Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2018; 20(127): 29-39

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

Mehri Jamilian[1*], Somayeh Jamshidi[2]

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

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۱۰ (شماره پیاپی ۱۲۷)،دی ۱۳۹۶،۳۹-۲۹

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[1*]، سمیه جمشیدی[2]

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 لنفوسیت‌های 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 لنفوسیت های بیماران مبتلا به GDM شد. بیان ژن IL-1β و IL-8 در لنفوسیت های 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-αو TGF-β و افزایش قابل ملاحظه بیان ژن VEGF شد. ولی نتوانست بر بیان IL-1β 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

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 درصدگزارش شده است (بیشترین و کمترین میزان شیوع به ترتیب ۱۸/۶ و ۱/۳ درصد) (۳). بارداری و GDM با افزایش سیتوکین‌های التهابی، از جمله فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α) و اینترلوکین ۶ (IL) همراه است که به نوبه خود می‌تواند نقش مهمی در پیشرفت عوارض حاملگی ایفا کند (۴). به علاوه، در تعدادی از مطالعات نشان داده شده است که بیان جفتی فاکتور رشد اندوتلیال 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 گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) مهارکننده پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسید های لیپیدی است. علاوه بر این، سلنیوم عملکردهای تنظیمی بر رشد سلولی، تغییر و تنظیم میزان رونویسی ژن‌های مختلف دارد. در یک مطالعه، کمبود سلنیوم در موش‌ها با افزایش فعالیت مسیر NF-κB 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 سیتوکین‌های التهابی کم و متناقض است. اخیرا 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 واکنش‌گر C شده است (۶). به‌علاوه، سلنیوم اثرات حافظتی در مقابل آسیب های اکسیداتیو در موش های دیابتی از طریق تنظیم سطوح آنتی اکسیدان‌ها و تولید سیتوکین‌های 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 مسیرErk-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 سیتوکین‌های التهابی و VEGF در بیماران مبتلا به GDM بود.

مواد و روش‌ها

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 درمانگاه‌های زنان و زایمان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اراک مراجعه می‌کردند، انتخاب شدند. در مجموع ۵۰ زن باردار برای این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند که از میان آن‌ها ۴۰ نفر دارای معیارهای ورود بودند. افرادی که مبتلا به پره‌اکلامپسی، 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=۲۰) یا مکمل سلنیوم (n=۲۰) به مدت ۶ هفته تقسیم شدند.

قرارگیری افراد در گروه‌ها 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 گروه‌بندی شدند. به دلیل این‌که 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 آن‌ها 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 شرکت‌کنندگان خواسته شد تا فعالیت فیزیکی روزمره و رژیم غذایی معمول خود را تغییر ندهند و هیچ مکمل دیگری غیر از مکملی که محققین به آن‌ها دادند را استفاده نکنند. پیروی شرکت‌کنندگان از مصرف مکمل‌ها، هفته‌ای یک بار از طریق تماس تلفنی و هم‌چنین 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 شرکت‌کنندگان، بر پایه گزارش غذایی سه روزه، از نرم افزار N4 تعدیل شده برای غذای ایرانیان استفاده شد.

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

تعیین سطوح بیان ژن: برای تعیین سطوح بیان ژن فاکتورهای مرتبط با التهاب و VEGF در خون زنان مبتلا به دیابت بارداری در مطالعه حاضر از تکنیک Real-time PCR استفاده شد. ابتدا برای جداسازی لنفوسیت 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 دور در دقیقه سانتریفوژ کردیم. سپس لنفوسیت ها و مونوسیت‌های 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 هم‌چنین 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. توالی‌های 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 گلبول 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 نمونه‌ها 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.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در RT-PCR

