

Efficacy of Selenium Supplement on Gene Expression of Inflammatory Cytokines and Vascular Endothelial Growth Factor in Gestational Diabetes

Mehri Jamilian^{1*}, Somayeh Jamshidi²

1. Associate Professor, Department of Gynecology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.
2. Gynecology Resident, Department of Gynecology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Received: 24 Oct 2017, Accepted: 21 Nov 2017

Abstract

Background: Selenium supplement has multiple important effects, including anti-inflammatory effect. The aim of this study was to assess the effects of selenium supplement on gene expression of inflammatory cytokines and vascular endothelial growth factor in gestational diabetes.

Materials and Methods: This randomized double blind placebo control trial was performed on 40 patients suffering from GDM aged 18–40 years old. Participants were randomly divided into interventional group receiving 200mg/day selenium supplements (n=20) and control group receiving placebo (n=20) for 6 weeks. Primary outcome was gene expression of inflammatory cytokines and VEGF which were assessed in lymphocyte of GDM patients by RT-PCR method.

Results: After 6 weeks intervention, in comparison with the control group, interventional group showed down regulation of gene expression of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) (p=0.02) and transforming growth factor beta (TGF- β) (p=0.01) and up-regulation of gene expression of vascular endothelial (VEGF) (p = 0.03) in lymphocytes of GDM. There was not any significant change following intervention with selenium regarding gene expression of interleukin IL-1 β and IL-8 in lymphocytes of GDM patients.

Conclusion: 6 weeks supplementation with selenium in patients with GDM can cause down regulated gene expression of TNF- α and TGF- β , and up regulated gene expression of VEGF. Selenium supplement had not any effect on gene expression of IL-1 β and IL-8.

Keywords: Gene expression, Gestational diabetes mellitus, Inflammation, Selenium supplement

*Corresponding Author:

Address: Department of Gynecology, Taleghani Hospital, Arak, Iran
Email: mjamilian@yahoo.com

بررسی تاثیر مکمل یاری سلنیوم بر روی سطوح بیان ژن سیتوکین های التهابی و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در بیماران مبتلا به دیابت بارداری

مهری جمیلیان^{۱*}، سمیه جمشیدی^۲

۱. دانشیار، گروه زنان، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۲. دستیار تخصصی زنان، گروه زنان، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۲، تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: مکمل یاری سلنیوم می‌تواند تاثیرات مفید متعددی از جمله اعمال ضد التهابی داشته باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات مکمل یاری سلنیوم بر روی سطوح بیان ژن سیتوکین‌های التهابی و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در زنان مبتلا به دیابت بارداری (GDM) بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور کنترل شده با دارونما بر روی ۴۰ زن باردار مبتلا به GDM در محدوده سنی ۱۸ تا ۴۰ سال انجام شد. شرکت‌کنندگان، به طور تصادفی برای دریافت روزانه ۲۰۰ میکروگرم مکمل سلنیوم (n=۲۰) یا پلاسبو (n=۲۰) برای مدت ۶ هفته تقسیم شدند. سطوح بیان ژن سیتوکین‌های التهابی و VEGF در نفوسیت‌های زنان مبتلا به GDM به روش RT-PCR تعیین شد.

یافته‌ها: مکمل یاری سلنیوم بعد از ۶ هفته مداخله، در مقایسه با پلاسبو منجر به کاهش معنی دار بیان ژن فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) (p=۰/۰۲) و فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF- β) (p=۰/۰۱) و افزایش معنی دار سطوح بیان ژن VEGF (p=۰/۰۳) در نفوسیت‌های بیماران مبتلا به GDM شد. بیان ژن IL-1 β و IL-8 در نفوسیت‌های زنان مبتلا به GDM هیچ گونه تغییر قابل توجهی به دنبال مصرف مکمل سلنیوم پیدا نکرد.

نتیجه‌گیری: مصرف مکمل یاری سلنیوم بعد از ۶ هفته در زنان باردار مبتلا به GDM، منجر به کاهش معنی دار بیان ژن TNF- α و TGF- β و افزایش قابل ملاحظه بیان ژن VEGF شد. ولی نتوانست بر بیان IL-1 β و IL-8 تأثیری بگذارد.

واژگان کلیدی: مکمل یاری سلنیوم، بیان ژن، التهاب، دیابت بارداری

*نویسنده مسئول: ایران، اراک، بیمارستان طالقانی، گروه زنان

Email: mjamilian@yahoo.com

مقدمه

حافظتی در مقابل آسیب های اکسیداتیو در موش های دیابتی از طریق تنظیم سطوح آنتی اکسیدان ها و تولید سیتوکین های التهابی دارد (۷). اگرچه، مکمل سلنیوم با دوز روزانه ۴۰۰ میکروگرم به مدت ۱۴ روز تاثیری بر روی سطوح سیتوکین های پیش التهابی در بیماران تحت پیوند سلول های بنیادی نداشت (۸)، اثر ضد التهابی سلنیوم ممکن است به واسطه کاهش فعالیت مسیر Erk-MAP kinase و تغییر مسیر اسید آراشیدونیک از پروستاگلاندین پیش التهابی E2 به پروستاگلاندین ضد التهابی 15d-PGJ2، به نوبه خود سبب مهار مسیر NF-kB شود.

