

Effect of Cysteine on Transforming Growth Factor β 1 as the Main Cause of Renal Disorder in a Rat Model of Diabetic Nephropathy

Sina Mahdavi¹,
Manoochehr Nakhjavani²

¹ Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

² Professor, Department of Endocrinology and Metabolism, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received August 18, 2018 ; Accepted November 17, 2019)

Abstract

Background and purpose: Glycation products, oxidative stress, and inflammation contribute to the development of diabetic nephropathy (DN) due to the elevation of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1). This study aimed at investigating the effect of Cysteine (Cys) on TGF- β in DN rat model.

Materials and methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats were randomly divided into four groups (n=10 per group): control, Cys, DN, and DN + Cys. DN was induced in rats by nephrectomy of the left kidney and injection of streptozotocin. The Cys and DN groups were treated with Cys (0.05% in drinking water) for three months. Glucose, insulin, diverse glycation products, lipid profile, oxidative stress markers, TNF- α , proteinuria, and serum creatinine levels were determined in all rats. Data analysis was done in SPSS V16.

Results: Cys decreased the sera level of TGF- β 1, renal dysfunction parameters, diverse Glycation, oxidative stress, and inflammatory markers in DN rats. Furthermore, the treatment improved glycemia and dyslipidemia (P> 0.001).

Conclusion: Cysteine with antioxidant, anti-glycating, and anti-inflammatory properties ameliorated DN owing to advantageous effects on glucose and lipid metabolism in rats with diabetic nephropathy. Furthermore, this treatment showed multiple protective effects on kidney by reducing the TGF- β 1 levels.

Keywords: Cysteine, diabetic nephropathy, transforming growth factor- β 1, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 29 (180): 95-101 (Persian).

* Corresponding Author: Sina Mahdavi¹ - Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
(E-mail: s.mahdavi@arums.ac.ir)

اثر سیستین بر فاکتور رشد تغییر دهنده بتا-1 به عنوان اصلی ترین عامل اختلال کلیوی در نفروپاتی دیابتی مدل حیوانی

سینا مهدوی فرد¹

منوچهر نخبجوانی²

چکیده

سابقه و هدف: محصولات گلیک، استرس اکسیداتیو و التهابی با افزایش فاکتور رشد تغییردهنده بتا-1 (TGF- β 1) در بروز نفروپاتی دیابتی نقش دارند. بنابراین هدف ما در این مطالعه بررسی اثر سیستین بر TGF- β 1 و شاخص‌های گلیک، استرس اکسیداتیو و التهابی در موش صحرایی مدل نفروپاتی دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، 40 موش صحرایی نژاد ویستار به چهار گروه مساوی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل، سیستین، نفروپاتی دیابتی و نفروپاتی دیابتی به علاوه سیستین بود. نفروپاتی دیابتی با تزریق استرپتوزوسین و خارج کردن کلیه چپ در موش‌ها القا شد. گروه‌های سیستین و نفروپاتی دیابتی به مدت سه ماه تحت تیمار با سیستین (0/05 درصد در آب خوری) قرار گرفتند. گلوکز، انسولین، محصولات مختلف گلیک، پروفایل لیپیدی، شاخص‌های استرس اکسیداتیو، فاکتور نکروز-آلفا و همچنین کراتینین سرم و دفع ادراری پروتئین در همه گروه‌ها اندازه‌گیری شد. از نرم افزار SPSS برای آنالیز داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: سیستین میزان سرمی TGF- β 1، پارامترهای اختلال کلیوی، شاخص‌های مختلف گلیک، استرس اکسیداتیو و التهابی را در موش‌های نفروپاتی دیابتی کاهش داد. علاوه بر این، افزایش قندخون و اختلالات لیپیدی را اصلاح نمود ($P < 0/001$).

استنتاج: سیستین با ویژگی‌های ضد گلیک، آنتی‌اکسیداتیو و ضد التهابی و با اثرات مفید بر متابولیسم گلوکز و لیپید، نفروپاتی دیابتی را در موش‌ها بهبود بخشید. همچنین این تیمار با اثر کاهنده بر TGF- β 1، اثر حفاظتی چندگانه بر کلیه دارد.

