

## The Effect of Vitamin D Supplements on Antioxidant Parameters of Serum and Saliva in Diabetic Rats

A. Tahmasbnezhad (DDS)<sup>1</sup> , F. Asgharpour (PhD)<sup>2</sup> , S. Kazemi (PhD)<sup>2</sup> , H. Gholinia (MSc)<sup>3</sup> ,  
M. Motalebnezhad (DDS, MS)<sup>\*4</sup> 

1. Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

2. Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

3. Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

4. Oral Health Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

\*Corresponding Author: M. Motalebnezhad (DDS, MS)

Address: Oral Health Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

Tel: +98 (11) 32190072. E-mail: mmotalebnezhad@yahoo.com

### Article Type ABSTRACT

#### Research Paper

**Background and Objective:** Vitamin D deficiency plays an important role in the process of diabetes and it may cause the appearance and exacerbation of symptoms by destroying and inducing different pathways. Vitamin D also has antioxidant properties and inhibits the production of free radicals. Therefore, this study was conducted to determine the role of vitamin D supplements on antioxidant parameters of serum and saliva and to compare them in diabetic rats.

**Methods:** This experimental study was conducted on 28 male Wistar rats that were randomly divided into 4 groups (C group: healthy, CV group: healthy with vitamin D, DC group: diabetic without vitamin D, and DV group: diabetic with vitamin D). Streptozocin (65 mg/kg) was used intraperitoneally to make the rats diabetic. After 10 weeks, saliva (stimulated with pilocarpine) and blood from the eye vein were sampled. The antioxidant level was evaluated by measuring the serum and salivary levels of antioxidant factors (CAT, TAC, SOD, MDA).

**Findings:** Vitamin D injection had a significant effect on salivary SOD level ( $6.44 \pm 1.02$  U/ml) and serum TAC level ( $25862.22 \pm 4382.06$   $\mu$ mol/l) ( $p < 0.05$ ). In addition, diabetes decreased the salivary level of CAT and TAC ( $p < 0.001$ ). The findings did not show a significant difference in the serum and salivary levels of MDA. Moreover, vitamin D decreased fasting blood sugar in diabetic rats ( $211.14 \pm 18.9$ ) ( $p < 0.05$ ) and the rats that received vitamin D gained less weight at the end of the study ( $71.67 \pm 13.13$  gr).

**Conclusion:** The results of the study showed that oral intake of vitamin D supplement, along with its reducing effect on blood sugar, can reduce the oxidative stress caused by diabetes in serum and saliva levels.

**Keywords:** Vitamin D, Serum, Saliva, Diabetes.

Received:

Aug 15<sup>th</sup> 2023

Revised:

Nov 22<sup>nd</sup> 2023

Accepted:

Dec 11<sup>st</sup> 2023

**Cite this article:** Tahmasbnezhad A, Asgharpour F, Kazemi S, Gholinia H, Motalebnezhad M. The Effect of Vitamin D Supplements on Antioxidant Parameters of Serum and Saliva in Diabetic Rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2024; 26: e61.

## تأثیر مکمل ویتامین D بر پارامترهای آنتی اکسیدانی سرم و بزاق موش‌های دیابتیک

عطیه طهماسب نژاد<sup>۱</sup>(DDS)، فریبا اصغرپور<sup>۲</sup>(PhD)، سهراب کاظمی<sup>۲</sup>(PhD)، همت قلی نیا<sup>۳</sup>(MSc)،  
مینا مطلب نژاد<sup>۴</sup>(DDS, MS)\*

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳. پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۴. مرکز تحقیقات سلامت بهداشت و دهان، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

### نوع مقاله

### چکیده

#### مقاله پژوهشی

**سابقه و هدف:** کمبود ویتامین D نقش مهمی در روند بیماری دیابت دارد و ممکن است با تخریب و القای مسیرهای مختلف باعث بروز و تشدید علائم شود. ویتامین D همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی دارد و تولید رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند. لذا این مطالعه به منظور تعیین نقش مکمل ویتامین D بر سطح سرمی و بزاقی فاکتورهای آنتی اکسیدانی و مقایسه بین آن‌ها در موش‌های دیابتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار که به طور تصادفی به ۴ گروه (گروه C: سالم، گروه CV: سالم همراه با ویتامین D، گروه DC: دیابتی بدون ویتامین D و گروه DV: دیابتی با ویتامین D) تقسیم شدند، انجام گردید. برای دیابتی کردن موش‌ها از استرپتوزوسین (۶۵ mg/kg) به صورت داخل صفاقی استفاده شد. بعد از ۱۰ هفته، نمونه گیری از بزاق (تحریکی با پیلوکارپین) و خون از ورید چشم انجام گرفت. بررسی سطح آنتی اکسیدانی با اندازه گیری سطح سرمی و بزاقی فاکتورهای آنتی اکسیدان (TAC، CAT، MDA، SOD) انجام گردید.