بنابر دانش ما، اطلاعات محدودی پیرامون اثرات مکمل سلنیوم بر سطوح بیان ژن سیتوکین های التهابی و VEGF در بیماران مبتلا به GDM وجود دارد. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات مکمل سلنیوم بر سطوح بیان ژن سیتوکین های التهابی و VEGF در بیماران مبتلا به GDM بود.

مواد و روش ها

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور کنترل شده با دارونما، از آبان ماه تا دی ماه ۹۵ در شهر اراک انجام شده است. در این مطالعه، زنان مبتلا به GDM با بارداری اول، سن ۱۸ تا ۴۰ سال وارد مداخله شدند. افرادی که معیارهای ورود به مطالعه ذکر شده را داشتند، از میان آن هایی که به درمانگاه های زنان و زایمان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اراک مراجعه می کردند، انتخاب شدند. در مجموع ۵۰ زن باردار برای این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند که از میان آن ها ۴۰ نفر دارای معیارهای ورود بودند. افرادی که مبتلا به پره اکلامپسی، اختلال در عملکرد کلیه، سابقه مرگ داخل رحمی جنین، جدا شدن زودرس جفت، نیازمند به درمان با انسولین و هیپوتیروئیدی از مداخله خارج شدند. در مجموع بیماران به طور تصادفی برای گرفتن دارونما ($n=20$) یا مکمل سلنیوم ($n=20$) به مدت ۶ هفته تقسیم شدند.

دیابت بارداری (GDM) به عنوان اختلال در تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین با شروع یا تشخیص در دوران بارداری تعریف می شود (۱). GDM هر ساله تا ۲۰۰،۰۰۰ زایمان را در ایالات متحده آمریکا تحت تاثیر قرار می دهد (۲). به علاوه، دیابت بارداری با اختلال در عملکرد آندوتلیال مرتبط می باشد. اختلال در عملکرد آندوتلیال، یک ریسک فاکتور اصلی بیماری قلبی-عروقی و آترواسکلروز می باشد. در یک مطالعه متا-آنالیز، شیوع GDM در ایران، ۳/۴۱ درصد گزارش شده است (بیشترین و کمترین میزان شیوع به ترتیب ۱۸/۶ و ۱/۳ درصد) (۳). بارداری و GDM با افزایش سیتوکین های التهابی، از جمله فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) و اینترلوکین ۶ (IL) همراه است که به نوبه خود می تواند نقش مهمی در پیشرفت عوارض حاملگی ایفا کند (۴). به علاوه، در تعدادی از مطالعات نشان داده شده است که بیان جفتی فاکتور رشد آندوتلیال عروقی و سطوح بند ناف آن، در زنان مبتلا به دیابت بارداری به طور قابل ملاحظه کمتر از حد نرمال است که به نوبه خود می تواند منجر به نقایص عروقی بیماری زا شود (۵).

سلنیوم به عنوان یک جز عملکردی آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز (GPx) مهارکننده پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسید های لیپیدی است. علاوه بر این، سلنیوم عملکردهای تنظیمی بر رشد سلولی، تغییر و تنظیم میزان رونویسی ژن های مختلف دارد. در یک مطالعه، کمبود سلنیوم در موش ها با افزایش فعالیت مسیر NF-kB مرتبط بوده است که در نتیجه آن رونویسی ژن تعداد زیادی از سیتوکین های پیش التهابی در واکنش به استرس اکسیداتیو افزایش می یابد. داده های مربوط به اثرات مکمل سلنیوم بر سیتوکین های التهابی کم و متناقض است. اخیراً نشان دادیم که مصرف روزانه ۲۰۰ میکروگرم مکمل سلنیوم در زنان مبتلا به دیابت بارداری برای مدت ۶ هفته، سبب کاهش معنی دار سطوح پروتئین واکنش گر C شده است (۶). به علاوه، سلنیوم اثرات

تعیین سطوح بیان ژن: برای تعیین سطوح بیان ژن فاکتورهای مرتبط با التهاب و VEGF در خون زنان مبتلا به دیابت باراری در مطالعه حاضر از تکنیک Real-time PCR استفاده شد. ابتدا برای جداسازی لئوسیت و مونوسیت ها با کمک محلول فایکول، خون تام بیماران که حاوی EDTA ۵ درصد می باشد را به آرامی بر روی محلول فایکول قرار داده و به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه سانتریفوژ کردیم. سپس لئوسیت ها و مونوسیت های قرار گرفته در حد فاصل فایکول و پلاسما را استخراج و با محلول PBS چندین بار شستشو دادیم. به سلول های استخراج شده، محلول RNA plus-X افزوده و RNA سلول ها را با روش مربوط به کیت ها استخراج نمودیم. برای تبدیل RNA به cDNA، RNA استخراج شده را با کمک RT-PCR تبدیل به cDNA نمودیم و نمونه را در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگه داری کردیم. پرایمرهای مربوط به ژن های مورد مطالعه و هم چنین ژن Houskeeping را تهیه نمودیم. پرایمرها را با نرم افزار Blast بررسی نمودیم. میزان بیان هر یک از ژن ها را با روش RT-PCR سنجش نموده و با فرمول Paffafi محاسبه کردیم. توالی های پرایمری مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است و ژن GAPDH به عنوان ژن Housekeeping gene انتخاب شده است. در مطالعه حاضر، پس از استخراج گلوبول های سفید، بلافاصله نمونه ها که عاری از هر گونه بافر و یا محلول شستشو PBS می باشد در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. نمونه ها با استفاده از کیت RNX-PLUS از شرکت سیناژن استخراج گردید و سپس نمونه ها تبدیل به cDNA (حداکثر یک هفته بعد از استخراج RNA) شدند و در نهایت در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. میزان بیان ژن ها با استفاده از کیت Amplicon و با استفاده از دستگاه Real-time PCR و به صورت نسبی سنجیده شد.