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

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

تحلیل آماری

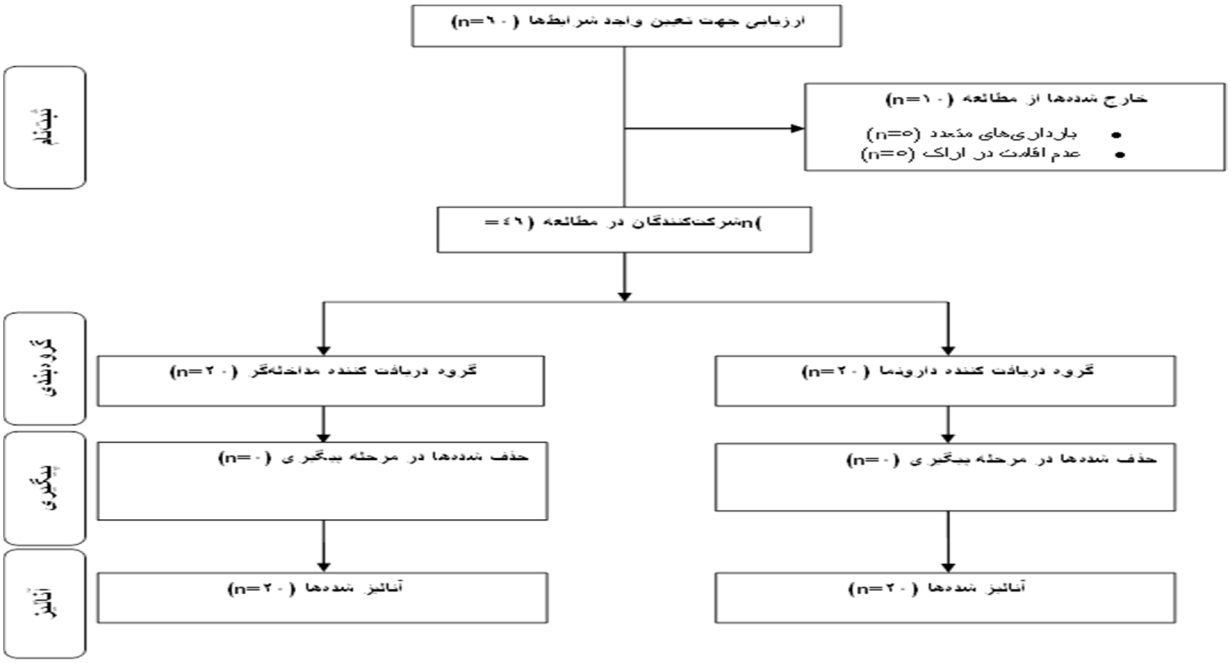
برای اطمینان از توزیع نرمال متغیرها، از آزمون آماری کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. آزمون تی مستقل برای به دست آوردن تفاوت ویژگی‌های عمومی و رژیم غذایی مصرف شده بین دو گروه و هم‌چنین تعیین اثر مکمل سلنیوم بر بیان ژن مرتبط با التهاب و VEGF مورد استفاده قرار گرفت.

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 ± انحراف معیار نشان داده شدند.

مقدار $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد و تمام تحلیل های 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.



شکل ۱. دیاگرام افراد شرکت‌کننده در مطالعه

یافته های این مطالعه، تفاوت آماری معنی‌داری 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 شرکت‌کنندگان در مطالعه*