**یافته‌ها:** تزریق ویتامین D تأثیر معنی‌داری بر سطح بزاقی SOD ( $6/44 \pm 1/02$  U/ml) و سطح سرمی TAC ( $\mu\text{mol/l}$ ) داشت ( $p < 0/05$ ). به علاوه دیابت باعث کاهش سطح بزاقی CAT و TAC شد ( $p < 0/001$ ). یافته‌ها تفاوت معنی‌داری را در سطوح سرمی و بزاقی MDA نشان نداد. همچنین ویتامین D باعث کاهش قند خون ناشتا در موش‌های دیابتی شد ( $p < 0/05$ ) و موش‌هایی که ویتامین D مصرف کردند، در انتهای مطالعه وزن کمتری گرفتند ( $71/67 \pm 13/13$  gr).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این مطالعه نشان داد که مصرف خوراکی مکمل ویتامین D، در کنار اثر کاهشی آن بر قند خون، می‌تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت در سطح سرمی و بزاقی شود.

**واژه‌های کلیدی:** ویتامین D، سرم، بزاق، دیابت.

دریافت:

۱۴۰۲/۵/۲۴

اصلاح:

۱۴۰۲/۹/۱

پذیرش:

۱۴۰۲/۹/۲۰

**استناد:** عطیه طهماسب نژاد، فریبا اصغرپور، سهراب کاظمی، همت قلی نیا، مینا مطلب نژاد. تأثیر مکمل ویتامین D بر پارامترهای آنتی اکسیدانی سرم و بزاق موش‌های دیابتیک. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۳؛ ۲۶: ۲۶-۳۱.

## مقدمه

کمبود ویتامین D می‌تواند یک عامل مهم در ابتلا به دیابت نوع دو (T2DM) باشد زیرا بر مسیرهای مختلف درگیر در دیابت و عوارض آن تأثیر می‌گذارد (۱). این مسیرها شامل اختلال ترشح انسولین لوزالمعده، مقاومت به انسولین، کاهش بیان ژن گیرنده انسولین، التهاب استریل و اختلالات ایمنی است (۲). دیابت نوع دو باعث هیپرانسولینمی، هیپرگلیسمی و آزادسازی رادیکال‌های آزاد شده و منجر به کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی می‌گردد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ویتامین D سیستم‌های آنتی اکسیدانی را تقویت می‌کند و می‌تواند یک گزینه برای درمان دیابت نوع دو باشد و به بهبود کنترل قند خون، جلوگیری از عود و عوارض دیابت کمک می‌کند (۳).

در بیماری‌های پرپروتئال، افزایش سطح نشانگرهای اکسیداتیو در بزاق، سرم و مایع شیار لثه به خوبی شناخته شده است. این نشان دهنده تخریب بافت‌های نگهدارنده دندان و مخاط است. علاوه بر این، آسیب اکسیداتیو در بافت پرپروتئال ملتهب منجر به تکثیر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌شود. در نتیجه، بیماری‌های متابولیک که باعث تخریب بافت پرپروتئال می‌شوند، می‌توانند سطوح سرمی و بزاق عوامل استرس اکسیداتیو را افزایش دهند (۴). یک مطالعه نشان داد که تجویز سه ماهه ویتامین D به طور قابل توجهی سطح HbA1C را بهبود بخشیده و نشانگرهای اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۵). Rahsepar و همکاران نشان دادند که زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک غلظت ویتامین D کمتری نسبت به گروه کنترل داشتند. در این گروه همچنین سطوح انسولین ناشتا، HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance) و مالون دی آلدئید (MDA) بالاتر بود (۶). اما در مطالعه Cojic و همکاران بر روی بیماران T2DM، تأثیر مصرف ویتامین D بر شاخص HOMA-IR، سطوح مالون دی آلدئید و شاخص TG/TBARS از نظر آماری معنی‌دار نبود (۵). در مطالعه دیگر، بیماران مبتلا به پرپروتئیت و دیابت در مقایسه با گروه‌های بدون هر دو بیماری یا تنها با یکی از آن‌ها، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل کمتری در بزاق خود نشان دادند (۷).

Gümüş و همکاران با مطالعه بر روی بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ (T1DM)، T2DM و بیماران سالم از نظر سیستمی، که همگی مبتلا به بیماری التهابی پرپروتئال بودند، نشان داد که تفاوت معنی‌داری در غلظت آنتی اکسیدان بزاقی بین بیماران T1DM و T2DM و گروه کنترل وجود نداشت و در هر گروه دیابتی، کاهش غلظت گلوکاتینون بزاقی با عمق پروب همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نیز با سرعت جریان بزاق همبستگی داشت (۸). همچنین در یک مطالعه کارآزمایی دوسوکور، مکمل ویتامین D به مدت ۳ ماه اثرات مفیدی بر بیومارکرها و وضعیت استرس اکسیداتیو نشان نداد (۹). اگرچه مطالعه دیگری بر روی ۱۷۸ بیمار T2DM نشان داد که ویتامین D می‌تواند با تنظیم تولید گلوکاتینون، استرس اکسیداتیو و التهاب را کاهش دهد (۱۰). علی رغم اطلاعات موجود از مطالعات انجام شده در مورد تزریق ویتامین D، نتایج هنوز نیاز به شفاف سازی دارند (۱۱). برخی از مطالعات اثر قابل توجهی بر کاهش قند خون ناشتا نشان داده‌اند، در حالی که برخی مطالعات کاهش هموگلوبین گلیکوزیله و برخی دیگر نیز تأثیر خاصی را گزارش نکرده‌اند (۱۲).