قرارگیری افراد در گروه ها به طور تصادفی و با استفاده از اعداد پیشنهاد شده توسط کامپیوتر انجام شد. مطالعه فوق براساس قوانین هلسینکی انجام گردید.

طراحی مطالعه: در ابتدای مطالعه، افراد به طور تصادفی برای دریافت دارونما یا مکمل سلنیوم با دوز روزانه ۲۰۰ میکروگرم و به مدت ۶ هفته گروه بندی شدند. به دلیل این که سلولز جذب نمی شود، بنابراین هیچ تأثیری بر بیان ژن ندارد. برای افزایش کمپلیانس، از بیماران خواسته شد که بسته های خالی مکمل ها را در انتهای مطالعه همراه داشته باشند. ثبت نام بیماران و تصادفی سازی و تخصیص آن ها به گروه های مداخله و پلاسبو توسط یک کارمند آموزش دیده در کلینیک انجام گرفت و از محققان و بیماران پنهان شد تا تحلیل های آماری نهایی به پایان رسید. از شرکت کنندگان خواسته شد تا فعالیت فیزیکی روزمره و رژیم غذایی معمول خود را تغییر ندهند و هیچ مکمل دیگری غیر از مکملی که محققین به آن ها دادند را استفاده نکنند. پیروی شرکت کنندگان از مصرف مکمل ها، هفته ای یک بار از طریق تماس تلفنی و هم چنین با استفاده از ثبت غذای سه روزه در طی مطالعه کنترل شد. همه زنان باردار در ابتدا، هفته های دوم، چهارم و انتهای مداخله، فرم یادداشت غذای روزانه سه روزه (دو روز عادی و یک روز آخر هفته) بر اساس مقیاس های خانگی را تکمیل نمودند. برای به دست آوردن دریافت مواد مغذی شرکت کنندگان، بر پایه گزارش غذایی سه روزه، از نرم افزار N4 تعدیل شده برای غذای ایرانیان استفاده شد.

ارزیابی شاخص های آنتروپومتریک: وزن و قد بیماران در شروع مطالعه و پس از ۶ هفته مداخله اندازه گیری شد. وزن در حالت ناشتایی، بدون کفش، با حداقل لباس و با استفاده از ترازوی دیجیتالی Seca با دقت ۰/۱ کیلوگرم اندازه گیری شد. قد با کمک متر نواری و با دقت ۰/۱ سانتی-متر اندازه گیری شد. نمایه توده بدنی (BMI) از تقسیم وزن بر حسب کیلوگرم به توان ۲ قد بر حسب متر محاسبه گردید.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در RT-PCR

دمای annealing (C)	اندازه (bp)	پرایمر	ژن
۶۳/۳	۱۲۶	F: AAGCTCATTTCCTGGTATGACAACG R: TCTTCCTCTTGTGCTCTTGCTGG	GAPDH
۵۲	۱۸۸	F: GTCAACCTCCTCTCTGCCAT R: CCAAAGTAGACCTGCCCAGA	TNF- α
۵۶	۲۲۷	F: TTGAGACTTTTCCGTTGCCG R: CGAGGTCTGGGAAAAGTCT	TGF- β
۵۶	۱۷۴	F: GCTTCTCTCTGGTCCTTGG R: AGGGCAGGGTAGAGAAGAG	IL-1 β
۵۶	۱۵۰	F: GCAGAGGGTTGTGGAGAAGT R: ACCCTACAACAGACCCACAC	IL-8
۵۴	۲۱۶	F: CTTCTGAGTTGCCCAGGAGA R: CTCACACACACAACCAGG	VEGF

GAPDH, glyceraldehyde-3-Phosphate dehydrogenase; IL-1 β , interleukin-1 β ; IL-8, interleukin-8; TNF- α , tumor necrosis factor alpha; TGF- β , transforming growth factor beta; VEGF, vascular endothelial growth factor

مقدار $p < 0.05$ به عنوان سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد و تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۷ انجام گردید.