واژه‌های کلیدی: سیستین، نفروپاتی دیابتی، فاکتور رشد تغییر دهنده بتا-1، استرس اکسیداتیو

مقدمه

دیابتی نقش دارند. TGF- β 1 با هیپرتروفی کلیوی و توسعه و انباشت ماتریکس خارج سلولی منجر به اختلالات کلیوی در بیماران دیابتی می‌شود(1).

نفروپاتی دیابتی یکی از مهم‌ترین علت‌های نارسایی کلیوی در جهان است. افزایش قندخون، استرس اکسیداتیو و محصولات نهایی گلیک پیشرفته (AGEs) با افزایش فاکتور رشد تغییردهنده بتا-1 (TGF- β 1) در بروز نفروپاتی

مؤلف مسئول: سینا مهدوی فرد - اردبیل؛ انتهای خیابان دانشگاه - دانشکده پزشکی و پیراپزشکی - گروه بیوشیمی بالینی E-mail: s.mahdavi@arums.ac.ir

1. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

2. استاد، گروه غدد درون ریز و متابولیسم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1398/5/27 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/7/1 تاریخ تصویب: 1398/8/26

سنجش قند، پروفایل لیپیدی و شاخص‌های عملکرد کلیه قندخون ناشتا، تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL، LDL، کراتینین به روش آنزیمی با کیت‌های شرکت پارس آزمون سنجش شد.

سنجش محصولات ابتدای، میانی و نهایی گلیکته غلظت آلبومین گلیکته براساس احیا ماده نیتروبلوترازولیوم (8). و میزان LDL گلیکته بوسیله آزمون تیوباریتوریک اسید تعیین شد (9). غلظت متیل‌گلی‌اوکسال و پنتوزیدین با روش HPLC اندازه‌گیری شد (10,4).

سنجش محصولات اکسیداسیون ابتدایی و نهایی LDL دی‌ان‌کونجوگه از طریق خواندن جذب نمونه‌ها در 234 نانومتر (12) و محصولات فلورسنت براساس جذب فلورسنت سنجیده شد.

سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده (AOPP) و مالون‌دی‌آلدئید (MDA) سنجش AOPP براساس روش اسپکتوفتومتری (13) و غلظت مالون‌دی‌آلدئید براساس واکنش با تیوباریتوریک اسید سنجیده شد (14).

سنجش شاخص‌های التهابی (فاکتور نکرورز تومور - $\text{TNF-}\alpha$) و فاکتور رشد تغییر دهنده ($\text{TGF-}\beta$) فاکتورهای التهابی شامل $\text{TNF-}\alpha$ و $\text{TGF-}\beta$ با کیت‌های الیزا MyBioSource, Vancouver اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم‌های گلی‌اوکسیلاز-1 و پاراکسوناز-1 فعالیت گلی‌اوکسیلاز-1 براساس تشکیل لاکتوئیل گلوکاتیون (15) و فعالیت پاراکسوناز-1 براساس تجزیه پاراکسون سنجیده شد (16).
از آزمون تحلیل واریانس چندگانه (MANOVA-Tukey) در نرم‌افزار SPSS 16 برای

در دیابت میزان سیستئین، گلوکاتیون و فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز کاهش می‌یابد (2). در آزمایشگاه ما اثر اسید آمینه‌های سیستئین (3) و گلیسین (4) و گلوکاتمین (5) در موش‌های دیابتی-آتروسکلروزی مطالعه شده است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر سیستئین بر $\text{TGF-}\beta$ و شاخص‌های مختلف گلیکته، استرس اکسیداتیو و التهابی در موش‌های مدل نفروپاتی دیابتی است.

مواد و روش‌ها

سیستئین، استرپتوزوتوسین و متیل‌گلی‌اوکسال از شرکت سیگما خریداری شد.