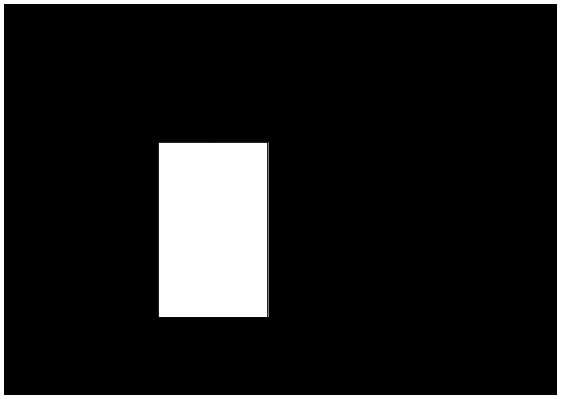
	گروه سلنیوم (n=۲۰)	گروه دارونما (n=۲۰)	p**
سن (سال)	۲۹/۱±۲/۹	۲۸/۳±۴/۰	۰/۴۸
قد (سانتی‌متر)	۱۶۰/۳±۳/۱	۱۶۰/۶±۴/۴	۰/۸۰
وزن در شروع مطالعه (کیلوگرم)	۷۱/۵±۵/۹	۷۰/۷±۸/۳	۰/۶۹
وزن در پایان مطالعه (کیلوگرم)	۷۳/۷±۵/۹	۷۲/۸±۸/۴	۰/۶۶
تغییرات وزن (کیلوگرم)	۲/۲±۰/۶	۲/۱±۰/۵	۰/۶۸
BMI در شروع مطالعه (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۷/۸±۲/۴	۲۷/۴±۲/۸	۰/۵۸
BMI در پایان مطالعه (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۸/۷±۲/۵	۲۸/۲±۲/۹	۰/۵۶
تغییرات BMI (کیلوگرم بر متر مربع)	۰/۹±۰/۲	۰/۸±۰/۲	۰/۶۱

*داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار می‌باشد.

** تغییرات بین گروه‌ها براساس آزمون تی مستقل می‌باشد.

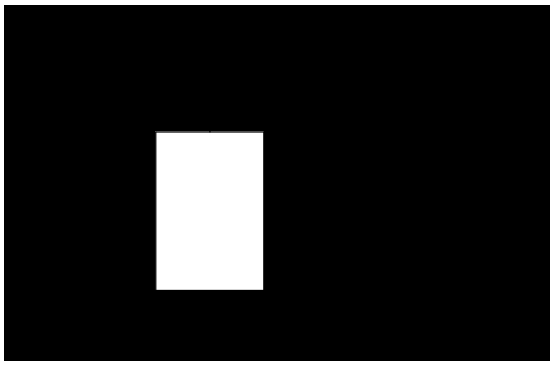
اطلاعات به‌دست آمده از دریافت رژیم غذایی سه روزه در سراسر طول مطالعه، تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه از لحاظ دریافت انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیر اشباع پلی، اسیدهای چرب غیر اشباع مونو، کلسترول، فیبر رژیمی، منیزیم، سلنیوم، ویتامین های C، E و A نشان نداد (داده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

یافته‌های RT-PCR نشان داد که مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو سبب کاهش معنی دار بیان ژن TNF-α (۰/۹۲±۰/۲۴ برابر کاهش در مقابل ۱/۰۸±۰/۱۷ برابر افزایش، p=۰/۰۲) در لنفوسیت های بیماران مبتلا به دیابت بارداری (شکل ۲) شده است. هنگامی‌که تحلیل داده‌ها را بر اساس مقادیر اولیهTNF-α، سن مادر، نمایه توده بدنی اولیه تعدیل نمودیم، یافته‌هایمان تغییری نکرد (داده ها نشان داده نمی شود).



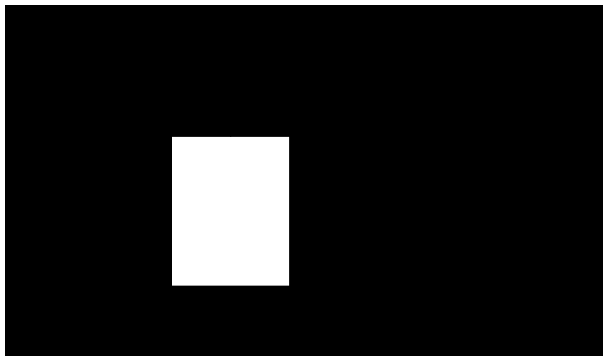
شکل ۲. تاثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن TNF-α در زنان مبتلا به GDM

مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو سبب کاهش معنی دار بیان ژن TGF-β (۰/۹۰±۰/۲۶ برابر کاهش در مقابل ۱/۰۷±۰/۱۴ برابر افزایش، p=۰/۰۱) در لنفوسیت های بیماران مبتلا به دیابت بارداری (شکل ۳) شده است. پس از تعدیل تحلیل داده ها برای مقادیر اولیه TGF-β، سن مادر و نمایه توده بدنی در ابتدای مداخله، یافته ها تغییری نکرد (داده ها نشان داده نمی شود).