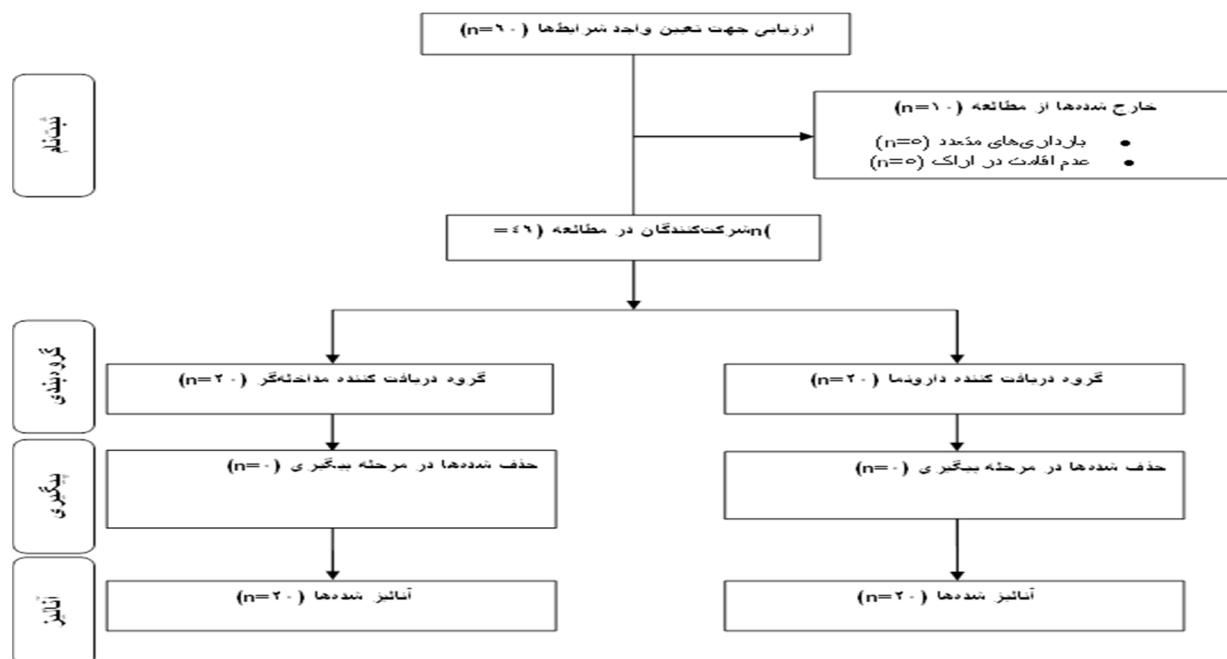
یافته‌ها

همان‌طور که در دیاگرام مطالعه نشان داده شده است (شکل ۱)، در مرحله بیمارگیری، ۵۰ بیمار مبتلا به دیابت بارداری را به مطالعه دعوت نمودیم. از این تعداد، ۱۰ شرکت کننده به دلیل نداشتن معیارهای لازم وارد مطالعه نشدند. در نهایت، ۴۰ شرکت کننده شامل ۲۰ فرد دریافت‌کننده دارونما و ۲۰ فرد گیرنده مکمل سلنیوم، کارآزمایی را به پایان رساندند.

تحلیل آماری

برای اطمینان از توزیع نرمال متغیرها، از آزمون آماری کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. آزمون تی مستقل برای به دست آوردن تفاوت ویژگی‌های عمومی و رژیم غذایی مصرف شده بین دو گروه و همچنین تعیین اثر مکمل سلنیوم بر بیان ژن مرتبط با التهاب و VEGF مورد استفاده قرار گرفت.

برای بررسی متغیرهای کیفی از آزمون کای مربع استفاده شد. از تحلیل کوواریانس برای تعدیل تحلیل داده‌ها برای مقادیر پایه متغیرها، سن و نمایه توده بدنی اولیه استفاده نمودیم. همه داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شدند.



شکل ۱. دیاگرام افراد شرکت کننده در مطالعه

یافته های این مطالعه، تفاوت آماری معنی داری بین میانگین سن، وزن، قد و نمایه توده بدنی دو گروه، در ابتدای مطالعه و پس از ۶ هفته مداخله نشان نداد (جدول ۲).

جدول ۲. مشخصات کلی شرکت کنندگان در مطالعه*

p**	گروه دارونما (n=20)	گروه سلنیوم (n=20)	
۰/۴۸	۲۸/۳±۴/۰	۲۹/۱±۲/۹	سن (سال)
۰/۸۰	۱۶۰/۶±۴/۴	۱۶۰/۳±۳/۱	قد (سانتی متر)
۰/۶۹	۷۰/۷±۸/۳	۷۱/۵±۵/۹	وزن در شروع مطالعه (کیلوگرم)
۰/۶۶	۷۲/۸±۸/۴	۷۳/۷±۵/۹	وزن در پایان مطالعه (کیلوگرم)
۰/۶۸	۲/۱±۰/۵	۲/۲±۰/۶	تغییرات وزن (کیلوگرم)
۰/۵۸	۲۷/۴±۲/۸	۲۷/۸±۲/۴	BMI در شروع مطالعه (کیلوگرم بر متر مربع)
۰/۵۶	۲۸/۲±۲/۹	۲۸/۷±۲/۵	BMI در پایان مطالعه (کیلوگرم بر متر مربع)
۰/۶۱	۰/۸±۰/۲	۰/۹±۰/۲	تغییرات BMI (کیلوگرم بر متر مربع)

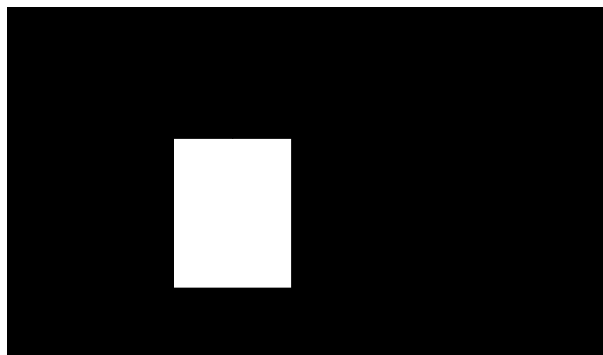
* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