با توجه به محدودیت مطالعات انجام شده روی نقش ویتامین D روی سطح بزاقی و سرمی مارکرهای استرس اکسیداتیو، این مطالعه با هدف بررسی نقش تزریق ویتامین D روی سطح سرمی و بزاقی مارکرهای استرس اکسیداتیو و مقایسه افزایش یا کاهش در این دو سطح بر روی موش‌های صحرایی انجام گردید.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بابل با کد IR.MUBABOL.HRI.REC.1400.091 و رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۶ تا ۷ هفته با وزن  $220 \pm 20$  گرم انجام شد (۱۳). پس از انتخاب تصادفی، موش‌ها به چهار گروه هفت تایی شامل یک گروه موش‌های سالم بدون درمان ویتامین D (گروه کنترل C)، گروه موش‌های سالم تحت درمان با  $1000 \text{ U/rat/w}$  ویتامین D (Dana, IRAN) (گروه CV)، گروه موش‌های دیابتی بدون درمان ویتامین D (گروه DC) و گروه موش‌های دیابتی تحت درمان با  $1000 \text{ U/rat/w}$  ویتامین D (Dana, IRAN) (گروه DV) تقسیم شدند و در حیوان خانه با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد، رطوبت ۵۵٪ و چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به رژیم غذایی و آب نگهداری شدند (۱۳).

پس از ۱۶ ساعت ناشتا بودن، به دو گروه از موش‌ها به طور تصادفی یک دوز استرپتوزوسین (Sigma-Aldrich Co. St Louis, MO, USA) ( $65 \text{ mg/kg STZ}$ ) به صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد. به دو گروه دیگر یک میلی لیتر دارونما (نرمال سالین ۰/۹٪) به صورت تک دوز و IP تزریق شد. طی ۷۲ ساعت بعد، دیابتی شدن یا نشدن موش‌ها اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که قند خون (BS) بالاتر از ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر داشتند، دیابتی در نظر گرفته شدند (۱۴). در طول مدت مطالعه (۱۰ هفته)، ویتامین D به صورت قطره خوراکی با غلظت ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی هر هفته (در دو نوبت ۵۰۰ واحد

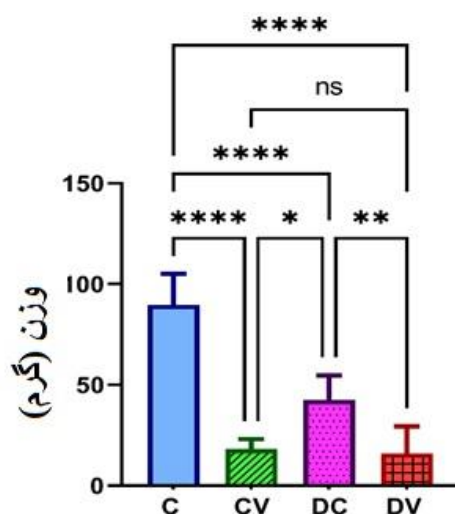
بین‌المللی در موش) به هر موش از گروه‌های CV و DV داده شد و به گروه‌های C و DC آب داده شد. در روز آخر، وزن و BS موش‌های صحرایی ناشتا (بدون آب و غذا در طول شب) اندازه‌گیری شد.

برای تهیه بزاق و سرم، به موش‌های هر گروه به صورت زیر جلدی ۵ mg/kg پیلوکارپین تزریق شد و بزاق توسط میکروپیپت جمع‌آوری شد. در همان روز نمونه‌های خون از طریق چشم موش‌ها (به میزان ۵ سی‌سی) در تیوب‌های شیشه‌ای حاوی هیپارین جمع‌آوری شده و سنجش بیوشیمیایی پارامترهای اکسیداتیو در نمونه‌های بزاق و سرم، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC)، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و مالون دی آلدئید (MDA) با استفاده از کیت تجاری موجود (تب پژوهان رازی، ایران) طبق دستورالعمل سازنده اندازه‌گیری شد (۱۵ و ۱۶).

جهت تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده از بررسی‌های بافت شناسی از نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ و روش آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و آزمون مقایسه چند گانه توکی (Tukey) استفاده گردید و  $p \leq 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

نتایج اندازه‌گیری وزن موش‌ها تفاوت معنی‌داری را بین همه گروه‌ها به جز گروه‌های CV و DV نشان داد (شکل ۱). گروه C بیشترین افزایش وزن و DV کمترین وزن را داشتند. در مقایسه BS موش‌ها قبل و بعد از مداخله با ویتامین D، تنها در گروه دیابتی دریافت کننده مکمل ویتامین D، BS به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ) (جدول ۱).



