

## Hubungan Peroksidasi Lipid Dan Asam Sialat Serum Pada Diabetes Mellitus Tipe 2

### Relationship Between Lipid Peroxidation And Serum Sialic Acid In Type 2 Diabetes Mellitus

Isra Leman Nalo\*, Ahmad Hamim Sadewa\*\*, Arta Farmawati\*\*, Pramudji Hastuti\*\*

\*MAN Tojo Una-Una, Kec. Ampaña Tete, Kab. Tojo Una-Una, Sulawesi Tengah, Indonesia

\*\* Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada

\*corresponding author: [isralem86@gmail.com](mailto:isralem86@gmail.com)

**Abstrak.** Data IDF menunjukkan bahwa pasien diabetes mellitus (DM) di Indonesia tercatat sekitar 8,5 juta jiwa pada tahun 2013 dan diperkirakan meningkat 14,1 juta jiwa pada tahun 2035. Dari semua kasus DM, diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) memiliki prevalensi tertinggi yang mencapai 90-95%. DMT2 merupakan hiperglikemia kronis yang memicu terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif terjadi karena menurunnya aktivitas antioksidan dan meningkatnya produksi radikal bebas. Interaksi radikal bebas dengan lipid membran menghasilkan beberapa produk peroksidasi lipid termasuk malondialdehida (MDA). Asam sialat merupakan komponen glikolipid dan glikoprotein yang juga ditemukan pada membran sel. Asam sialat berperan penting sebagai antioksidan untuk menangkap H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Penelitian ini bertujuan membandingkan hubungan antara kadar MDA dan kadar asam sialat pada penderita DMT2. Desain penelitian adalah studi kasus-kontrol, dimana kelompok kontrol dan kelompok DMT2 masing-masing sebanyak 35 subjek. Secara statistik, hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MDA antara kelompok kontrol dan DMT2 tidak terdapat perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ), namun kadar asam sialat serum antar kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Sehingga disimpulkan tidak terdapat hubungan yang bermakna antara kadar MDA dan asam sialat serum pada pasien DMT2, meskipun kadar asam sialat serum ditemukan berbeda pada kelompok kontrol dan DMT2.

**Kata-kata kunci :** DMT2, stress oksidatif, peroksidasi lipid, MDA, asam sialat.

#### **Abstract.**

IDF's data shows that patient of diabetes mellitus (DM) in Indonesia be recorded about 8.5 million in 2013 and estimated reaching up to 14.1 million in 2035. All cases of DM, type 2 diabetes mellitus (T2DM) has the highest prevalence of approximately 90-95%. T2DM is chronic hyperglycemia triggering to oxidative stress. Oxidative stress occurs due to decreased antioxidant activity and increased production of free radicals. The interaction of free radicals with membrane lipids produces several lipid peroxidation products including malondialdehyde (MDA). Sialic acid is a component of glycolipids and glycoproteins that are also constructed in cell membranes. Sialic acid plays important role as an antioxidant to catch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. This study aims to compare the correlation between MDA and sialic acid levels in T2DM. The research design was a case-control study, in which the control group and the DMT2 group were each of 35 subjects. Statistically, the results showed that there was no significant difference on the MDA levels between the control group and T2DM ( $p > 0.05$ ), however, the serum sialic acid levels both groups showed a significant difference ( $p < 0.05$ ). It is concluded that there is no significant relationship between the levels of MDA and serum sialic acid levels in T2DM patients, although serum sialic acid levels were found to be different in the control and T2DM groups.

**Keywords:** T2DM, stress oxidative, peroxidation lipid, MDA, sialic acid.

#### **1. Pendahuluan**

Diabetes melitus (DM) termasuk masalah kesehatan yang serius karena mortalitas dan morbiditasnya yang tinggi baik di dunia maupun di Indonesia. Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) bahwa penderita DM di dunia dari 382 juta orang pada tahun 2013 menjadi 592 juta orang pada tahun 2035 [1]. Di negara berkembang seperti Indonesia, penderita DM terus

meningkat [2]. Di Indonesia, penderita DM terdapat sekitar 8,5 juta orang pada tahun 2013 dan meningkat sekitar 14,1 juta orang pada tahun 2035. Hal ini menjadikan Indonesia sebagai negara urutan ketujuh setelah Tiongkok, India, Amerika, Brazil, Rusia dan Meksiko dengan prevalensi DM tertinggi dan diperkirakan menempati urutan keenam pada tahun 2035.

