با توجه به عوارض جانبی ترکیبات آنتی اکسیدان شیمیایی، یافتن منابع جدید آنتی اکسیدان گیاهی و طبیعی از اهمیت فراوانی برخوردار است، لذا بر آن شدیم تا با بررسی اثر مصرف رزوراترول بر میزان پروفایل لیپیدی، پارامترهای آنتی اکسیدانی و برخی شاخص های بیوشیمیایی در بیماران دیابتی تیپ دو و اثبات فرضیات مورد نظر، زمینه استفاده بهینه و بیشتری از مکمل های آنتی اکسیدان طبیعی و فرآورده های گیاهی برای مقابله با اثرات مخرب و فراوان تولید رادیکال های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی فراهم نماییم و به آنان در پیشگیری، بهبودی و کنترل عوارض این بیماری کمک کنیم.

افزایش می یابد. همچنین دیابت از طریق کاهش گلوکاتیون و کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز با کاهش دفاع آنتی اکسیدانی همراه است (1). کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در بیماران دیابتی بارها مورد مطالعه و تأیید قرار گرفته است (6).

امروزه کاربرد آنتی اکسیدان های طبیعی مشتق از منابع گیاهی و میوه ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است و از این ترکیبات که به عنوان فرآورده های ثانویه توسط گیاهان ساخته می شود در پیشگیری از ابتلا و کنترل بسیاری از بیماری ها استفاده می شود که از جمله این مواد می توان به ترکیبات فنلی اشاره کرد (7).

رزوراترول نوعی فیتوآلکسین است که توسط برخی اسپرماتوفیت ها در پاسخ به آسیب تولید می شود و در کاهش استرس اکسیداتیو و تجمع پلاکت و اکسیداسیون LDL نقش دارد (8).

رزوراترول یک پلی فنل قوی و ماده بیولوژیک فعال در برخی دانه ها، سبزیجات و میوه ها به خصوص توت و انگور قرمز است که سبب افزایش طول عمر سلول ها و کاهش مقاومت به انسولین می شود و پاسخ بدن به دیابت را بهبود می بخشد. محققین تأثیر این پلی فنل را به اثر آنتی اکسیدانی آن مرتبط می دانند (9، 10).

برای این ترکیب خصوصیات دیگری مانند مقابله با سرطان، نوروپروتکتیو (محافظت کننده 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 می کند (12).

آنتی اکسیدان ها به طور کلی از نظر شکل، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و جایگاه عمل شان با هم متفاوت و متنوع هستند، از جمله آنتی اکسیدان های آنزیمی مانند گلوکاتیون ردوکتاز، یا برخی ویتامین ها و مینرال ها و یا برخی پروتئین ها مانند آلبومین و یا آنتی اکسیدان های گیاهی موجود در مواد غذایی، نقش مهمی در حفظ سلامت انسان و پیشگیری از بیماری های مختلفی مانند سرطان، دیابت و بیماری های قلبی و عروقی دارند (3، 13، 14).

لپتین، یک هورمون پلی پپتیدی است که 146 اسید آمینه 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 به عنوان فاکتور پیش بینی دیابت در مردان نام برده می شود (16). یکی از مهم ترین تنظیم کننده های 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.

$$n = [(z1 - \alpha/2) + (z1 - \beta)]^2 * 2 \delta^2 / (\mu_2 - \mu_1)^2 = (1.96 + 1.28)^2 * 2 \delta^2 / (0.8 \delta)^2 = 32$$

همه بیماران در طول مطالعه داروی دیابت خود را (متفورمین) طبق روال قبل دریافت می‌کردند و در کنار آن گروه اول کپسول 200 میلی گرمی 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 میلی گرم 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 ایمونوتوربیدومتری 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 (Total Antioxidant Capacity) به روش (FRAP) اصلی تری‌پیریدیل-اس-تریازین، فعالیت آریل‌استراز آنزیم پاراکسوناز (PON) از روش تجزیه فنیل‌استات، و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) سرم از روش تیوباربیتوریک‌اسید و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد.

اندازه‌گیری فعالیت آریل‌استراز 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 رضایت نامه کتبی از بیمار و این که جهت انجام آزمایشات و مطالعه هزینه ای متوجه بیمار نبود و همچنین داوطلب می توانست در هر مرحله ای 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 می رسد که مشکل اخلاقی خاصی جهت انجام این طرح وجود نداشته است.

• یافته ها

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 آن ها 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 اندازه گیری گردید:

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

اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی با استفاده از اسید کلریدریک 40 میلی مولار، استات سدیم 3 آبه، اسیداستیک غلیظ، $FeCl_3$ شش آبه و محلول تریازین در طول موج 593 نانومتر انجام شد.

اندازه گیری مالون دی آلدیید با روش تیوباربیتوریک اسید و با استفاده از سدیم دودسیل سولفات 8/1 درصد و اسیداستیک 20 درصد در طول موج 532 نانومتر با اسپکتروفوتومتر صورت گرفت.

پس از انجام آزمایشات در پایان مطالعه، داده های به دست آمده از طریق آزمون t و t زوجی و نرم افزار SPSS21 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه P value کمتر از 0/05 معنی دار 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. خلاصه ای از نحوه مطالعه و بیمارگیری

HbA1C ($p=0.015$) و افزایش در میزان ظرفیت تام آنتی اکسیدانی ($p=0.030$) و APOA ($p=0.009$) و در زنان شامل کاهش در گلوکاتیون احیا ($p=0.030$) 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 معنی دار هستیم.