شکل ۱. مقایسه بین گروهی افزایش وزن موش C (شاهد)، CV (کنترل+ویتامین D)، DC (دیابتی) و DV (دیابتی+ویتامین D).  
ns: غیر معنی‌دار،  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$ ، \*\*\*\*

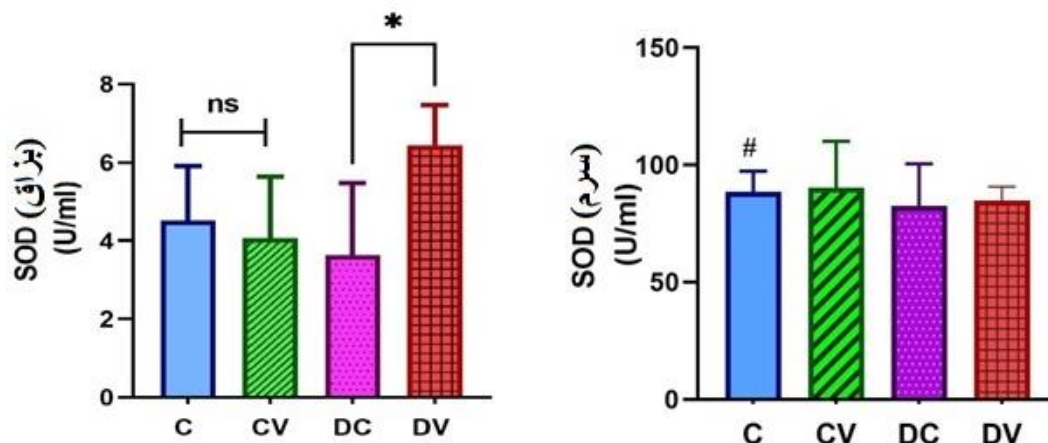
جدول ۱. مقایسه افزایش وزن موش‌ها پس از مداخله ویتامین D و مقایسه BS قبل و بعد از مداخله با ویتامین D

| گروه | تعداد | موش‌ها (Mean±SD) |             | p-value* | وزن موش‌ها  | p-value* |
|------|-------|------------------|-------------|----------|-------------|----------|
|      |       | قبل              | بعد         |          | Mean±SD     |          |
| C    | ۷     | ۱۰۷/۵۸±۷         | ۱۰۸/۷۱±۸/۴  | ۰/۸      | ۸۴/۲۰±۵۸    | -        |
| CV   | ۷     | ۱۱۴/۵۷±۷/۸       | ۱۱۳/۵۷±۵    | ۰/۶      | ۷۱/۸۵±۱۵/۷  | <۰/۰۰۱   |
| DC   | ۶     | ۲۷۱/۳۳±۱۳/۴      | ۲۱۱/۴۲±۱۰   | ۰/۳      | ۴۲/۱۲±۵۰/۲  | -        |
| DV   | ۷     | ۳۱۱/۴۲±۸۴/۷      | ۲۱۱/۱۴±۱۸/۹ | ۰/۰۱*    | ۷۱/۶۷±۱۳/۱۳ | -        |

\*آزمون پارامتری Paired t-test

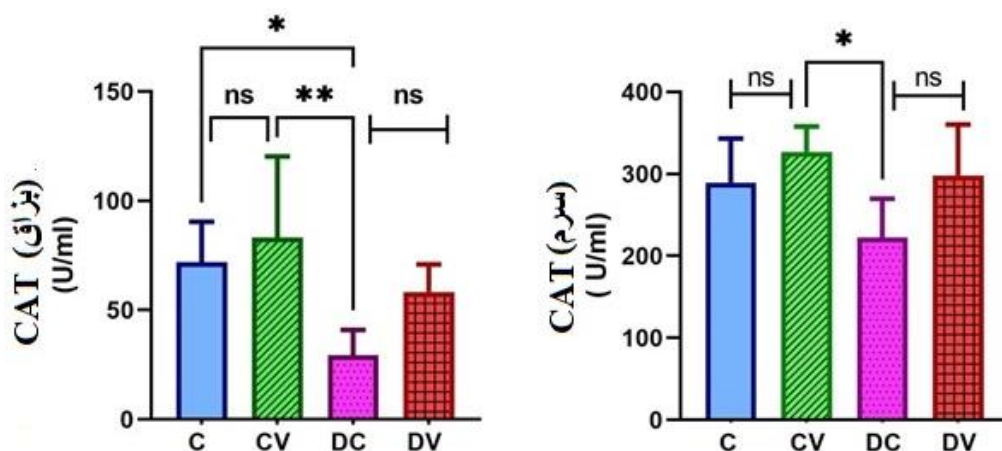
در مقایسه بین گروهی در سطح بزاق و سرمی آنزیم MDA، تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). اندازه گیری آنزیم SOD نیز نشان داد که تفاوت معنی داری در سطح SOD بزاق بین گروه های DV و DC وجود داشت ( $p < 0.05$ ) ولی تفاوت معنی داری در سطح سرمی این فاکتور در گروه ها مشاهده نشد (شکل ۲).