Dari semua kasus DM, Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) dianggap memiliki prevalensi tertinggi sekitar 90-95%. DMT2 merupakan penyakit metabolik yang ditandai adanya hiperglikemia kronis dan abnormalitas metabolisme karbohidrat, protein dan lipid akibat gangguan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya, yang berkontribusi terhadap stress oksidatif dan proses inflamasi [3, 4, 5].

Stres oksidatif terjadi karena menurunnya aktivitas antioksidan dan meningkatnya produksi radikal bebas *reactive oxygen species* (ROS) [6]. ROS bersifat sangat reaktif dan memiliki masa hidup yang lama sehingga dapat menyerang, memodifikasi dan merusak semua biomolekul seluler, termasuk *deoxyribonucleic acid* (DNA), *ribonucleic acid* (RNA), karbohidrat, protein, dan lipid membrane [7,8]. Beberapa komponen lipid membran sel, terutama glikolipid, kolesterol, dan *polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) dari residu fosfolipid, diketahui menjadi target modifikasi dan kerusakan oksidatif oleh ROS [9]. Interaksi ROS dengan lipid membran menyebabkan dan meningkatkan peroksidasi lipid yang menghasilkan pembentukan aldehid-aldehid dengan gugus karbonil terminal yang reaktif seperti 4-hidroksi-2-nonenal (HNE), akrolein, dan malondialdehid [10,11]. Produk biomolekul yang teroksidasi oleh ROS ini sering digunakan sebagai *marker* untuk mendeteksi aktivitas stres oksidatif dalam sel.

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu hasil akhir dari reaksi berantai dari peroksidasi lipid yang ditemukan meningkat pada DMT2 [10,12]. Peningkatan konsentrasi MDA dilaporkan seiring meningkatnya kadar glukosa plasma dan durasi menderita penyakit DM, serta pada kondisi inflamasi [13,14]. Kadar MDA yang meningkat dapat mengubah integritas struktur membran sel, memicu kerusakan sel, dan menyebabkan pelepasan mediator proinflamasi [10,15].

Peningkatan produksi MDA juga berpotensi mengaktifasi PKC yang terlibat dalam pelepasan sitokin proinflamasi [16]. Peningkatan sitokin proinflamasi menstimulasi sintesis protein-protein fase akut di hati, termasuk jenis glikoprotein fase akut yang mengandung residu asam sialat, seperti asam  $\alpha$ -1-glikoprotein (orosomukoid),  $\alpha$ -1-antitripsin, haptoglobin, dan fibrinogen [17,18,19]. Oleh karena itu, peningkatan konsentrasi asam sialat dalam darah digunakan sebagai salah satu petanda yang potensial untuk DM [19,20].

Asam sialat merupakan derivat asam N-asetil neuraminat yang terletak pada posisi terminal rantai oligosakarida sebagai penyusun glikolipid atau glikoprotein yang ditemukan dalam cairan biologi dan membran-membran sel [14,19,21,22]. Asam sialat memiliki peran sentral dalam sistem biologis antara lain : 1) menjaga fungsi, stabilitas, dan kelangsungan hidup glikoprotein dalam sirkulasi darah, 2) menstabilkan konformasi membran sel, 3) bertindak sebagai komponen sisi pengikatan berbagai patogen dan toksin, 4) bertindak sebagai kofaktor beberapa reseptor permukaan sel seperti *insulin receptor-2*, dan 5) sebagai antioksidan dengan menangkap H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan mengubahnya menjadi H<sub>2</sub>O [14,18,21,23].

Meskipun mekanisme peningkatan asam sialat masih belum jelas, namun terdapat kemungkinan lain yang meningkatkan kadar asam sialat ke sirkulasi, yaitu melalui perubahan glikobiokimia membran [24,25]. Hal ini karena peningkatan kadar asam sialat juga mengindikasikan eksistensi kerusakan membran sel [26]. Peroksidasi lipid yang dimediasi stres oksidatif merupakan mekanisme utama yang menandai destruksi membran sel dan kerusakan sel [23]. Oleh karena itu, peroksidasi lipid dianggap berhubungan dengan pelepasan asam sialat dari permukaan membran sel yang mengalami perubahan selama stres oksidatif, sehingga ikut meningkatkan asam sialat ke sirkulasi.

