

ARTIKEL PENELITIAN

Korelasi antara Kadar Gula Darah Puasa dengan Stress Oksidatif dan Aktivitas Katalase pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 1 yang Diterapi dengan MSC-WJ

Endrinaldi Endrinaldi¹, Hirowati Ali¹, Elmatris Elmatris¹, dan Sisca Dwi Yarni²

1. Department of Biochemistry Faculty of Medicine, Andalas University, Padang, Indonesia.
2. Biomedical Laboratory Faculty of Medicine, Andalas University, Padang, Indonesia.

Korespondensi: Endrinaldi; email: endrinaldi@med.unand.ac.id

Abstrak

Tujuan: Penelitian ini dilakukan untuk menyelidiki keterlibatan kerusakan oksidatif pada tikus diabetes melitus tipe 1 yang diterapi dengan Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly (MSC-WJ) dan menjelaskan hubungan antara kadar gula darah puasa dan kadar MDA sebagai indikator stres oksidatif, dan aktivitas katalase. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan Posttest-Only Control Group Design. Terdiri dari 3 kelompok yaitu kelompok 1 tikus sehat, kelompok 2 tikus DM dan kelompok 3 tikus DM yang diberi MSC-WJ. Penelitian ini dilakukan secara in vivo pada model tikus diabetes yang diinduksi aloksan dengan menguji glukosa darah puasa (FBG), kadar MDA serum, dan aktivitas katalase. Malondialdehyde (MDA) diukur dengan metode Ohkawa, dan aktivitas katalase (CAT) diukur dengan metode Sinha yang dimodifikasi. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan analisis korelasi antara kadar gula darah puasa dengan kadar MDA ($r = 0,697$) dan aktivitas katalase ($r = -0,850$) pada tikus DM tipe 1 setelah diberi perlakuan dengan Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly. **Kesimpulan:** Penelitian ini menunjukkan korelasi positif yang kuat antara kadar gula darah puasa dan stres oksidatif dan korelasi yang sangat kuat antara kadar gula darah puasa dan aktivitas katalase tikus DM tipe 1 yang diobati dengan MSC-WJ.

Kata kunci: DM tipe 1; Mesenchymal Stem Cells Wharton Jelly; MDA; Katalase

Abstract

Objective: This study was conducted to investigate the involvement of oxidative damage in type 1 diabetes mellitus rats treated with Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly (MSC-WJ) and to explain the correlation between fasting blood sugar levels and MDA levels as an indicator of oxidative stress and catalase activity. **Methods:** This research is experimental research with a Posttest-Only Control Group Design. It consisted of 3 groups, namely group 1 was healthy rats, group 2 was DM rats and group 3 was DM rats treated with MSC-WJ. This study conducted in vivo experiments on alloxan-induced diabetic rat models by testing fasting blood glucose (FBG), serum MDA levels, and catalase activity. Malondialdehyde (MDA) was measured by the Ohkawa method, and catalase activity (CAT) was measured by a modified Sinha method. **Results:** The results showed the correlation analysis between fasting blood sugar levels and MDA levels ($r = 0.697$) and catalase activity ($r = -0.850$) in type 1 DM rats after being treated with Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly. **Conclusion:** This study shows a strong positive correlation between fasting blood sugar levels and oxidative stress and a very strong correlation between fasting blood sugar levels and catalase activity of type 1 DM rats treated with MSC-WJ.

Keywords: DM tipe 1; Mesenchymal Stem Cell Wharton's Jelly; MDA; Catalase

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme yang tumbuh paling cepat di seluruh dunia, diperkirakan mempengaruhi 463 juta orang pada tahun 2019 dan diproyeksikan mempengaruhi sekitar 693 juta pada tahun 2045. Diabetes adalah gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang tinggi (hiperglikemia) akibat defisiensi insulin absolut atau relatif dalam konteks disfungsi sel beta dan resistensi insulin atau keduanya.¹

Hiperglikemia adalah indikator klinis diabetes melitus.² Hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan pada organ dan jaringan melalui proses stress oksidatif.³ Stress oksidatif adalah gangguan dalam keseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan, yaitu pro-oksidan lebih tinggi daripada antioksidan.⁴ Jalur molekuler yang berkontribusi terhadap stres oksidatif pada diabetes melitus melibatkan metabolisme glukosa atau metabolisme lipid yaitu melalui aktivasi beberapa jalur pro-oksidatif yaitu jalur glikolisis, *advanced glycation end products* (AGE), *protein kinase c* (PKC), heksosamin, dan poliol.⁵