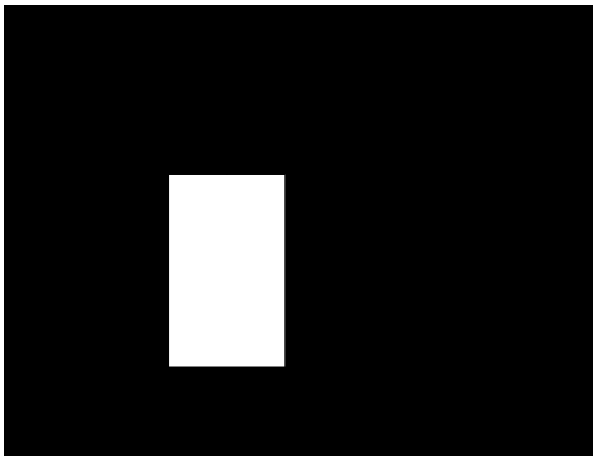


شکل ۳. تاثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن TGF-β در زنان مبتلا به GDM

تاثیر قابل ملاحظه ای از مکمل سلنیوم بر بیان ژن IL-1β (p=۰/۳۵) و IL-8 (p=۰/۷۵) در لنفوسیت های بیماران مبتلا به دیابت بارداری مشاهده نشد (شکل‌های ۴ و ۵).



شکل ٤. تاثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن IL-1β در زنان مبتلا به GDM



شکل ۵. تاثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن IL-1β در زنان مبتلا به GDM

دریافت مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو سبب افزایش قابل ملاحظه بیان VEGF (۰/۲۷±۱/۰۸ برابر افزایش در مقابل ۰/۱۹±۰/۹۱ برابر کاهش، p=۰/۰۳) در لنفوسیت 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 ٦. تاثیر مکمل سلنیوم در مقایسه با پلاسبو بر نسبت بیان ژن VEGF در زنان مبتلا به GDM

بحث

بر اساس دانش ما، این مطالعه اولین مطالعه‌ای 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 می‌کند. 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-α، TGF-β 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-α و TGF-β در لنفوسیت ها می‌شود، ولی نتوانست بر بیان ژن IL-1β 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-α ، IL-1β و IL-6 به طور معنی دار کاهش داشته است (۸، ۹). به علاوه، افزودن مکمل سلنیوم به ماکروفاژها منجر به کاهش معنی دار بیان دو ژن پیش التهابی مهم شامل TNF-α 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-β1 و ژن های مرتبط با با التهاب را در موش ها کاهش داده است (۱۰). هم‌چنین دریافت مکمل سلنیوم با دوز روزانه ۲۰۰ میکروگرم و یا ۸۰۰ میکروگرم، در مردان مسن سبب کاهش قابل ملاحظه سیتوکین‌های التهابی شد(۱۱). اگرچه، در مطالعه پیشین نشان دادیم که مصرف روزانه ۲۰۰ میکروگرم در بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی اثری بر سطوح TGF-β نداشت (۱۲). سیتوکین های التهابی به خصوص TNF-α در پاتوژنز مقاومت به انسولین در بارداری دخیل می باشند. مطالعات معدودی نشان داده اند که افزایش سطوح سیتوکین های پیش التهابی شامل TNF-α و کاهش سیتوکین های ضد التهابی نظیر آدیپونکتین در پلاسمای 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-α 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-α 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-β 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 هایپرگلایسمی (قندخون بالا) سطوح بالاتری از بیان ژن TGF-β داشته‌اند. مطالعات بی‌شماری اهمیت TGF-β را در شرایط التهابی،