Penelitian mengenai hubungan spesifik antara kadar asam sialat serum dan MDA pada penderita DMT2 masih terbatas, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut yang diharapkan dapat memberikan petunjuk alternatif untuk teori jalur metabolik terkait hubungan keduanya yang

menggambarkan keberadaan stres oksidatif dan status inflamasi yang terlibat pada patogenesis DMT2.

## **2. Bahan dan Metode**

### *2.1. Jenis dan Rancangan Penelitian*

Rancangan penelitian yaitu studi kasus-kontrol kategorik-numerik tidak berpasangan, yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara tingkat peroksidasi lipid dengan kadar asam sialat dari serum penderita DMT2 (sebagai kasus) 35 orang dan subjek non-DMT2 (sebagai kontrol) 35 orang.

### *2.2. Subjek Penelitian*

2.2.1 Subjek kasus adalah pasien DMT2 dengan kriteria inklusi yaitu berusia 30-60 tahun dan kadar glukosa darah puasa (GDP)  $\geq 126$  mg/dL (11,11 mmol/L), sedangkan kriteria eksklusinya yaitu riwayat merokok, kehamilan, dan alkoholik.

2.2.2 Subjek kontrol adalah individu sehat dengan kriteria inklusi yaitu berusia 18-24 tahun, kadar glukosa darah puasa (GDP)  $\leq 110$  mg/dL dan tanpa riwayat keluarga DM, sedangkan kriteria eksklusinya disamakan dengan karakteristik eksklusi subjek kasus.

### *2.3. Lokasi Penelitian*

Pengambilan sampel darah, untuk kasus dilakukan di bagian Instalasi Rawat Jalan (IRJ)/Poliklinik Penyakit Dalam pada RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta, RS Akademik UGM Yogyakarta, dan RS Bethesda Lempuyangwangi Yogyakarta. Sedangkan sampel darah untuk kontrol diperoleh dari Laboratorium Biokimia FK UGM. Laboratorium Biokimia FKMK UGM sebagai tempat penentuan kadar glukosa darah, malondialdehid serum dan asam sialat serum.

### *2.4. Bahan Penelitian*

Bahan untuk pemeriksaan glukosa darah adalah reagen *glucose oxydase-para-amino phenazone* (GOD-PAP) yang mengandung buffer fosfat (pH=7) 250 mmol/L, fenol 5 mmol/L, 4-aminoantipirin 0,5 mmol/L, glukosa oksidase (GOD)  $\geq 10$  kU/L, peroksidase (POD)  $\geq 1$  kU/L, dan larutan glukosa (sebagai standar) 100 mg/dL.

Bahan untuk pemeriksaan kadar MDA serum yaitu reagen *thiobarbituric acid* (TBA) yang mengandung 1,5 mL asam asetat 20% (v/v) dibuffer pada pH = 3,5 dengan NaOH 0,1 N; 0,2 mL SDS 8,2% (b/v); dan 1,5 mL TBA 0,8% (b/v) yang diencerkan dengan aquabides sampai 4 mL, larutan ekstraksi butanol dalam fasa N-butanol, aquades, dan piridin (15:3:1, v/v), dan larutan 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) sebagai standar MDA.

Bahan yang digunakan untuk pemeriksaan kadar asam sialat total adalah 10 mg asam sialat standar (*N-acetyl neuraminic Acid*, NANA) dilarutkan dalam 100 mL aquabides, asam perklorat 5 % (7,14 mL asam perklorat 70-72% dilarutkan dalam 100 mL aquabides), dan reagen Ehrlich (5 g p-dimetilaminobenzaldehid dilarutkan dalam 50 mL HCl dan 50 mL aquabides).

### *2.5. Prosedur Penelitian*

#### *2.5.1. Tahap persiapan penelitian*

Pengajuan permohonan surat *ethical clearance*, permohonan ijin penelitian, koordinasi dengan pihak RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta, RS Akademik UGM Yogyakarta dan RS Bethesda Lempuyangwangi, menentukan subjek penelitian, memberikan penjelasan tujuan penelitian, meminta kepada calon subjek penelitian menandatangani *informed consent* serta menjawab kuisioner yang diajukan peneliti, dan kemudian pengambilan darah.