Stress oksidatif pada hiperglikemia disebabkan oleh produksi ROS sebagai agen pro-oksidan meningkat, sedangkan aktivitas dari antioksidan menurun.⁶ Peningkatan jumlah ROS juga dapat menyerang membran sel yang mengandung asam lemak tak jenuh tinggi sehingga menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang disebabkan oleh stress oksidatif juga dapat menginisiasi kematian sel dengan merusak DNA, protein, dan aktivitas enzim sel.⁷ Salah satu hasil akhir dari peroksidasi lipid adalah suatu aldehid yang sangat reaktif, yaitu malondialdehid (MDA).⁸ Terdapat peningkatan kadar MDA plasma pada

hiperglikemia, peningkatan kadar MDA plasma ini dapat menjadi biomarker utama stress oksidatif.⁹

Kerusakan akibat radikal bebas dapat dicegah dengan membentuk sistem pertahanan berupa antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan tubuh dari radikal bebas, salah satunya dengan menyeimbangkan ROS. Antioksidan endogen berupa enzimatik terdiri dari enzim superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase (CAT).⁴

Katalase merupakan salah satu antioksidan yang akan menetralkan radikal bebas yang terbentuk selama hiperglikemia.¹⁰ Katalase akan mengubah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂.⁶ Enzim ini sangat penting karena dapat melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif dan juga mencegah terbentuknya radikal bebas.¹¹ Penurunan kemampuan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas karena jumlahnya yang terus berkurang selama hiperglikemia, berpotensi menimbulkan kerusakan sel.

Mesenchymal Stem Cell (MSC) telah digunakan secara luas dalam berbagai aplikasi pada hewan model maupun uji klinis pada manusia untuk pengobatan diabetes.¹² Beberapa penelitian menunjukkan adanya perbaikan hiperglikemia. Penelitian ini memanfaatkan *Wharton's Jelly derived mesenchymal stem cells* (WJ-MSC) sebagai terapi DM tipe 1 untuk melihat pengaruhnya terhadap kadar MDA dan aktivitas katalase serum sebagai biomarker stres oksidatif.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar glukosa darah dengan tingkat stres oksidatif dan aktivitas katalase pada tikus model DM tipe 1 setelah diberi perlakuan WJ-MSC.

METODE

Hewan dan Desain Penelitian

Tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan sebanyak 18 ekor yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 200-300 gram yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus sebagai hewan coba pada penelitian ini diaklimatisasi selama tujuh hari sebelum dilakukan perlakuan. Masing-masing tikus diberi makan sebanyak 20 gram/hari dan diberi minum secara *ad libitum*, diperiksa dan ditambah setiap hari.⁵²

Induksi Hiperglikemia

Tikus diinjeksikan aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 100 mg/kgBB sebanyak 0,2 ml. Sebelum aloksan diinduksikan, tikus terlebih dahulu dipuasakan selama ± 12 jam, kemudian ditimbang berat badannya untuk mendapatkan volume induksi aloksan. Kadar glukosa darah tikus diukur 7 hari setelah aloksan diinjeksikan dengan mengukur kadar glukosa darah puasa (GDP) tikus menggunakan test strip dan alat glukometer yang telah dikalibrasi.¹³

Terapi MSC-WJ pada hewan model diabetes tipe 1

MSC-WJ diperoleh dari Indonesia Medical Education and Research Institute (IMERI) Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. MSC-WJ ini mengekspresikan molekul permukaan CD73, CD93 dan CD105.

Pada hari ke 7 induksi aloksan, tikus hiperglikemia secara acak dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok tikus hiperglikemia ($n=6$) dan kelompok tikus hiperglikemia yang diterapi MSC-WJ dengan dosis 3×10^6 sel. MSC-WJ disuspensikan dalam *phosphat buffered*

saline (BPS) ke vena ekor tikus dan dibiarkan selama 4 minggu. Sebagai kelompok kontrol normal ($n=6$) digunakan tikus sehat. Pada hari ke 29, darah tikus dikumpulkan dari vena orbital.