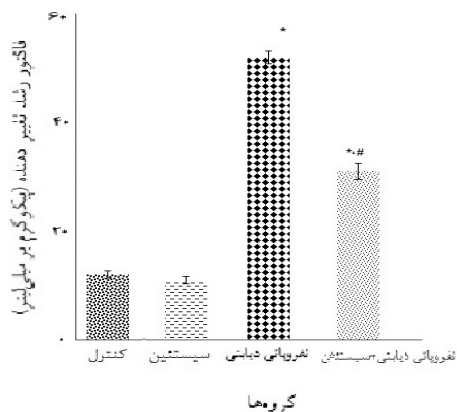
طراحی مطالعه

موش‌های صحرایی نر (8 هفته) از نژاد ویستار آلبینو با وزن 15 ± 200 گرم به‌طور تصادفی به 4 گروه 10 تایی به ترتیب ذیل تقسیم شدند. گروه اول: گروه سالم دریافت‌کننده آب (کنترل)، گروه دوم: گروه سالم دریافت‌کننده سیستئین (سیستئین)، گروه سوم: گروه نفروپاتی دیابتی دریافت‌کننده آب و گروه چهارم: گروه نفروپاتی دیابتی دریافت‌کننده سیستئین (نفروپاتی دیابتی به علاوه سیستئین). با برداشت کلیه چپ و تزریق استرپتوزوتوسین به میزان 50 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نفروپاتی دیابتی القا شد (6). گروه‌های سیستئین و نفروپاتی دیابتی به علاوه سیستئین به میزان 0/05 درصد سیستئین در آب خوراکی به مدت سه ماه دریافت کردند (7). پروتکل تجربی توسط کمیته اخلاقی حیوانی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تصویب و اجرا شد. (کد اخلاق: IR.ARUMS.REC.1397.176)

جمع‌آوری نمونه ادرار 24 ساعته، خون و بافت برای جمع‌آوری نمونه ادرار 24 ساعته، موش‌ها به مدت 24 ساعت در قفس متابولیک قرار گرفتند. جهت خون‌گیری موش‌های صحرایی پس از 16 ساعت ناشتایی، نمونه خون از قلب آن‌ها جمع‌آوری گردید.

قبلاً در مدل‌های موشی چاقی (18) و دیابتی - آتروسکلروزی (19) اثر کاهنده سیستین بر قند خون و مقاومت انسولین مشاهده شده است.

تیمار با سیستین در گروه دیابتی بر فعالیت گلی اوکسیلاز-1 اثر افزایش دهنده و بر میزان محصولات مختلف گلیکیم شامل آلبومین گلیکیم، متیل گلی اوکسال و پنتوزیدین اثر کاهنده داشت (جدول شماره 2). افزایش محصولات گلیکیم (20) و کاهش فعالیت سیستم گلی اوکسیلاز در بروز نفروپاتی نقش دارند (21).



نمودار شماره 1: غلظت سرمی TGF-β1 در گروه‌های کنترل و نفروپاتی دیابتی تحت تیمار با سیستین
* : نمایانگر تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($P < 0/001$)
: نمایانگر تفاوت معنی دار با گروه نفروپاتی دیابتی ($P < 0/001$)
روش آماری MANOVA و آزمون Tukey (تعداد در هر گروه 10 سر موش صحرائی)

آنالیز داده‌ها استفاده گردید. $P < 0/05$ برای تمام سنجش‌ها معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها و بحث

در این مطالعه برای نخستین بار اثر حفاظتی سیستین بر نفروپاتی دیابتی با کاهش TGF-β1، شاخص‌های مختلف گلیکیم، استرس اکسیداتیو و التهابی و همچنین بهبود متابولیسم گلوکز و لیپید، مشاهده شد. القای نفروپاتی دیابتی در موش‌ها منجر به افزایش دفع پروتئینی ادرار 24 ساعته، کراتینین سرم و شاخص وزن کلیه (جدول شماره 1) نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0/001$). غلظت سرمی TGF-β1 در موش‌های نفروپاتی دیابتی نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (نمودار شماره 1).