** تغییرات بین گروه‌ها براساس آزمون تی مستقل می‌باشد.

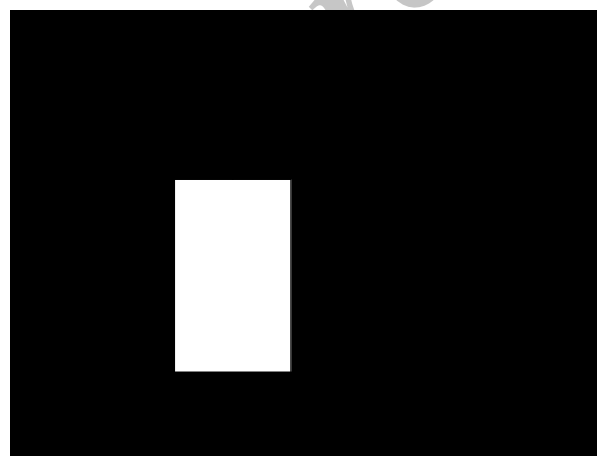


شکل ۳. تأثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن $TGF-\beta$ در زنان مبتلا به GDM

تأثیر قابل ملاحظه ای از مکمل سلنیوم بر بیان ژن $IL-1\beta$ ($p=0/35$) و $IL-8$ ($p=0/75$) در لنفوسیت های بیماران مبتلا به دیابت بارداری مشاهده نشد (شکل های ۴ و ۵).



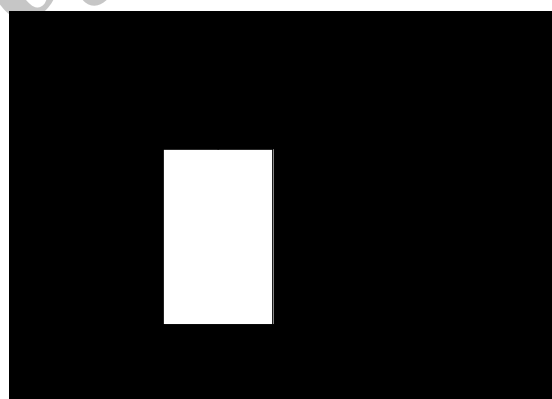
شکل ۴. تأثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن $IL-1\beta$ در زنان مبتلا به GDM



شکل ۵. تأثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن $IL-1\beta$ در زنان مبتلا به GDM

اطلاعات به دست آمده از دریافت رژیم غذایی سه روزه در سراسر طول مطالعه، تفاوت آماری معنی داری بین دو گروه از لحاظ دریافت انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیر اشباع پلی، اسیدهای چرب غیر اشباع مونو، کلسترول، فیبر رژیمی، منیزیم، سلنیوم، ویتامین های C، E و A نشان نداد (داده ها نشان داده نمی شود).

یافته های RT-PCR نشان داد که مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو سبب کاهش معنی دار بیان ژن $TNF-\alpha$ ($0/92 \pm 0/24$) برابر کاهش در مقابل $1/08 \pm 0/17$ برابر افزایش، در لنفوسیت های بیماران مبتلا به دیابت بارداری (شکل ۲) شده است. هنگامی که تحلیل داده ها را بر اساس مقادیر اولیه $TNF-\alpha$ ، سن مادر، نمایه توده بدنی اولیه تعدیل نمودیم، یافته هایمان تغییری نکرد (داده ها نشان داده نمی شود).



شکل ۲. تأثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن $TNF-\alpha$ در زنان مبتلا به GDM

مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو سبب کاهش معنی دار بیان ژن $TGF-\beta$ ($0/90 \pm 0/26$) برابر کاهش در مقابل $1/07 \pm 0/14$ برابر افزایش، در لنفوسیت های بیماران مبتلا به دیابت بارداری (شکل ۳) شده است. پس از تعدیل تحلیل داده ها برای مقادیر اولیه $TGF-\beta$ ، سن مادر و نمایه توده بدنی در ابتدای مداخله، یافته ها تغییری نکرد (داده ها نشان داده نمی شود).