| جدول ۲. مقایسه بین گروهی MDA، SOD، CAT و TAC در چهار گروه |                  |         |             |               |  |
|-----------------------------------------------------------|------------------|---------|-------------|---------------|--|
| سرم                                                       |                  | بزاق    |             | فاکتور و گروه |  |
| p-value                                                   | Mean±SD          | p-value | Mean±SD     |               |  |
| (nmol/ml) MDA                                             |                  |         |             |               |  |
| ۰/۰۶۱                                                     | ۰/۹۴±۰/۰۴        | ۰/۳۹۳   | ۰/۲۵±۰/۰    | C             |  |
|                                                           | ۱/۰۶±۰/۰۲        |         | ۰/۲۵±۰/۰    | CV            |  |
|                                                           | ۱/۳۱±۰/۰۹        |         | ۰/۲۵±۰/۰    | DC            |  |
|                                                           | ۱/۲۳±۰/۳۹        |         | ۰/۲۶±۰/۰۲   | DV            |  |
| (U/ml) SOD                                                |                  |         |             |               |  |
| ۰/۹۸۶                                                     | ۸۳/۱۴±۷۱/۸۷      | ۰/۰۴۱   | ۴/۵۱±۱/۳۹   | C             |  |
|                                                           | ۸۵/۲۱±۷۱/۵۹      |         | ۴/۰۶±۱/۵۷   | CV            |  |
|                                                           | ۸۲/۱۷±۵۲/۹۳      |         | ۳/۶۳±۱/۸۴   | DC            |  |
|                                                           | ۸۳/۸۰±۲۳/۷۷      |         | ۶/۴۴±۱/۰۲   | DV            |  |
| (U/ml) CAT                                                |                  |         |             |               |  |
| ۰/۰۲۷                                                     | ۲۸۹/۴۸±۴۸/۰۱     | ۰/۰۱۳   | ۷۱/۸۹±۱۸/۵۳ | C             |  |
|                                                           | ۳۲۶/۸۷±۲۷/۵۶     |         | ۸۳/۲۱±۳۷/۰۶ | CV            |  |
|                                                           | ۲۲۲/۲۹±۴۲/۴۹     |         | ۲۹/۴۷±۱۱/۵۱ | DC            |  |
|                                                           | ۲۹۸/۲۶±۵۵/۴۱     |         | ۵۸/۳۰±۱۲/۵۹ | DV            |  |
| (μmol/L) TAC                                              |                  |         |             |               |  |
| ۰/۰۱۱                                                     | ۲۰۰۷۳/۳۴±۷۶۴۲/۳۴ | ۰/۰۰۲   | ۹۵۷۷±۳۵۱/۷۵ | C             |  |
|                                                           | ۲۴۵۸۴/۴۴±۶۳۸۱/۳۳ |         | ۹۰۵۵±۵۷۱/۳۴ | CV            |  |
|                                                           | ۱۷۸۱۱۷/۷۸±۴۲۰۹/۵ |         | ۸۰۱۲±۶۹۴/۲۱ | DC            |  |
|                                                           | ۲۵۸۶۲/۲۲±۴۳۸۲/۰۶ |         | ۸۷۵۷±۴۶۰/۰۸ | DV            |  |

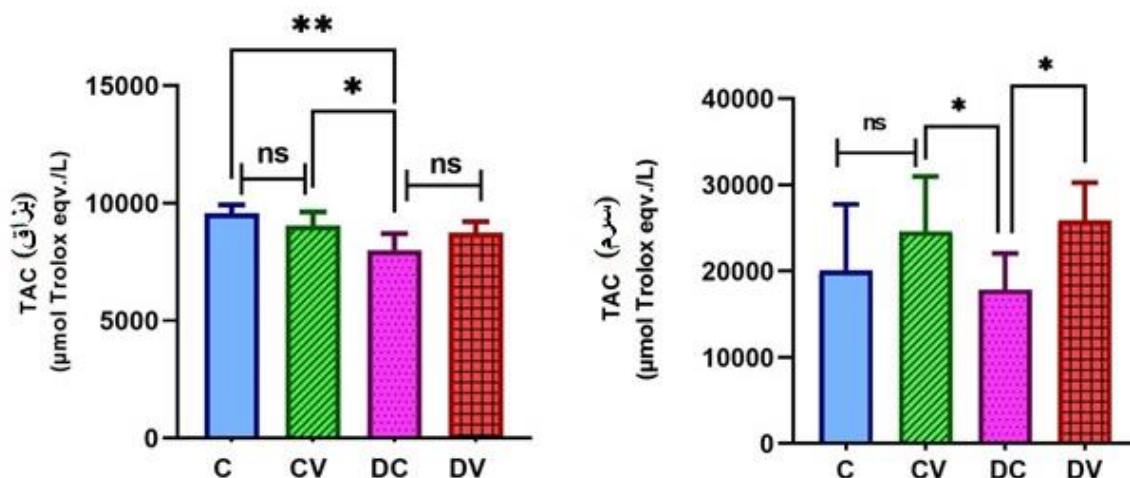


شکل ۲. مقایسه بین گروهی سطح SOD بزاق و سرم در چهار گروه C (کنترل)، CV (کنترل+ویتامین D)، DC (دیابتی) و DV (دیابتی+ویتامین D).  $p < 0.05$ ، \*؛ ns: غیر معنی دار، #: بین گروه ها و کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت.

در سطح بزاق و سرمی آنزیم کاتالاز در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. سطح بزاق کاتالاز در گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر از گروه دیابتی بدون درمان ویتامین بود ( $p < 0.001$ )، در حالی که در سطح سرمی در گروه CV به طور قابل توجهی بالاتر از گروه DC بود ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳). همچنین مکمل ویتامین D هیچ تاثیری بر TAC بزاق نداشت و سطوح TAC بزاقی در گروه‌های دیابتی (گروه‌های DC و DV) کمتر از موش‌های غیر دیابتی (گروه‌های C و CV) بود. اما سطح سرمی TAC در هر دو گروه CV و DV به طور معنی‌داری بیشتر از گروه DC بود (شکل ۴).