اثر کاهنده سیستین بر این شاخص نشانگر اثر حفاظتی چندگانه آن با توجه به کاهش چندین عامل خطر ایجادکننده اختلالات عروقی دیابت است ($P < 0/001$). در مطالعه‌ای 12 ساعت پس از مصرف خوراکی ان-استیل سیستین توسط بیماران کلیوی با توجه به زمان کوتاه مطالعه، تغییری در میزان شاخص‌های اختلال کلیوی مشاهده نشد (17). در گروه نفروپاتی دیابتی به علاوه سیستین نسبت به گروه نفروپاتی دیابتی کاهش گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین با افزایش ترشح انسولین همراه بود ($P < 0/001$) (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: اثر سیستین بر میزان قندخون ناشتا، انسولین، شاخص مقاومت انسولین، پروفایل لیپیدی و شاخص‌های عملکرد کلیه در گروه‌های کنترل و نفروپاتی دیابتی

معنی داری	گروه			پارامتر
	نفروپاتی دیابتی + سیستین	نفروپاتی دیابتی	کنترل	
0/001	171/13 ± 9/73*#	278/63 ± 15/46*	80/31 ± 6/24	گلوکز ناشتا (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	11/46 ± 0/75*#	8/93 ± 0/51*	19/04 ± 1/32	انسولین (میکرو واحد بر میلی‌لیتر)
0/001	3/71 ± 0/33*#	6/37 ± 0/61*	3/79 ± 0/28	شاخص مقاومت انسولین
0/001	129/51 ± 7/02*#	250/40 ± 15/12*	60/04 ± 3/48*	تری‌گلیسرید (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	138/25 ± 8/07*#	172/65 ± 9/91*	68/19 ± 4/50*	کلسترول تام (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	41/51 ± 2/75*#	26/87 ± 2/27*	44/62 ± 3/21	HDL (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	70/83 ± 5/07*#	95/70 ± 6/72*	11/56 ± 0/85	LDL (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	1/70 ± 0/19*#	3/57 ± 0/37*	0/26 ± 0/02	شاخص آتروژنی
0/001	0/93 ± 0/09*#	1/33 ± 0/12*	0/61 ± 0/05	کراتینین (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	53/99 ± 3/71*#	165/07 ± 16/12*	12/32 ± 0/64	دفع ادراری پروتئین (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
0/001	0/80 ± 0/07*#	1/42 ± 0/11*	0/75 ± 0/05	شاخص وزن کلیه (گرم بر 100 گرم وزن بدن)

* : نمایانگر تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($P < 0/001$)

: نمایانگر تفاوت معنی دار با گروه نفروپاتی دیابتی ($P < 0/001$)

روش آماری MANOVA و آزمون Tukey (تعداد در هر گروه 10 سر موش صحرائی)

جدول شماره 2: مقایسه غلظت محصولات گلیکته شاخص‌های استرس اکسیداتیو و فاکتورهای التهابی در تمام گروه‌های کنترل و نفروپاتی دیابتی پس از 3 ماه دریافت سیستمین