Penentuan konsentrasi MDA

Sebanyak 100 μ l sampel (Plasma darah) atau standar dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge yang telah dilabel. Pada masing-masing tabung ditambahkan aquadest 0,9 ml pada sampel selanjutnya ditambahkan TBA reagent 0,5 ml dan campur dengan *vortex mixer*. Tabung berisi larutan kemudian dipanaskan dalam waterbath pada suhu 95 derajat celcius selama 1 jam. Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.¹⁴

Pengukuran aktivitas Katalase

Sebanyak 4 ml H_2O_2 dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 ml buffer fosfat dan 1 ml serum (sampel), dan homogenkan secara perlahan. Campuran di atas dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru sebanyak 1 ml. Setelah itu, tambahkan 2 ml reagen pewarna. Prosedur di atas diulangi dengan tabung yang berbeda dalam interval waktu 60 detik. Lalu, panaskan selama 10 menit dalam water bath mendidih untuk mendekomposisi presipitat biru (akan terbentuk warna hijau dari chromic asetat). Dinginkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian dipindahkan dalam cuvet. Masing-masing tabung dilakukan pengukuran absorbansi dengan panjang gelombang 570 nm. Menghitung H_2O_2 yang terpakai dengan menggunakan grafik standar (Absorbansi vs Konsentrasi H_2O_2).¹⁵

Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan pertimbangan dan persetujuan etik dari Tim Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan nomor registrasi 838/UN.16.2/KEP-FK/2022.

Analisis Statistik

Data ditampilkan dalam bentuk mean \pm standar deviasi dan pengujian korelasi dengan menggunakan uji Spearman. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi terhadap 18 ekor tikus jantan diabetes melitus tipe 1 yang diinduksi aloksan selama 1 minggu. Tikus diabetes dibagi menjadi 2 kelompok, satu kelompok tikus diabetes yang tidak diberi perlakuan dan kelompok lainnya diberi MSC-WJ selama 4 minggu.

Aloksan memiliki efek patologis secara selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi glukosa melalui penghambatan spesifik glukokinase dan kemampuannya menginduksi pembentukan ROS, menghasilkan nekrosis pada sel beta secara selektif.¹⁶ Aloksan digunakan sebagai hewan model diabetes melitus yang bergantung pada insulin (IDDM/DM tipe 1) karena aloksan berefek terhadap nekrosis spesifik islet pankreas.¹⁷

Aloksan adalah senyawa kimia yang sangat tidak stabil yang bersifat hidrofilik.¹⁶ Aloksan memiliki kesamaan struktural yang sangat besar dengan glukosa,¹⁸ sehingga transporter glukosa GLUT2 di membran plasma sel beta menerima glukomimetik ini dan membawanya ke sitosol.¹⁶ Alloksan tidak menghambat fungsi transporter, dan karena itu dapat masuk ke dalam sel beta secara selektif dengan tidak terbatas.¹⁶

Aloksan adalah analog glukosa yang bersifat toksik terhadap sel β .¹⁸

Tabel 1. Rerata kadar GDP, MDA, and aktivitas katalase

Variabel	Mean \pm SD		
	Normal	DMT1	DMT1 + WJ-MSC
GDP	72,67 \pm 2,503	565,67 \pm 56,853	93,67 \pm 29,132
MDA	1,8033 \pm 0,147	3,1433 \pm 0,523	1,7883 \pm 0,264
Katalase	4,268 \pm 0,246	2,463 \pm 0,287	3,513 \pm 0,201

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian MSC-WJ dapat menurunkan kadar gula darah puasa (GDP), kadar MDA dan meningkatkan aktivitas katalase terhadap tikus DM tipe 1 (Tabel 1). Beberapa penelitian pada model diabetes juga menunjukkan bahwa MSC mampu menurunkan kadar glukosa darah.¹⁹

MSC mempunyai kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi *insulin-producing cells* (IPC) dan meregenerasi secara endogen sel beta islet pankreas dengan bermigrasi ke sel islet yang cedera. Selain itu MSC mampu melindungi sel beta pulau (islet) pankreas secara endogen dari apoptosis.¹² MSC berpartisipasi dalam proses perbaikan dengan mengeluarkan berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan yang memiliki aktivitas parakrin dan autokrin.²⁰ Regenerasi sel beta endogen dan restorasi arsitektur islet secara signifikan teramati setelah diterapi MSC.^{19,21}

Studi yang dilakukan Tsai et al. menunjukkan bahwa WJ-MSC terdiferensiasi menjadi IPCs secara in vivo tikus diabetes non-obesitas (NOD).²² Hal ini dapat menyebabkan peningkatan sekresi insulin, sehingga kadar gula darah menurun (Tabel 1).