شکل ۳. مقایسه بین گروهی سطوح CAT بزاق و سرم در چهار گروه C (کنترل)، CV (کنترل+ویتامین D)، DC (دیابتی) و DV (دیابتی+ویتامین D).  $p < 0.05$ ،  $p < 0.001$ ، ns: غیر معنی‌دار



شکل ۴. مقایسه بین گروهی سطح TAC بزاق و سرم در چهار گروه C (کنترل)، CV (کنترل+ویتامین D)، DC (دیابتی) و DV (دیابتی+ویتامین D).  $p < 0.05$ ،  $p < 0.001$ ، ns: غیر معنی‌دار

## بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، در حالی که دیابت باعث کاهش سطح سرمی TAC (گروه DC) شد، مکمل ویتامین D وضعیت TAC را در سرم موش‌های دیابتی (گروه DV) بهبود بخشید. در یک مطالعه مشابه در موش‌های دیابتی، کاهش قابل توجهی در سطح TAC سرم نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و گروه‌های درمان شده با زنجبیل، دارچین یا ترکیبی از آن‌ها توانست به طور قابل توجهی TAC را در موش‌های دیابتی افزایش دهد (۱۷). در مطالعه Adelani و

همکاران بر روی موش‌های سالم، کمبود ویتامین D در رژیم غذایی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان شد، در حالی که گروه مکمل با ویتامین D اثرات کاهش استرس اکسیداتیو را به دلیل کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در کبد موش نشان داد (۱۸). گزارش‌ها نشان می‌دهد که افزایش تولید ROS یا کاهش ظرفیت مهار ROS به پاتوژن عوارض دیابت کمک می‌کند (۱۹ و ۲۰). در این مطالعه، مکمل ویتامین D هیچ تاثیری بر TAC بزاق نداشت و سطوح TAC بزاقی در گروه‌های دیابتی (گروه‌های DC و DV) کمتر از موش‌های غیر دیابتی (گروه‌های C و CV) بود. داده‌ها در مورد ظرفیت کل آنتی اکسیدانی بزاق متناقض هستند. در یک مطالعه ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در نمونه‌های بزاق در زنان در مقایسه با مردان کمتر بود (۲۱). در حالی که برخی از مطالعات انسانی هیچ تغییری در سطح TAC سرم و بزاق در افراد دیابتی گزارش نکردند (۲۲). این اختلافات را می‌توان به عدم کنترل عوامل مخدوش کننده موثر بر استرس اکسیداتیو در مطالعات انسانی در مقایسه با مطالعات حیوانی و روش‌های مختلف تست TAC نسبت داد (۲۳).

در این مطالعه مشابه نتایج مطالعه Adelani و همکاران، تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی فاکتور SOD در گروه‌ها مشاهده نشد (۱۸). با این حال، این نتایج در تضاد با گزارش سطح سرمی SOD در مطالعه Wei و همکاران بود (۲۴). این ناهمبستگی در سطوح SOD در سایر مطالعات با تمرکز بر بیماران دیابتی نیز مشاهده شده است. به عنوان مثال، Motawi و همکاران مطالعه‌ای را بر روی هفتاد بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام دادند، یافته‌های آن‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در فعالیت SOD بین بیماران دیابتی و افراد سالم وجود ندارد (۲۵). در مطالعات دیگر از افزایش فعالیت SOD (۲۶)، کاهش فعالیت (۲۵) یا حتی میزان برابری از فعالیت SOD در بیماران دیابتی در مقایسه با گروه‌های کنترل (۲۷) گزارش شده است. این تغییرات ممکن است به دلیل تفاوت در مراحل اولیه دیابت یا در بین بیمارانی که برای مدت طولانی دیابت داشته‌اند و تحت درمان طولانی مدت هیپوگلیسمی هستند، ایجاد شود (۲۵). مطالعات بسیار کمی تغییرات فعالیت SOD را در بزاق موش‌های دیابتی بررسی کرده‌اند (۲۸)، ولی یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که اگرچه ویتامین D در موش سالم، که تحت استرس اکسیداتیو نیست، تغییری در SOD بزاقی ایجاد نکرد ولی در مقابل استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت می‌تواند سطح SOD بزاق را در موش‌های دیابتی بالا برد.