#### *2.5.2. Skrining*

Skrining data dilakukan terhadap subjek penelitian untuk menentukan kelompok kasus dan kelompok kontrol berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

2.5.3. *Pengambilan dan preparasi sampel darah*

Sebanyak 5 mL sampel darah vena dari subjek, diambil pada pagi hari setelah malam hari berpuasa paling sedikit selama 8-12 jam, yang dilakukan sesuai aturan kesepakatan antara subjek dan peneliti. Sampel darah ditampung dan disentrifugasi untuk mendapatkan plasma atau serum, lalu ditempatkan ke dalam tiga tabung berbeda yang dilabeli sesuai jenis sampel dan tujuan pemeriksaan. Tabung pertama berisi sampel plasma yang digunakan untuk menghitung kadar glukosa darah (dilabeli kode PlaGlu), tabung kedua untuk mengukur konsentrasi malondialdehida serum (dilabeli kode SerMDA), dan sampel tabung ketiga untuk mengukur kadar asam sialat serum (dilabeli kode SerAS).

Preparasi sampel plasma dilakukan dengan prosedur yaitu sebanyak 2 ml darah ditampung dalam mikrotube *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Plasma yang terbentuk kemudian dipisahkan ke dalam mikrotube 0,5 mL menggunakan mikropipet dan tip yang sesuai, lalu tabung dilabeli dengan kode sampel PlaGlu.

Preparasi sampel serum penelitian ini adalah sebanyak 5 mL darah ditampung pada tabung tanpa antikoagulan, kemudian disentrifugasi pada 1000 g selama 10 menit hingga terbentuk serum. Serum dipipet menggunakan mikropipet dan tip yang sesuai, lalu ditempatkan ke dalam dua mikrotube berbeda yang dilabeli kode SerMDA dan SerAS. Apabila belum dianalisis, serum disimpan pada suhu -20°C selama 15 hari. Setelah 15 hari, secara perlahan serum dipanaskan pada suhu ruang untuk memulai pengukuran kadar MDA dan ASS.

2.5.4. *Pemeriksaan Laboratorium*

2.5.4.1. *Analisis kadar glukosa darah metode GOD-PAP*

Analisis kadar glukosa darah berdasarkan metode *glucose oxydase-para-amino phenazone* (GOD-PAP). Sebanyak 10 µL sampel plasma, blanko (aquades) dan standar, dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung berbeda dengan kode PlaGlu (sampel), AQ (Aquades), dan ST (standar). Pada setiap tabung ditambahkan 1000 µL reagen GOD-PAP. Campuran divortex selama 30 detik, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Absorbansi (A) diukur secara spektrofotometri pada  $\lambda$  sekitar 500 nm. Kemudian kadar glukosa darah diperoleh melalui persamaan :

$$\text{Glukosa (mg/dL)} = \frac{A \text{ sampel} - A \text{ blanko}}{A \text{ standar} - A \text{ blanko}} \times \text{Konsentrasi standar}$$

2.5.4.2. *Analisis kadar malondialdehida serum metode TBARS*

Tingkat peroksidasi lipid ditentukan melalui pemeriksaan malondialdehida (MDA) serum menggunakan modifikasi metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS). Sebanyak 200 µL sampel serum, blanko (aquades) dan standar (1,1,3,3-tetramethoxypropane, TMP) dipipet lalu dimasukkan ke dalam tabung berbeda yang dilabeli kode SerMDA (sampel), AQ (Aquades), dan TMP (standar). Pada setiap tabung ditambahkan 10 mL reagen TBA. Setiap campuran diinkubasi pada *water bath* (suhu 90°C) selama 60 menit kemudian didinginkan dalam air es selama 10 menit. Campuran diekstraksi dengan penambahan 5 mL reagen ekstraksi butanol. Campuran divortex agar homogen

lalu disentrifus pada 4000 rpm selama 15 menit. Kromogen (supernatan) dari bagian atas lapisan campuran, diambil untuk pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 510 nm, 532 nm dan 560 nm.