است (۸، ۹). به علاوه، افزودن مکمل سلنیوم به ماکروفازها منجر به کاهش معنی دار بیان دو ژن پیش التهابی مهم شامل $TNF-\alpha$ و سیکلواکسیژناز-۲ از طریق مهار مسیر سیگنالینگ MAP کینازها شده است. در یک مطالعه دیگر، پروبیوتیک غنی شده با سلنیوم به طور معنی داری سطوح بیان ژن $TGF-\beta 1$ و ژن های مرتبط با با التهاب را در موش ها کاهش داده است (۱۰). هم چنین دریافت مکمل سلنیوم با دوز روزانه ۲۰۰ میکروگرم و یا ۸۰۰ میکروگرم، در مردان مسن سبب کاهش قابل ملاحظه سیتوکین های التهابی شد (۱۱). اگرچه، در مطالعه پیشین نشان دادیم که مصرف روزانه ۲۰۰ میکروگرم در بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی اثری بر سطوح $TGF-\beta$ نداشت (۱۲). سیتوکین های التهابی به خصوص $TNF-\alpha$ در پاتورژن مقاومت به انسولین در بارداری دخیل می باشند. مطالعات معدودی نشان داده اند که افزایش سطوح سیتوکین های پیش التهابی شامل $TNF-\alpha$ و کاهش سیتوکین های ضد التهابی نظیر آدیونکتین در پلاسماي زنان مبتلا به دیابت بارداری وجود دارد (۴، ۱۳). بافت های چربی و جفت زنان مبتلا به دیابت بارداری نسبت به زنان باردار سالم، مقادیر بالاتری از $TNF-\alpha$ در پاسخ به سطوح گلوکز بالا آزاد می کنند. این سیتوکین های پیش التهابی ممکن است رابط پاتوفیزیولوژیک بین دیابت بارداری و ابتلای بعدی به دیابت نوع ۲، سندروم متابولیک و بیماری های قلبی- عروقی باشد (۱۴). به علاوه افزایش $TNF-\alpha$ در اواخر بارداری ممکن است ارتباط معکوسی با حساسیت به انسولین داشته باشد (۱۵). سیتوکین های پیش التهابی ممکن است نقش کلیدی در تنظیم انتقال جفتی مواد مغذی نظیر اسیدهای چرب (۱۶) و اسیدهای آمینه داشته باشد. از طرف دیگر، سطوح $TGF-\beta$ در دیابت در مدل های حیوانی و مطالعات انسانی مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۷، ۱۸). گزارش شده است که در موش های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، در اولین روز با هایپرگلیسمی (قندخون بالا) سطوح بالاتری از بیان ژن $TGF-\beta$ داشته اند. مطالعات بی شماری اهمیت $TGF-\beta$ را در شرایط التهابی،

دریافت مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو سبب افزایش قابل ملاحظه بیان $VEGF$ (1.08 ± 0.27) برابر افزایش در مقابل 0.91 ± 0.19 برابر کاهش، ($p=0.03$) در لئوسیت های بیماران شد (شکل ۶). پس از تعدیل تحلیل داده ها برای مقادیر اولیه $VEGF$ ، سن مادر و نمایه توده بدنی در ابتدای مداخله، یافته ها تغییری نکرد (داده ها نشان داده نمی شود).



شکل ۶. تأثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن $VEGF$ در زنان مبتلا به GDM

بحث

بر اساس دانش ما، این مطالعه اولین مطالعه ای است که اثرات مکمل یاری سلنیوم را بر روی بیان ژن مرتبط با فاکتورهای التهابی و $VEGF$ را در زنان مبتلا به دیابت بارداری بررسی می کند. مطالعه ما نشان داد که مصرف مکمل سلنیوم به مدت ۶ هفته در بیماران مبتلا به دیابت بارداری، اثرات مفیدی بر روی بیان ژن $TNF-\alpha$ ، $TGF-\beta$ و $VEGF$ داشته است.

این مطالعه نشان داد که مصرف مکمل سلنیوم به مدت ۶ هفته در بیماران مبتلا به دیابت بارداری سبب کاهش معنادار بیان ژن $TNF-\alpha$ و $TGF-\beta$ در لئوسیت ها می شود، ولی نتوانست بر بیان ژن $IL-1\beta$ و $IL-8$ اثری بگذارد. در یک مطالعه که توسط بی و همکاران انجام شده است، نشان داده شد که به دنبال مصرف مکمل سلنیوم، بیان ژن های $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ و $IL-6$ به طور معنی دار کاهش داشته

طبیعی بالاتر می باشد. سطوح MFG-E8 به طور قابل توجه مرتبط با افزایش سطوح $TNF-\alpha$ ، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین می باشد (۱۹). به علاوه، نشان داده شده است که در میان سیتوکین های پیش التهابی، $TNF-\alpha$ مهم ترین پیش-گوی مقاومت به انسولین ناشی از بارداری بوده و در مقایسه با اینترلوکین ۶ یا ۸ توسط جفت، بیشتر ساخته و رها می شود. در مطالعه دیگری توسط کریستین و همکاران (۲۰) سیتوکین های پیش التهابی $IL-6$ ، $IL-8$ ، $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در ۵۷ زن با شاخص توده بدنی نرمال، دارای اضافه وزن و چاقی، در ۳ ماهه اول، دوم و سوم بارداری و هم چنین ۴ تا ۶ هفته بعد از زایمان سنجیده شدند. در زنان باردار سالم، سطوح $IL-6$ و $TNF-\alpha$ در هر ویزیت و بعد از زایمان افزایش داشت، در حالی که $IL-8$ و $IL-1\beta$ از سه ماهه اول تا سوم بارداری کاهش پیدا کرد (۲۰). همه این موارد ممکن است تاثیرات سودمند مکمل سلنیوم را بر بیان ژن $TNF-\alpha$ در مقایسه با- $IL-1\beta$ و $IL-6$ توجیه کند. با این وجود، مطالعات بیشتری برای تأیید یافته های ما نیاز است.