یکی دیگر از فاکتورهای آنتی اکسیدانی مهم، کاتالاز (CAT) است که دارای یکی از بالاترین فعالیت‌های آنزیمی در بین تمام آنزیم‌هاست. در این مطالعه مشابه مطالعه Wenclewska و همکاران (۲۹) سطوح CAT بزاقی در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش‌های سالم کاهش یافت اما مصرف ویتامین D تاثیری بر سطح سرمی و بزاق آنزیم کاتالاز نداشت. با این حال، مطالعات قبلی که این پارامتر را در سطح بافت بررسی کردند، اثرات مثبت مصرف ویتامین D را گزارش کردند (۳۰ و ۳۱). آنزیم MDA یکی از فاکتورهای استرس اکسیداتیو می‌باشد که در پاسخ به تخریب بافتی و آسیب‌های اکسیداتیو متابولیک که از عوارض مزمن دیابت می‌باشد، تولید می‌شود (۳۱ و ۳۲). چندین مطالعه نشان داده‌اند که ویتامین D سطوح MDA را هنگام بررسی نمونه‌های بافتی کاهش می‌دهد (۳۱ و ۳۳). با این حال، در مطالعه ما، تفاوتی در سطح سرمی MDA و بزاق بین موش‌های دیابتی و سالم مشاهده نشد. که نشان می‌دهد غلظت و طول مدت هاپیرگلیسمی در موش‌های مورد مطالعه تخریب بافتی یا نکرور گسترده به حدی که در MDA سرم و بزاق تاثیر بگذارد، ایجاد نکرد. در مطالعه حاضر تجویز ویتامین D باعث وزن گیری کمتری در گروه‌های دیابتی و سالم شد. احتمال می‌رود گاوژ ویتامین D باعث کم اشتها یا شاید جذب غذایی کمتر در موش‌های مورد مداخله شده است (۳۴). پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، طراحی گروه‌های تحت مداخله، با غلظت‌های متفاوت ویتامین D انجام شود، حد FBS دیابتی به بالاتر از مطالعه حاضر برده شود و این مقدار در طول مدت مداخله کنترل شود. به علاوه طول مدت دیابتی بودن پیش از مداخله ویتامین D افزایش پیدا کند.

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، نتایج مصرف ویتامین D را می‌توان هم در سرم و هم در بزاق مشاهده کرد. به طور کل مصرف ویتامین D، در کنار اثر کاهشی آن بر قند خون، می‌تواند تاثیر مثبتی بر افزایش پارامترهای ضد استرس اکسیداتیو مثل SOD و یا بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی مانند آنزیم TAC در سرم و بزاق بگذارد.

**تضاد منافع:** نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی وجود ندارد.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل به جهت حمایت از تحقیق، همچنین از زحمات همکاران مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آقای مصطفی شیخ زاده و سایر همکارانی که در انجام این مطالعه ما را یاری کرده‌اند، قدردانی می‌گردد.

## References

- 1.Dhas Y, Banerjee J, Damle G, Mishra N. Association of vitamin D deficiency with insulin resistance in middle-aged type 2 diabetics. *Clin Chim Acta*. 2019;492:95-101.
- 2.Saif-Elnasr M, Ibrahim IM, Alkady MM. Role of Vitamin D on glycemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *J Res Med Sci*. 2017;22:22.
- 3.Amrein K, Scherkl M, Hoffmann M, Neuwersch-Sommeregger S, Köstenberger M, Tmava Berisha A, et al. Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide. *Eur J Clin Nutr*. 2020;74(11):1498-513.
- 4.Torres-Sánchez ED, Salazar-Flores J, Gómez-Sandoval JR, Lomeli-Martinez SM. Membrane Fluidity and Oxidative Stress in Patients with Periodontitis. *Appl Sci*. 2023;13(7):4546.
- 5.Cojic M, Kocic R, Klisic A, Kocic G. The Effects of Vitamin D Supplementation on Metabolic and Oxidative Stress Markers in Patients With Type 2 Diabetes: A 6-Month Follow Up Randomized Controlled Study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:610893.
- 6.Rahsepar M, Mahjoub S, Esmaelzadeh S, Kanafchian M, Ghasemi M. Evaluation of vitamin D status and its correlation with oxidative stress markers in women with polycystic ovary syndrome. *Int J Reprod Biomed*. 2017;15(6):345-50.
- 7.Pendyala G, Thomas B, Joshi S. Periodontitis, diabetes mellitus, and the lopsided redox balance: A unifying axis. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(3):338-44.
- 8.Gümüş P, Buduneli N, Cetinkalp S, Hawkins SI, Renaud D, Kinane DF, et al. Salivary antioxidants in patients with type 1 or 2 diabetes and inflammatory periodontal disease: a case-control study. *J Periodontol*. 2009;80(9):1440-6.
- 9.Mohammadzadeh Honarvar N, Samadi M, Seyedi Chimeh M, Gholami F, Bahrampour N, Jalali M, et al. Effect of Vitamin D on Paraxonase-1, Total Antioxidant Capacity, and 8-Isoprostan in Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Int J Clin Pract*. 2022;2022:4836731.
- 10.Gu JC, Wu YG, Huang WG, Fan XJ, Chen XH, Zhou B, et al. Effect of vitamin D on oxidative stress and serum inflammatory factors in the patients with type 2 diabetes. *J Clin Lab Anal*. 2022;36(5):e24430.
- 11.Khodadadiyan A, Rahmanian M, Shekouh D, Golmohammadi M, Ghaedi A, Bazrgar A, et al. Evaluating the effect of vitamin D supplementation on serum levels of 25-hydroxy vitamin D, 1,25-dihydroxy vitamin D, parathyroid hormone and renin-angiotensin-aldosterone system: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *BMC Nutr*. 2023;9(1):132.
- 12.He S, Yu S, Zhou Z, Wang C, Wu Y, Li W. Effect of vitamin D supplementation on fasting plasma glucose, insulin resistance and prevention of type 2 diabetes mellitus in non-diabetics: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep*. 2018;8(5):475-84.
- 13.Alatawi FS, Faridi UA, Alatawi MS. Effect of treatment with vitamin D plus calcium on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi Pharm J*. 2018;26(8):1208-13.
- 14.Tavakoli M, Moghadamnia AA, Pourabdolhossein F, Asghari MH, Kazemi S. Protective Effect of Melatonin on Nonylphenol-Induced Reproductive and Behavioral Disorders in First-Generation Adult Male Rats. *Behav Neurol*. 2022;2022:1877761.
- 15.Farman AA, Hadwan MH. Simple kinetic method for assessing catalase activity in biological samples. *MethodsX*. 2021;8:101434.