سطح معنی داری	گروه			کنترل	پارامتر
	نفروپاتی دیابتی + سیستمین	نفروپاتی دیابتی	سیستمین		
0/001	223/26 ± 8/13 #	398/25 ± 17/06*	71/29 ± 4/83*	95/13 ± 6/43	آلبومین گلیکته (میکرومول بر لیتر)
0/001	102/92 ± 6/10 #	167/33 ± 9/38*	29/3 ± 95/54*	47/43 ± 4/06	LDL گلیکته (میکرومول بر لیتر)
0/001	38/92 ± 2/45 #	104/18 ± 6/31*	16/54 ± 0/76	17/81 ± 0/80	متیل گلی اوکسال (میکرومول بر لیتر)
0/001	90/36 ± 4/87* #	246/18 ± 19/31*	38/54 ± 3/76	42/19 ± 4/01	پنتوزیدین (میکرومول بر لیتر)
0/001	33/12 ± 3/42 #	79/06 ± 6/01*	15/67 ± 0/92	16/23 ± 1/15	محصولات ابتدایی LDL اکسیده (میکرومول بر لیتر)
0/001	279/43 ± 17/80 #	453/69 ± 20/27*	194/01 ± 9/87	201/63 ± 11/53	محصولات نهایی LDL اکسیده (واحد قراردادی)
0/001	39/73 ± 3/87 #	58/90 ± 4/02*	22/85 ± 1/58	25/71 ± 1/82	محصولات اکسیداسیون پیشرفته پروتئینها (میکرومول بر لیتر)
0/001	70/54 ± 4/47 #	176/5 ± 8/94*	11/31 ± 0/46	13/50 ± 0/59	مالون دی آلدئید (میکرومول بر لیتر)
0/001	174/34 ± 7/76 #	297/2 ± 15/09*	124/63 ± 5/89	125/98 ± 6/90	فاکتور نکروز تومور-آلفا (نانوگرم بر لیتر)
0/001	31/96 ± 3/82* #	19/51 ± 2/63*	43/01 ± 4/4	41/63 ± 3/78	گلی اوکسیلاز-1 (واحد در لیتر)
0/001	1395/16 ± 61/81* #	713/62 ± 32/03*	1851/06 ± 90/34	1827/06 ± 88/64	پارااکسوناز-1 (واحد در لیتر)

*: نمایانگر تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($P < 0/001$)

#: نمایانگر تفاوت معنی دار با گروه نفروپاتی دیابتی ($P < 0/001$)

روش آماری MANOVA و آزمون Tukey (تعداد در هر گروه 10 سر موش صحرایی)

ابتدایی و نهایی اکسیده آن در گروه نفروپاتی دیابتی اثر کاهنده داشت ($P < 0/001$) (جدول شماره 2). احتمالاً سیستمین با ویژگی آنتی اکسیدانتی و اثر افزایشنده بر فعالیت پاراکسوناز-1 توان کاهش محصولات اکسیده LDL را دارد (جدول شماره 2).

سیستمین با ویژگی‌های ضد گلیکته، آنتی اکسیدانتی و ضد التهابی و با اثرات مفید بر متابولیسم گلوکز و لیپید، نفروپاتی دیابتی را در موش‌ها بهبود بخشید.

سپاسگزاری

از همکاری دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در اجرای این مطالعه سپاسگزاریم.

سیستمین، شاخص‌های استرس اکسیداتیو (محصولات نهایی اکسیداسیون پیشرفته پروتئین‌ها و مالون دی آلدئید) و التهابی ($TNF-\alpha$) را در موش‌های دیابتی کاهش داد ($P < 0/001$) (جدول شماره 2). استرس اکسیداتیو با راه اندازی روندهای التهابی در ایجاد اختلالات کلیوی نقش دارد (22، 18). اخیراً اثر حفاظت کلیوی آن - استیل سیستمین با توجه به کاهش استرس اکسیداتیو گزارش شده است (6). سیستمین متابولیسم لیپیدها را در گروه‌های سیستمین و دیابتی بهبود بخشید (جدول شماره 1). تیمار با این اسید آمینه میزان کلسترول تام و تری گلیسرید، LDL و شاخص آتروژنی را در گروه دیابتی کاهش داد ($P < 0/001$). سیستمین بر میزان LDL گلیکته و محصولات

References

- Gomes KB, Rodrigues KF, Fernandes AP. The Role of Transforming Growth Factor-Beta in Diabetic Nephropathy. International Journal of Medical Genetics 2014; Article ID 180270.
- Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. Free Radic Biol Med 1999; 27(9-10): 922-935.
- Mahdavi S, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Etemadi Kia B. Effect of one month cysteine treatment on the glycemic on the glycemic control, the glycemic control, lipid profile, glycated and oxidized LDL, in the rat model of diabetes-atherosclerosis. IJDL 2014; 13(4): 279-286.
- Mahdavi S, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Taghikhani M. The synergistic effect of antiglycating agents (MB-92) on inhibition of protein glycation, misfolding and diabetic complications in diabetic-atherosclerotic rat.