Absorbansi Aktual (AA) sampel, standar dan blanko dihitung dengan rumus :

$$AA_{(\text{sampel/standar/blanko})} = 1.22 [(A_{532}) - (0.56) \times (A_{510}) + (0.44) \times (A_{560})]$$

Kadar MDA serum ditetapkan dengan rumus :

$$\text{MDA (mmol/L)} = \frac{\text{AA sampel} - \text{AA blanko}}{\text{AA standar} - \text{AA blanko}} \times 10 \text{ mmol/L}$$

#### 2.5.4.3. Analisis kadar asam sialat serum

Asam sialat total ditentukan secara kolorimetri yang melibatkan p-dimetilaminobenzaldehida (disebut juga reagen Ehrlich). Prinsip kerja metode ini meliputi tahap hidrolisis, kondensasi (kolorisasi), dan kuantifikasi. Reaksi hidrolisis merupakan proses pelepasan asam sialat terikat dari serum darah oleh asam kuat (asam perklorat, asam sulfat, atau asam hidroklorat) atau dengan cara enzimatis (neuraminidase). Hidrolisis melalui pemanasan dengan asam kuat akan menghasilkan presipitasi yang dapat dipisahkan melalui sentrifugasi dan dekantasi supernatan. Supernatan yang mengandung asam sialat kemudian dipanaskan dengan reagen Ehrlich sehingga membentuk larutan berwarna ungu yang akan berubah menjadi merah muda setelah penambahan air. Absorbansi warna dibaca pada 525 nm yang sebanding dengan konsentrasi asam sialat total dalam serum [18].

### 3. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan surat kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada dengan nomor Ref: KE/FK/1276/EC/2015 tanggal 16 Oktober 2015, surat perizinan rekrut subjek penelitian dari RSUP Dr Sarjito, RS Akademik UGM dan RS Bethesda Lempuyangwangi, serta lembar *informed consent* yang ditandatangani oleh setiap calon subjek.

Profil subjek penelitian ditabulasikan ke dalam tiga karakteristik yaitu variabel (meliputi jenis kelamin, usia, IMT, tekanan darah dan GDP), kelompok kontrol (non-DM) dan kelompok DMT2, sedangkan nilai data dari setiap karakteristik disajikan dalam bentuk kategorik (jumlah dan persentase) dan bentuk kontinu (rerata  $\pm$  SD, median dan nilai p), seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Profil Subjek Penelitian**

Variabel	Kelompok		Nilai p
	Kontrol (n = 35)	DMT2 (n = 35)	
Jenis kelamin			
Laki-laki (%)	12(34,29%)	13(37,14%)	-
Perempuan (%)	23(65,71%)	22(62,86%)	-
Usia (tahun)*	20,0(18,0-57,0)	54,0(39,0-60,0)	0,000***
IMT (kg/m <sup>2</sup> )	20,87 $\pm$ 3,19	25,32 $\pm$ 3,19	0,000**
Tekanan darah			

Variabel	Kelompok		Nilai <i>p</i>
	Kontrol (n = 35)	DMT2 (n = 35)	
Sistolik (mmHg)	113,54±12,53	130,14±20,57	0,000**
Diastolik (mmHg)	74,0(60-100)	80,0(59,0-95,0)	0,031***
GDP (mg/dL)*	73,78(30,66-152,08)	135,89(186,77-298,15)	0,000***
MDA (mmol/L)*	4,78(0,37-28,41)	6,54(4,33-54,09)	0,109***
Asam Sialat serum (mg/dL)*	74,00(52,00-187,33)	82,25(38,75-160,50)	0,026***

Data dilaporkan sebagai jumlah(%), rerata±simpangan baku, dan median(minimum-maksimum) \*data diambil dari uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* setelah transformasi tidak menormalkan data, \*\**independent-t test* dan \*\*\**Mann-Whitney test*,  $p < 0,05$  : berbeda bermakna. IMT: indeks massa tubuh. GDP: glukosa darah puasa. MDA : Malondialdehid.

Hasil analisis statistik diperoleh perbedaan bermakna pada semua variabel karena diperoleh nilai  $p < 0,05$ . Jenis kelamin yang banyak ditemukan dalam penelitian ini adalah wanita. Menurut Arnetz *et al.* (2014) meskipun perbedaan jenis kelamin masih belum jelas, dan pedoman pengobatan DM tidak membedakan jenis kelamin. Kemungkinan penyebab hasil penelitian yang berbeda terkait jenis kelamin adalah perbedaan fisiologis, dalam respon pengobatan, dan faktor patofisiologis hormonal [34].