Studi terhadap MSC dari berbagai sumber telah diteliti secara ekstensif,

terkait potensinya terhadap imunomodulasi dan perbaikan jaringan serta generasi *insulin-producing cells* (IPC) melalui berbagai protokol diferensiasi.¹²

Tabel 2. Korelasi antara kadar GDP dengan kadar MDA dan aktivitas katalase

Variabel	GDP		
	r	r ²	p
MDA	0,697	0,486	0,001
Katalase	-0,850	0,723	0,0001

Hasil analisis statistik menunjukkan suatu hubungan yang kuat antara kadar gula darah puasa dengan kadar MDA sebagai suatu indikator dari lipid peroksidasi (0,697) yang berpola positif dan hubungan yang sangat kuat antara kadar gula darah puasa dengan aktivitas katalase (-0,850) yang berpola negatif. Ada hubungan yang signifikan antara kadar gula darah puasa dengan kadar MDA (0,001) dan aktivitas katalase (0,0001). Kadar gula darah puasa berkontribusi 48,6% terhadap kadar MDA dan 72,3% terhadap aktivitas katalase (Tabel 2).

Hubungan antara kadar gula darah puasa dengan kadar MDA

Hasil menunjukkan hubungan yang positif antara kadar gula darah puasa dengan kadar MDA, dimana menurunnya kadar gula darah puasa tikus hiperglikemia yang diterapi WJ-MSc menyebabkan menurunnya kadar MDA.

MDA merupakan indikator terjadinya peroksidasi lipid oleh *reactive oxygen species* (ROS). Keadaan hiperglikemia kronis menyebabkan peningkatan produksi ROS dan penekanan antioksidan sehingga terjadi stress oksidatif^{5,23,24} melalui aktivasi beberapa jalur pro-oksidatif, yaitu jalur glikolisis, AGEs, PKC, heksosamin, dan polioli. Glikolisis adalah proses oksidasi

glukosa untuk menghasilkan ATP.^{25,26} Proses ini juga memiliki produk akhir berupa radikal bebas, tetapi dalam jumlah yang bisa ditekan oleh antioksidan.⁵ Pada hiperglikemia, terjadi peningkatan jumlah radikal bebas yang dihasilkan oleh jalur glikolisis ini, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan DNA. Kerusakan DNA ini akan mengaktivasi suatu enzim perbaikan DNA, yaitu poly ADP ribose polymerase 1 (PARP). PARP bekerja dengan cara menghambat aktivitas glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) sehingga terjadi akumulasi dari glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) dan menyebabkan stress oksidatif.⁵

MSC-WJ memiliki beberapa mekanisme aksi dan efek terapi pada diabetes melitus, yaitu homing, aksi parakrin, efek imunomodulator, dan potensi diferensiasi sel. Salah satu karakteristik dari MSC adalah kemampuannya dalam bermigrasi atau homing. MSC secara spesifik bermigrasi ke tempat yang mengalami inflamasi dan terdapat kerusakan jaringan. Tikus diabetes yang diinjeksikan MSC-WJ pada vena ekornya dilaporkan bahwa terdapat penemuan sejumlah MSC-WJ pada pankreasnya. Hal ini menunjukkan homing MSC-WJ juga berkaitan dengan kerusakan pankreas. MSC-WJ juga dapat memberikan mekanisme aksi parakrin.²⁷ Ini ditunjukkan dari hasil penelitian kami bahwa terjadi penurunan kadar gula darah tikus hiperglikemia setelah diterapi dengan MSC-WJ, sehingga terjadi penurunan kadar MDA.

Hubungan antara kadar gula darah puasa dengan aktivitas katalase

Hasil menunjukkan hubungan yang positif antara kadar gula darah puasa dengan aktivitas katalase, dimana menurunnya kadar gula darah puasa tikus hiperglikemia yang diterapi WJ-MSc

menyebabkan meningkatnya aktivitas katalase.

Menurunnya aktivitas katalase disebabkan meningkatnya produksi ROS pada tikus DMT1 (Tabel 1). Aktivitas enzim katalase akan meningkat apabila radikal bebas meningkat. Apabila jumlah radikal bebas tidak seimbang dengan kemampuan antioksidan untuk meredamnya, maka aktivitas katalase akan berkurang.

Hiperglikemia tidak hanya menghasilkan lebih banyak ROS, seperti superoksida dan hidrogen peroksida, tetapi juga melemahkan mekanisme antioksidan melalui glikasi enzim SOD dan CAT.²⁸ Penelitian El-Far et al., 2012 menjelaskan bahwa MSC mampu memperbaiki dan membalikkan ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan dengan cara memulihkan dan meningkatkan pertahanan dari antioksidan.²⁹ Ini ditunjukkan dari hasil penelitian kami bahwa terjadi penurunan kadar gula darah tikus hiperglikemia setelah

diterapi dengan MSC-WJ yang diikuti dengan terjadinya peningkatan aktivitas katalase dalam serum (Tabel 1)

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ada korelasi yang kuat antara kadar gula darah puasa dengan kadar MDA serum dan korelasi yang sangat kuat antara kadar gula darah puasa dengan aktivitas katalase serum tikus DM tipe 1 yang diterapi MSC-WJ.