مطالعه حاضر نشان داد مصرف مکمل سلنیوم در زنان مبتلا به دیابت بارداری برای مدت ۶ هفته سبب افزایش قابل ملاحظه بیان ژن VEGF در لنفوسیت ها شد. محققین معدودی نشان داده اند که بیان ژن VEGF جفت و سطوح بند ناف جنین در بیماران مبتلا به دیابت بارداری به طور قابل ملاحظه پایین تر از حد نرمال است (۵). اطلاعات محدودی پیرامون اثر مکمل سلنیوم بر VEGF وجود دارد. در یک مطالعه توسط باجپای و همکاران (۲۱) نشان داده شد که تجویز سدیم سلنیت در موش های دیابتی سبب افزایش قابل ملاحظه سطوح VEGF در روز ۷ و ۱۳ شد. اگرچه افزایش در روز ۱۳ کمتر از روز ۷ بود. با این حال، مصرف مکمل ریزمغذی های آنتی اکسیدان از جمله سلنیوم، ویتامین C و E، بتا کاروتن، روی و گلوتامین در بیماران ترومایی با اختلالات در بهبود زخم بر سطوح VEGF تاثیری نداشت (۲۲). سطوح بالای قند خون در دیابت بارداری سبب هایپوکسی

مقاومت به انسولین، آنژیوژنز و آترواسکلروز نشان داده اند که $TGF-\beta$ سبب تحریک کموتاکسی مونوسیت و عبور آنها از اندوتلیوم و افزایش تکثیر سلول های عضلانی صاف افزایش بیان ژن فاکتور رشد مشتق از پلاکت می شود. به علاوه، $TGF-\beta$ سبب افزایش بیان ژن فاکتور بافتی در سلول های چربی می شود. یافته مهم دیگر این است که $TGF-\beta$ سبب ازدیاد فشارخون به واسطه افزایش سطوح مدیاتورهای وازواکتیو و با تغییر ساختار دیواره عروق باعث افزایش مقاومت عروق محیطی می شود. هم چنین، $TGF-\beta$ تولید نیتریک اکساید را مهار نموده و بیان ژن اندوتلین-۱ را در سلول های اندوتلیال تحریک می کند که به نوبه خود با افزایش فشار خون ریوی مرتبط است. $TGF-\beta$ هم چنین سبب تحریک آزاد شدن رنین از سلول های گلوامرول و افزایش فشارخون به واسطه تولید آنژیوتانسین ۲ می شود. این مطالعات شواهد مستقیمی را برای نقش $TGF-\beta$ در پیشرفت عوارض عروقی در بیماری های مرتبط با سندرم متابولیک مانند دیابت بارداری ارائه می دهد. درک مکانیسم های مولکولی که سیتوکین ها به واسطه آن انتقال مواد مغذی را تنظیم می نمایند، ممکن است در پیشرفت استراتژی های درمانی برای کاهش بروز رشد بیش از حد جنین در حاملگی های دیابت بارداری کمک کند و بدین ترتیب سبب کاهش ابتلا به بیماری های متابولیک شود. کاهش فعالیت مسیر سیگنالینگ Erk-MAP kinase به دنبال دریافت مکمل سلنیوم ممکن است به کاهش التهاب کمک کند. به علاوه مکمل سلنیوم ممکن است تولید مارکرهای التهابی را به واسطه مهار مسیرهای MAP kinase بکاهد. هم چنین دریافت سلنیوم ممکن است التهاب را از طریق مهار NF- κ B و افزایش تولید GPx کاهش دهد. باید در نظر داشت که فاکتور رشد اپیدرمال قطره چربی شیر ۸ (milk fat globule-epidermal growth factor 8; MFG-E8) در طول بارداری به طور چشم گیری افزایش می یابد و به طور قابل ملاحظه در دیابت بارداری نسبت به بارداری

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک و با کد IRCT201612045623N95 در مرکز کارآزمایی بالینی ثبت شده است.

منابع

- Mishra S, Rao CR, Shetty A. Trends in the Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus. Scientifica (Cairo). 2016;2016:5489015.
- Durnwald C. Gestational diabetes: Linking epidemiology, excessive gestational weight gain, adverse pregnancy outcomes, and future metabolic syndrome. Semin Perinatol. 2015;39:254-8.
- Jafari-Shobeiri M, Ghोजزاده M, Azami-Aghdash S, Naghavi-Behzad M, Piri R, Pourali-Akbar Y, et al. Prevalence and Risk Factors of Gestational Diabetes in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. Iran J Public Health. 2015;44:1036-44.
- Fasshauer M, Bluher M, Stumvoll M. Adipokines in gestational diabetes. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2:488-99.
- Meng Q, Shao L, Luo X, Mu Y, Xu W, Gao L, et al. Expressions of VEGF-A and VEGFR-2 in placentae from GDM pregnancies. Reprod Biol Endocrinol. 2016;14:61.
- Asemi Z, Jamilian M, Mesdaghinia E, Esmailzadeh A. Effects of selenium supplementation on glucose homeostasis, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes: Randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Nutrition. 2015;31:1235-42.
- Kahya MC, Naziroglu M, Cig B. Melatonin and selenium reduce plasma cytokine and brain oxidative stress levels in diabetic rats. Brain Inj. 2015;29:1490-6.
- Daeian N, Radfar M, Jahangard-Rafsanjani Z, Hadjibabaie M, Ghavamzadeh A. Selenium supplementation in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: effects on pro-inflammatory cytokines levels. Daru. 2014;22:51.
- Bi CL, Wang H, Wang YJ, Sun J, Dong JS, Meng X, et al. Selenium inhibits Staphylococcus aureus-induced inflammation by suppressing the