Faktor risiko utama DMT2 lainnya adalah usia. Usia termasuk variabel yang dikontrol karena dengan bertambahnya umur, risiko untuk menderita suatu penyakit cenderung meningkat. Tabel 1 menunjukkan bahwa mayoritas subjek penelitian untuk DMT2 berada pada usia 46-60 tahun (88,57%) lebih banyak dibandingkan usia 18-45 tahun (11,43%). Usia yang diperoleh pada penelitian ini dapat menggambarkan pengetahuan dan informasi tentang DM meningkat pada 46-60 tahun dibandingkan usia 18-45 tahun, sehingga kepedulian dan kepatuhan diri terhadap pemeriksaan DM lebih banyak ditemukan pada usia 46-60 tahun dibandingkan usia 18-45 tahun.

Subjek DMT2 adalah pasien DMT2 yang memiliki kadar GDP  $\geq 126$  mg/dL [35]. Hasil skrining menunjukkan kadar GDP signifikan meningkat pada DMT2 dibandingkan kontrol. Peningkatan ini menunjukkan adanya hiperglikemia yang mungkin berimbas terhadap perubahan metabolisme oksidatif dan glikobiokimia membran pada individu DMT2. Oleh karena itu, penelitian dilanjutkan dengan mengkaji hubungan perubahan metabolisme tersebut di bawah pengaruh hiperglikemia melalui pemeriksaan kadar MDA dan asam sialat serum.

### 3.1 Perbedaan Kadar MDA Antar Kelompok

Pengamatan rerata kadar MDA serum antar kelompok bertujuan melihat perbedaan derajat lipid peroksidasi dan status stres oksidatif dalam tubuh setiap kelompok dibawah kondisi hiperglikemia. Kadar MDA yang ditemukan lebih rendah pada kelompok kontrol daripada kelompok DMT2. Namun, ketika dibandingkan kadar MDA antara subjek kontrol dan pasien DMT2, secara statistik tidak diperoleh perbedaan yang bermakna (nilai  $p > 0,05$ ).

**Tabel 2. Perbedaan Kadar MDA (mmol/L) Antar Kelompok**

Kelompok		Median (Minimum-Maksimum)	Nilai <i>p</i>
MDA	Kontrol (n=35)	4,78(0,37-28,41)	0,109*
	DMT2 (n=35)	6,54(4,33-54,09)	

\*Uji Mann-Whitney

Peningkatan kadar MDA mengindikasikan adanya stres oksidatif yang disebabkan oleh aktivitas ROS yang meningkat sehingga menyebabkan peroksidasi pada komponen lipid membran seluler.

Penelitian tentang pemeriksaan status peroksidasi lipid pada sampel penderita DMT2 pernah dilakukan terutama di beberapa negara yang memiliki prevalensi DM tertinggi. Di Tiongkok, Chen *et al.* (2012) menemukan kadar MDA serum DMT2 ( $3,69 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$ ) lebih tinggi dibandingkan kontrol ( $2,87 \pm 0,63 \mu\text{mol/L}$ ) dengan  $p < 0,01$  [36]. Di India, Khemka *et al.* (2014) menemukan kadar MDA serum signifikan lebih tinggi pada DMT2 non-obes ( $3,21 \pm 1,84 \text{ nmol/L}$ ) dibandingkan kontrol ( $2,05 \pm 0,99 \text{ nmol/L}$ ) dengan  $p < 0,0001$  [37]. Di Meksiko, Jimenez-Osorio *et al.* (2014) mendapatkan kadar MDA plasma pasien DMT2 tanpa glukosa terkontrol ( $3,5 \pm 1,5 \mu\text{M}$ ) lebih tinggi dibandingkan pasien DMT2 dengan glukosa terkontrol ( $3,07 \pm 1,5 \mu\text{M}$ ) dengan  $p < 0,05$  [38].