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nat Rev Nephrol.* 2020;16(7):377–90
2. International Diabetes Federation (IDF). *IDF diabetes atlas.* IDF. 2019;9:1-764.
3. Marcovecchio ML. Complications of acute and chronic hyperglycemia. *Rev Diabetes.* 2017;13(1):1-5.
4. Ullah A, Khan A, Khan I. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Saudi Pharm J.* 2016;24(5):547–53.
5. Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:656–62.
6. Ghasemi-Dehnoo M, Amini-Khoei H, Lorigoini Z, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus. *Asian Pac J Trop Med.* 2020;13(10):431–8
7. Su LJ, Zhang JH, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, dkk. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:1-13
8. Ito F, Sono Y, Ito T. Measurement and clinical significance of lipid peroxidation as a biomarker of oxidative stress: oxidative stress in diabetes, atherosclerosis, and chronic inflammation. *MDPI.* 2019;8:1-28
9. Tiwari BK, Pandey KB, Abidi AB, Rizvi SI. Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *J Chem Inf Model.* 2016;27(1):449–55
10. Suarsana IN, Utama IH, Kardena IM. Immunohistochemical expression of

- insulin and glucagon, superoxide dismutase and catalase activity in pancreas in hyperglycaemia condition. *Asian J Biochem.* 2016;11(4–5):177–85
11. Saxena S, Jamil K. Oxidative stress and expression level of Catalase, Glutathione S Transferase Enzyme in type 2 Diabetes Patients. *Int J Sci Eng Res.* 2014;5(8):1127–31
 12. Zang L, Hao H, Liu J, Li Y, Han W and Mu Y. Mesenchymal stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 2017;9(36):1-11
 13. Mostafavinia A, Amini A, Ghorishi SK, Pouriran R, Bayat M. The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of type1 diabetes mellitus and mortality rate in rats. *Lab Anim Res.* 2016;32(3):160-5
 14. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malondialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.* 1966;16(2):359–64
 15. Sinha, A. K. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47(2), 389–394. doi:10.1016/0003-2697(72)90132-7
 16. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51:216–26
 17. Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 2001;50: 536-46
 18. Macdonald O, Mohammed A, Akinloye OA. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control. *Medicina.* 2018;53:365-74
 19. Si Y, Zhao Y, Hao H, Liu J, Guo Y, Mu Y, et al. Infusion of mesenchymal stem cells ameliorates hyperglycemia in type 2 diabetic rats: identification of a novel role in improving insulin sensitivity. *Diabetes.* 2012;61(6):1616-25
 20. Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem.* 2006;98(5):1076–84.
 21. Hao H, Liu J, Shen J, Zhao Y, Liu H, Hou Q, et al. Multiple intravenous infusions of bone marrow mesenchymal stem cells reverse hyperglycemia in experimental type 2 diabetes rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;436(3):418–23.
 22. Tsai PJ, Wang HS, Lin GJ, Chou SC, Chu TH, Chuan WT, et al. Undifferentiated Wharton's jelly mesenchymal stem cell transplantation induces insulin-producing cell differentiation and suppression of T-cell-mediated autoimmunity in nonobese diabetic mice. *Cell Transplant.* 2015;24(8):1555–70.
 23. Maiese K. New insights for oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:46–9.
 24. Bandeira S de M, da Fonseca LIS, Guedes G da S, Rabelo LA, Goulart MOF, Vasconcelos SML. Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2013;14(2):3265–84.
 25. Rolo AP, Palmeira CM, Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2006;212(2):167–178.
 26. Chung SS, Ho EC, Lam KS, Chung SK, Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress, *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003;14(3):233–6.
 27. Kamal MM, Kassem DH. Therapeutic potential of Wharton's Jelly mesenchymal stem cells for diabetes:

- Achievements and challenges. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:1–15.
28. Liu W, Hei Z, Nie H, Tang F-T, Huang H-Q, Li X-J, et al. Berberine ameliorates renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats by suppression of both oxidative stress and aldose reductase. *Chin Med J.* 2008;121(8):706–12.
 29. El-far MA, Gabr MM, El-halawani SM, Ibrahim RY. Novel evidence of restoring and augmenting antioxidant defense after treatment of diabetic rats using stem cells. *Current Topics in Biochemical Research.* 2012;14(2):25-37