در گروه کنترل تغییرات معنی دار ($p<0.05$) در مردان شامل کاهش در میزان گلوکاتیون ردوکتاز ($p=0.048$) و در زنان شامل کاهش پاراکسوناز ($p=0.013$) است. البته گلوکاتیون ردوکتاز در زنان نیز کاهش داشته است اما این میزان ($p=0.066$) اندکی کمتر از سطح معنی دار است.

در جدول 2 نتایج تست های انجام شده قبل و بعد از مداخله در گروه های مختلف به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار آمده است. ($p<0/05$) به معنای اختلاف معنی دار در نظر گرفته شده است.

همان طور که در جدول 2 ملاحظه می شود، نتایج نشان دهنده کاهش معنی دار ($p<0.05$) در میزان BMI و HbA1C و افزایش معنی دار در میزان آنزیم آنتی اکسیدانی پاراکسوناز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و APOA و HDL در پایان ماه دوم مصرف رزوراترول است. هم زمان در گروه کنترل کاهش معنی دار آنزیم های آنتی اکسیدانی پاراکسوناز و گلوکاتیون ردوکتاز دیده می شود.

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

جدول 2. نتایج تست های انجام شده قبل و بعد از مداخله و مقایسه آن ها

متغیر	گروه			رزوراترول			کنترل		
	قبل	بعد	P, value	قبل	بعد	P, value	قبل	بعد	P, value
BMI	27/1 $\pm$ 4/0	26/6 $\pm$ 3/7	0/000	27/4 $\pm$ 4/0	27/5 $\pm$ 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

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 آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی پاراکسوناز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و APOA و HDL گردید. کاهش HbA1C و افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی در مردان، در زنان دیده نمی شود و از طرف دیگر افزایش آنزیم پاراکسوناز زنان در مردان معنی دار نیست. رزوراترول در بیماران با BMI بیشتر از 30 توانسته تاثیر معنی داری بر افزایش لپتین داشته باشد. به طور کلی مشاهده می شود که رزوراترول بر پارامترهای آنتی اکسیدانی تاثیر مشخص تری داشته است.

افزایش گلوکز و لیپیدها، باعث افزایش وزن و بسیاری عوارض دیگر در دیابت می شود. از آنجایی که کاهش BMI گروه کنترل مشاهده نشد، به احتمال زیاد کاهش آن در گروه مداخله تحت تاثیر مصرف رزوراترول بوده است. این کاهش BMI که در پی مصرف رزوراترول در این مطالعه به دست آمد می تواند از لحاظ روحی و فیزیولوژیکی کمک فراوانی به بیماران دیابتی برای کنترل بیماری و جدیت و پیگیری در ادامه روند درمان (که مهم ترین 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 می کند. یکی از مکانیسم های کنترل هایپرگلیسمی احتمالاً از طریق اثر رزوراترول بر کانال های پتانسیمی وابسته به ATP در میتوکندری سلول های 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 بافت ها می شود (19، 24).

پروتئین SIRT1 که رزوراترول اغلب اثرات خود را از طریق آن در بدن پستانداران اعمال می کند از خانواده پروتئین های دی استیلاز 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 می رود فعال کردن این پروتئین از دیگر مکانیسم های اثر رزوراترول باشد (13، 19، 25). فعال شدن پروتئین SIRT1 سبب فعالیت های بیولوژیکی مثل افزایش حساسیت به انسولین، اثر محافظتی بر قلب، کاهش ترشح انسولین از پانکراس و محدودیت انرژی (از مکانیسم های مؤثر در کنترل دیابت) می شود (19).

رزوراترول می تواند از طریق فعال کردن پروتئین کیناز وابسته به AMPK (AMPK) و افزایش فسفریلاسیون آن سبب افزایش برداشت گلوکز و کاهش سطح لیپیدها شود، یکی دیگر از مکانیسم های 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 سلول ها است (19، 26).

رزوراترول به عنوان یک پلی فنل و آنتی اکسیدان قوی، مستقیماً توانایی حذف و مقابله با رادیکال های آزاد و در نتیجه کاهش HbA1C را دارد، همچنین غیرمستقیم و با فعال کردن آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله پاراکسوناز، نقش خود را در محافظت از سلول های پانکراس و افزایش ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و APOA و HDL و کاهش HbA1C نشان می دهد (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 آنتی اکسیدانی HDL و پاراکسوناز ضروری است (27). پس با توجه به ویژگی های متعدد رزوراترول و ارتباط فیزیولوژیک ضروری HDL و APOA1 و پاراکسوناز با یکدیگر، تاثیر معنی دار مصرف رزوراترول بر افزایش آنها قابل پیش بینی است.

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

جدول 3. نقاط اثر رزوراترول برای تعدیل عوارض دیابت

هدف (ملکول)	مکانیسم
VEGF	تنظیم VEGF و محافظت بیشتر سیستم قلبی
نیتریک اکساید	عمل تنظیم کنندگی 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 اکساید سنتاز 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 شرکت کننده در این مطالعه در مدت اجرا وجود نداشت، و با توجه به این که بعضی متغیرهای مورد بررسی از جمله آنتی اکسیدان‌ها، 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 آنتی اکسیدانی 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 این گونه

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

اما در مطالعه Tom و همکاران در سال 2014، نتیجه حاکی از عدم تأثیر معنی دار 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 آنتی اکسیدانی پاراکسوناز و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی 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 (30-35، 19، 11). بدیهی است انجام مطالعات بیشتر چه از نظر آماری و کمی و چه از نظر تفاوت‌های جنسیتی ضروری است.

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

این پروژه با هزینه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و حمایت مدیریت درمان تأمین اجتماعی استان اصفهان محقق گشته است، 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, Schusdziaara 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}, ZarrinÅbadi 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