Perbedaan konsentrasi MDA yang dilaporkan pada berbagai hasil penelitian tersebut, dimungkinkan karena pengaruh beberapa faktor. Beberapa faktor tersebut adalah kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan oleh masing-masing peneliti berbeda, penggunaan metode penelitian dan hasil pemeriksaan yang diekspresikan untuk pemeriksaan tingkat peroksidasi lipid juga berbeda, disertai letak geografis, sosio-ekonomi dan etnik dari setiap negara yang ikut mempengaruhi pola hidup subjek.

Menurut Farhan (2015), peroksidasi lipid dan hiperglikemia merupakan suatu hubungan yang menggambarkan progresivitas penyakit dan perkembangan komplikasi kronis pada DM berdasarkan korelasi antara kadar MDA serum dan glukosa puasa. Hal ini dikarenakan MDA berperan aktif terhadap onset atau perkembangan aterosklerosis terkait abnormalitas metabolisme lipid, sehingga pengaturan glukosa darah merupakan faktor yang sangat penting untuk menurunkan atau mencegah pembentukan peroksidasi lipid pada pasien DMT2 yang memungkinkan dapat menunda progresivitas komplikasi DM [39].

### 3.2 Kadar asam sialat serum antar kelompok

Pemeriksaan asam sialat serum antar kelompok bertujuan untuk menilai perbedaan gambaran destruksi membran sel dan tingkat respon fase akut yang dimediasi stres oksidatif melalui perbedaan mekanisme hiperglikemia yang terjadi pada kelompok kontrol dan DMT2.

Hasil studi menunjukkan kadar asam sialat serum ditemukan lebih rendah pada kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok DMT2. Ketika kadar asam sialat serum dibandingkan pada kedua kelompok, secara statistik diperoleh perbedaan bermakna (nilai  $p < 0,05$ ). Perbandingan tingkat asam sialat serum kedua grup disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Perbedaan Kadar Asam Sialat Serum (Mg/Dl) Antar Kelompok**

Kelompok		Median (Minimum-Maksimum)	Nilai p
Asam sialat serum	Kontrol (n=35)	74,00(52,00-187,33)	0,026*
	DMT2 (n=35)	82,25(38,75-160,50)	

\*Uji Mann-Whitney

Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya yang melaporkan adanya peningkatan kadar asam sialat serum pada pasien DMT2. Abdella *et al.* (2000) menemukan kadar AST lebih tinggi secara signifikan ( $p < 0,001$ ) pada DMT2 yaitu  $81,2 \pm 13,2 \text{ mg/dL}$  dibandingkan kontrol  $66,9 \pm 11,0 \text{ mg/dL}$  [40]. Prathiroopa *et al.* (2015) menemukan kadar AST pada DMT2 adalah  $73,08 \pm 4,9 \text{ mg/dL}$ , sedangkan pada kontrol  $52,1 \pm 3,98 \text{ mg/dL}$  [41]. Subzwari *et al.* (2010) menemukan kadar AST pada DMT2 tanpa komplikasi  $55,05 \pm 2,9 \text{ mg/dL}$  dan DMT2 dengan komplikasi nefropati  $85,05 \pm 2,7 \text{ mg/dL}$ , lebih tinggi dibandingkan dengan subjek non DM  $46 \pm 2,08 \text{ mg/dL}$  [42].

Meskipun mekanisme peningkatan asam sialat serum selama proses DM masih belum jelas, namun terdapat dua jalur biokimia yang memungkinkan kadar asam sialat serum meningkat pada DMT2, pertama melalui kerusakan membran sel yang berlebihan dan kedua melalui kondisi respon fase akut terkait proses inflamasi [26,43,44].

Berdasarkan hal tersebut, peningkatan kadar asam sialat terkait destruksi membran yang berlebihan, diduga melalui pelepasan secara spontan (*shedding*) atau sekresi asam sialat bebas dari sel atau permukaan membran sel ketika kadar neuraminidase meningkat, atau terlepasnya glikolipid dan/atau glikoprotein yang mengandung asam sialat ke dalam plasma [45].

Jalur kedua yang mungkin meningkatkan asam sialat serum adalah melalui kondisi respon fase akut terkait proses inflamasi. Hiperglikemia kronis pada DMT2 dapat menyebabkan aktivasi jalur inflamasi melalui stres oksidatif. Dalam kondisi inflamasi, kadar asam sialat meningkat di sirkulasi [18,46]. Menurut Divija (2010), asam sialat dapat dilepaskan dalam rantai terminal oligosakarida dari glikoprotein dan glikolipid pada fase akut inflamasi [28].