شدید/ایسکمی می‌شود که به نوبه خود سبب کاهش مویرگی شدن و بنابراین هیپوکسی جنینی به عنوان پیامد دیابت مادر، بیان ژن VEGF را در سه ماهه سوم بارداری تحریک نمی‌کند (۲۳). سطوح کاهش یافته VEGF ممکن است منجر به افزایش عبور سیتوکین‌های آپوپتوتیک و پیش‌التهابی شود (۲۳). VEGF، یک فاکتور حیاتی جهت رشد سلول‌های آندوتلیال عروقی و افزایش تعداد عروق و مویرگ‌ها است که به نوبه خود سبب تامین مواد مغذی جنین از طریق مکانیسم فیدبکی کلاسیک می‌شود. تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که VEGF یک فاکتور کلیدی در هر دو شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک است. به دلیل این‌که جفت یکی از منابع اصلی VEGF در دوران بارداری است، کاهش بیان VEGF در جفت در بیماران مبتلا به دیابت بارداری ممکن است به نقایص عروقی بیماری‌زا منجر شود که می‌تواند در معاینات بافت‌شناسی مشاهده شود (۵). بنابراین، افزایش سطوح بیان VEGF در مطالعه ما ممکن است از تغییر ساختار عروق اولیه و تحریک تشکیل یک شبکه مویرگ در هسته مزانشیمال حمایت کند (۲۴).

نتیجه‌گیری

در مجموع، مصرف مکمل سلنیوم در زنان مبتلا به دیابت بارداری بعد از ۶ هفته سبب کاهش قابل‌ملاحظه بیان ژن $TGF-\beta$ و $TNF-\alpha$ و افزایش قابل‌توجه VEGF در لنفوسیت‌ها شد، ولی نتوانست بر بیان ژن $IL-1\beta$ و $IL-8$ تأثیری بگذارد. بنابراین مکمل سلنیوم ممکن است تأثیرات مفید درمانی برای بیماران مبتلا به دیابت بارداری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد. از مساعدت و همکاری کارکنان درمانگاه کوثر اراک در انجام این پروژه قدردانی می‌شود.

- activation of the NF-kappaB and MAPK signalling pathways in RAW264.7 macrophages. *Eur J Pharmacol.* 2016;780:159-65.
10. Liu Y, Liu Q, Ye G, Khan A, Liu J, Gan F, et al. Protective effects of Selenium-enriched probiotics on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *J Agric Food Chem.* 2015;63:242-9.
11. Algotar AM, Behnejad R, Singh P, Thompson PA, Hsu CH, Stratton SP. EFFECT OF SELENIUM SUPPLEMENTATION ON PROTEOMIC SERUM BIOMARKERS IN ELDERLY MEN. *J Frailty Aging.* 2015;4:107-10.
12. Bahmani F, Kia M, Soleimani A, Mohammadi AA, Asemi Z. The effects of selenium supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in patients with diabetic nephropathy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2016;116:1222-8.
13. Lopez-Tinoco C, Roca M, Fernandez-Deudero A, Garcia-Valero A, Bugatto F, Aguilar-Diosdado M, et al. Cytokine profile, metabolic syndrome and cardiovascular disease risk in women with late-onset gestational diabetes mellitus. *Cytokine.* 2012;58:14-9.
14. Xu Y, Shen S, Sun L, Yang H, Jin B, Cao X. Metabolic syndrome risk after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9:e87863.
15. Pantham P, Aye IL, Powell TL. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus. *Placenta.* 2015;36:709-15.
16. Lager S, Jansson N, Olsson AL, Wennergren M, Jansson T, Powell TL. Effect of IL-6 and TNF-alpha on fatty acid uptake in cultured human primary trophoblast cells. *Placenta.* 2011;32:121-7.
17. Ram M, Singh V, Kumawat S, Kumar D, Lingaraju MC, Uttam Singh T, et al. Deferoxamine modulates cytokines and growth factors to accelerate cutaneous wound healing in diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2015;764:9-21.
18. Ybarra J, Pou JM, Romeo JH, Merce J, Jurado J. Transforming growth factor beta 1 as a biomarker of diabetic peripheral neuropathy: cross-sectional study. *J Diabetes Complications.* 2010;24:306-12.
19. Li Y, Ran W, Zhang J, Chen S, Li Y, Luo D, et al. Circulating milk fat globule-epidermal growth factor 8 levels are increased in pregnancy and gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Investig.* 2017;8:571-81.
20. Christian LM, Porter K. Longitudinal changes in serum proinflammatory markers across pregnancy and postpartum: effects of maternal body mass index. *Cytokine.* 2014;70:134-40.
21. Bajpai S, Mishra M, Kumar H, Tripathi K, Singh SK, Pandey HP, et al. Effect of selenium on connexin expression, angiogenesis, and antioxidant status in diabetic wound healing. *Biol Trace Elem Res.* 2011;144:327-38.
22. Blass SC, Goost H, Tolba RH, Stoffel-Wagner B, Kabir K, Burger C, et al. Time to wound closure in trauma patients with disorders in wound healing is shortened by supplements containing antioxidant micronutrients and glutamine: a PRCT. *Clin Nutr.* 2012;31:469-75.
23. Chang SC, Vivian Yang WC. Hyperglycemia induces altered expressions of angiogenesis associated molecules in the trophoblast. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:457971.
24. Demir R, Kayisli UA, Seval Y, Celik-Ozenci C, Korgun ET, Demir-Weusten AY, et al. Sequential expression of VEGF and its receptors in human placental villi during very early pregnancy: differences between placental vasculogenesis and angiogenesis. *Placenta.* 2004;25:560-72.