مقاومت به انسولین، آنژیوژنز و آترواسکلروز نشان داده اند که TGF-β سبب تحریک کموتاکسی مونوسیت و عبور آن‌ها از اندوتلیوم و افزایش تکثیر سلول های عضلانی صاف افزایش بیان ژن فاکتور رشد مشتق از پلاکت می‌شود. به علاوه، TGF-β سبب افزایش بیان ژن فاکتور بافتی در سلول های چربی می شود. یافته مهم دیگر این است که TGF-β سبب ازدیاد فشارخون به واسطه افزایش سطوح مدیاتورهای وازواکتیو و با تغییر ساختار دیواره عروق باعث افزایش مقاومت عروق محیطی می شود. هم‌چنین، TGF-β 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-β، هم‌چنین سبب تحریک آزاد شدن رنین از سلول های گلومرول و افزایش فشارخون به واسطه تولید آنژیوتانسین ۲ می شود. این مطالعات شواهد مستقیمی را برای نقش TGF-β در پیشرفت عوارض عروقی در بیماری های مرتبط با سندرم متابولیک مانند دیابت بارداری ارائه می دهد. درک مکانیسم‌های 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 بیماری‌های 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. هم‌چنین دریافت سلنیوم ممکن است التهاب را از طریق مهار NF-κB 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 چشم‌گیری افزایش می یابد و به طور قابل ملاحظه در دیابت بارداری نسبت به بارداری طبیعی بالاتر می باشد. سطوح MFG-E8 به طور قابل توجه مرتبط با افزایش سطوح TNF-α، قند خون ناشتا و مقاومت به انسولین می باشد (۱۹). به علاوه، نشان داده شده است که در میان سیتوکین های پیش التهابی، TNF-α 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 می‌شود. در مطالعه دیگری توسط کریستین و همکاران(۲۰) سیتوکین های پیش التهابی IL-6، IL-8، TNF-α و IL-1β در ۵۷ زن با شاخص توده بدنی نرمال، دارای اضافه وزن و چاقی، در ۳ ماهه اول، دوم و سوم بارداری و هم‌چنین۴ تا ۶ هفته بعد از زایمان سنجیده شدند. در زنان باردار سالم، سطوح IL-6 و TNF-α در هر ویزیت و بعد از زایمان افزایش داشت، در حالی که IL-8 و IL-1β 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-α در مقایسه با IL-1β 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 دیابات 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

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 نمی کند (۲۳). سطوح کاهش یافته VEGF ممکن است منجر به افزایش عبور سیتوکین های آپوپتوتیک و پیش التهابی شود (۲۳). VEGF، یک فاکتور حیاتی جهت رشد سلول‌های آندوتلیال عروقی و افزایش تعداد عروق و مویرگ ها است که به نوبه خود سبب تامین مواد مغذی جنین از طریق مکانیسم فیدبکی کلاسیک می شود. تعدادی از مطالعات نشان داده اند 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 می تواند در معاینات بافت شناسی 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 قابل ملاحظه بیان ژن TNF-α و TGF-β و افزایش قابل توجه VEGF در لنفوسیت ها شد، ولی نتوانست بر بیان ژنIL-1β و IL-8تاثیری 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.

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

منابع

1. Mishra S, Rao CR, Shetty A. Trends in the Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus. Scientifica (Cairo). 2016;2016:5489015.
2. Durnwald C. Gestational diabetes: Linking epidemiology, excessive gestational weight gain, adverse pregnancy outcomes, and future metabolic syndrome. Semin Perinatol. 2015;39:254-8.
3. Jafari-Shobeiri M, Ghojazadeh 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.
4. Fasshauer M, Bluher M, Stumvoll M. Adipokines in gestational diabetes. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2:488-99.
5. 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.
6. Asemi Z, Jamilian M, Mesdaghinia E, Esmaillzadeh 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.
7. 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.
8. 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.
9. Bi CL, Wang H, Wang YJ, Sun J, Dong JS, Meng X, et al. Selenium inhibits Staphylococcus aureus-induced inflammation by suppressing the

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.