- 16.Veljovic T, Djuric M, Mirnic J, Gusic I, Maletin A, Ramic B, et al. Lipid Peroxidation Levels in Saliva and Plasma of Patients Suffering from Periodontitis. *J Clin Med*. 2022;11(13):3617.
- 17.Barghi M, Sadeghipoor Ranjbar A, Moazen H, Eskandari-Roozbahani N. Serum levels of vitamin D, calcium, phosphorus, and oxidative parameters in healthy and diabetic people. *Func Food Health Dis*. 2021;11(5):238-45.
- 18.Adelani IB, Ogadi EO, Onuzulu C, Rotimi OA, Maduagwu EN, Rotimi SO. Dietary vitamin D ameliorates hepatic oxidative stress and inflammatory effects of diethylnitrosamine in rats. *Heliyon*. 2020;6(9):e04842.
- 19.Bhat M, Ismail A. Vitamin D treatment protects against and reverses oxidative stress induced muscle proteolysis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015;152:171-9.
- 20.Kaludercic N, Di Lisa F. Mitochondrial ROS Formation in the Pathogenesis of Diabetic Cardiomyopathy. *Front Cardiovasc Med*. 2020;7:12.
- 21.Kota SK, Jammula S, Kota SK, Tripathy PR, Panda S, Modi KD. Effect of vitamin D supplementation in type 2 diabetes patients with pulmonary tuberculosis. *Diabetes Metab Syndr*. 2011;5(2):85-9.
- 22.Nikooyeh B, Neyestani TR, Farvid M, Alavi-Majd H, Houshiarrad A, Kalayi A, et al. Daily consumption of vitamin D- or vitamin D + calcium-fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(4):764-71.
- 23.Agarwal A, Qiu E, Sharma R. Laboratory assessment of oxidative stress in semen. *Arab J Urol*. 2018;16(1):77-86.
- 24.Wei Q, Ren X, Jiang Y, Jin H, Liu N, Li J. Advanced glycation end products accelerate rat vascular calcification through RAGE/oxidative stress. *BMC Cardiovasc Disord*. 2013;13:13.
- 25.Motawi TM, Abou-Seif MA, Bader AM, Mahmoud MO. Effect of glycemic control on soluble RAGE and oxidative stress in type 2 diabetic patients. *BMC Endocr Disord*. 2013;13:32.
- 26.Tavares AM, Silva JH, Bensusan CO, Ferreira ACF, Matos LPL, E Souza KLA, et al. Altered superoxide dismutase-1 activity and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2019;14(5):e0216256.
- 27.Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;53(1):33-9.
- 28.Jamal Gilani S, Nasser Bin-Jumah M, Al-Abbasi FA, Shahid Nadeem M, Afzal M, Sayyed N, et al. Fustin ameliorates hyperglycemia in streptozotocin induced type-2 diabetes via modulating glutathione/Superoxide dismutase/Catalase expressions, suppress lipid peroxidation and regulates histopathological changes. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28(12):6963-71.
- 29.Wenclewska S, Szymczak-Pajor I, Drzewoski J, Bunk M, Śliwińska A. Vitamin D Supplementation Reduces Both Oxidative DNA Damage and Insulin Resistance in the Elderly with Metabolic Disorders. *Int J Mol Sci*. 2019;20(12):2891.
- 30.Mansouri F, Ghanbari H, Marefati N, Arab Z, Salmani H, Beheshti F, et al. Protective effects of vitamin D on learning and memory deficit induced by scopolamine in male rats: the roles of brain-derived neurotrophic factor and oxidative stress. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2021;394(7):1451-66.
- 31.Fathi FE, Sadek KM, Khafaga AF, Al Senosy AW, Ghoniem HA, Fayed S, et al. Vitamin D regulates insulin and ameliorates apoptosis and oxidative stress in pancreatic tissues of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022;29(60):90219-29.

- 32.Cordiano R, Di Gioacchino M, Mangifesta R, Panzera C, Gangemi S, Minciullo PL. Malondialdehyde as a Potential Oxidative Stress Marker for Allergy-Oriented Diseases: An Update. *Molecules*. 2023;28(16):5979.
- 33.Said MA. Vitamin D attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *Arch Physiol Biochem*. 2022;128(4):959-63.
- 34.Park CY, Shin Y, Kim JH, Zhu S, Jung YS, Han SN. Effects of high fat diet-induced obesity on vitamin D metabolism and tissue distribution in vitamin D deficient or supplemented mice. *Nutr Metab (Lond)*. 2020;17:44.