- Eur J Med Chem 2016; 121: 892-902.
5. Mahdavi S, Nakhjavani M. Effect of Glutamine on Oxidative Stress, Inflammatory, and Glycation Markers, and the Activity of Glyoxalase System in Diabetic Rats with Atherosclerosis. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 28(170): 33-42.
 6. Nogueira GB, Punaro GR, Oliveira CS, Maciel FR, Fernandes TO, Lima DY, et al. N-acetylcysteine protects against diabetic nephropathy through control of oxidative and nitrosative stress by recovery of nitric oxide in rats. *Nitric Oxide* 2018; 78: 22-31.
 7. Mahdavi S, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Heidarzadeh H. L-cysteine is a potent inhibitor of protein glycation on both albumin and LDL, and prevents the diabetic complications in diabetic-atherosclerotic rat. *Food Research International* 2014; 62: 909-916.
 8. Xu YJ, Wu XQ, Liu W, Lin XH, Chen JW, He RQ. A convenient assay of glycoalbumin by nitroblue tetrazolium with iodoacetamide. *Clin Chim Acta* 2002; 325(1-2): 127-131.
 9. Cohen MP, Shea EA, Wu V-Y. Inhibiting LDL glycation ameliorates increased cholesteryl ester synthesis in macrophages and hypercholesterolemia and aortic lipid peroxidation in streptozotocin diabetic rats. *Metabolism* 2010; 59(5): 658-663.
 10. Deng Y, Yu PH. Simultaneous determination of formaldehyde and methylglyoxal in urine: involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated deamination in diabetic complications. *J Chromatogr Sci* 1999; 37(9): 317-322.
 11. Esterbauer G, Puhl H, Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992; 13(4): 341-390.
 12. Ahotupa M, Vasankari TJ. Baseline diene conjugation in LDL lipids: An indicator of circulating oxidized LDL. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11-12): 1141-1150.
 13. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49(5): 1304-1313.
 14. Ohakawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay For Lipid Peroxidation In Animal Tissue by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-358.
 15. Sharma R, Kale RK. Effect of radiation on glyoxalase I and glyoxalase II activities in spleen and liver of mice. *Int J Radiat Biol* 1993; 63(2): 233-238.
 16. Assis RP, Arcaro CA, Gutierrez VO, Oliveira JO, Costa PI, Baviera AM, et al. Combined Effects of Curcumin and Lycopene or Bixin in Yoghurt on Inhibition of LDL Oxidation and Increases in HDL and Paraoxonase Levels in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Int J Mol Sci* 2017; 18(4): 332.
 17. Moist L, Sontrop JM, Gallo K, Mainra R, Cutler M, Freeman D, et al. Effect of N-acetylcysteine on serum creatinine and kidney function: results of a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2010; 56(4): 643-450.
 18. Jain SK, Velusamy T, Croad JL, Rains JL, Bull R. L-Cysteine supplementation lowers blood glucose, glycated hemoglobin, CRP, MCP-1, and oxidative stress and inhibits NF-κB activation in the livers of Zucker diabetic rats. *Free Radic Biol Med* 2009; 46(12): 1633-1638.
 19. Newsholme P, Lima MM, Procopio J, Pithon-Curi TC, Doi SQ, Bazotte RB, et al.

- Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36(2): 153-163.
20. Raghav A, Ahmad J, Noor S, Alam K, Mishra BK. Glycated albumin and the risk of chronic kidney disease in subjects with Type 2 Diabetes: A study in North Indian Population. *Diabetes Metab Syndr* 2018; 12(3): 381-385.
21. Rabbani N, Thornalley PJ. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2014; 63(1): 50-52.
22. Ahmadvand H, Mahdavifard S. Protective effect of thioctic acid on renal ischemia-reperfusion injury in rat. *Int J Prev Med* 2019; 10(1):176.