Peningkatan asam sialat serum selama proses inflamasi merupakan konsekuensi meningkatnya kadar glikoprotein fase akut tersialat, yang diproduksi oleh hati melalui stimulasi sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-2 dan TNF [22,47]. Selama respon inflamasi, sitokin menyebabkan perubahan glikosilasi protein pada serum dan membran sel [48,49,50]. Selain itu, stres oksidatif diduga ikut memediasi peningkatan sialiasi dan penurunan desialiasi pada glikoprotein plasma [21,51]. Menurut Swithraa *et al.* (2014), stres oksidatif akibat hiperglikemia kronis pada DM mungkin menyebabkan generasi fraksi asam sialat terikat protein [51]. Perubahan glikosilasi pada glikoprotein fase akut ini menyebabkan pemutusan residu asam sialat [52]. Respon fase akut yang dimediasi sitokin merupakan suatu bagian integral dari patofisiologi DMT2, yang mengakibatkan kadar asam sialat serum meningkat [18,53].

### 3.3 Hubungan kadar MDA dan asam sialat serum pada DMT2

Hubungan antara tingkat asam sialat dan MDA menunjukkan korelasi negatif bermakna sesuai yang ditunjukkan pada tabel 2 berikut.

**Tabel 4. Hubungan antara MDA dan Asam Sialat Serum pada T2DM**

MDA vs asam sialat serum	T2DM	p value
r	-0,309	0,071*
n	35	

\* Spearman correlation test

Studi mengenai hubungan MDA dan asam sialat serum (dalam bentuk total dan terikat) pada berbagai kondisi fisiologis dan patologis lainnya, juga telah banyak didokumentasikan.

Kurtul dan Gokpinar (2012) menemukan hubungan positif antara MDA dan AST saliva pada kelompok kontrol ( $r = 0,722$ ) dan perokok ( $r = 0,517$ ) yang berbeda bermakna secara statistik ( $p < 0,001$ ) [14]. Khaki-Khatibi *et al.* (2016) melaporkan adanya hubungan positif ( $r = 0,62$ ) yang signifikan antara MDA-LDL (*malondialdehyde-modified low density lipoprotein*) dan AST pada subjek dengan penyakit arteri koroner [54]. Swithraa *et al.* (2014) menemukan hubungan positif ( $r = 0,23$ ) yang signifikan ( $p = 0,014$ ) antara MDA dan asam sialat terikat protein [51]. Renju *et al.* (2012) menemukan hubungan positif ( $r = 0,767$ ) yang signifikan antara MDA dan AST pada kelompok pasien DMT2 [46].

Pada penelitian ini menunjukkan adanya hubungan negatif (berlawanan), yang berarti semakin tinggi kadar AST maka kadar MDA semakin rendah atau sebaliknya. Secara statistik, kekuatan hubungan keduanya pada DMT2 dianggap lemah dan tidak terdapat korelasi bermakna karena nilai  $p > 0,05$ .



Hubungan tersebut dimungkinkan karena asam sialat merupakan suatu molekul pertahanan yang berpotensi melawan kerusakan oksidatif dan kematian sel yang disebabkan oleh H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [47]. Asam sialat memiliki sifat antioksidan sebagai *scavenger* H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan radikal hidroksil [23,55].

Hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) merupakan salah satu ROS yang dibentuk selama stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan membran sel [56]. Konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dilaporkan meningkat empat kali lipat pada DMT2 dibandingkan kontrol [57]. Senyawa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> memiliki efek toksik terhadap sel baik secara langsung maupun melalui degradasi radikal-radikal hidroksil (OH<sup>•</sup>), yang mungkin bereaksi dengan ion logam besi atau tembaga (Cu) dalam sitosol dan dalam membran biologi, membentuk aldehid stabil seperti MDA, yang merusak membran sel [58,59]. Penelitian yang dilakukan oleh Bhattacharjee *et al.* (2015) menemukan bahwa terdapat hubungan positif antara kadar asam sialat serum dan kadar Cu yang dilaporkan lebih tinggi pada pasien DMT2 dibandingkan control [18].

Penurunan kadar MDA dimungkinkan karena ketika ROS seperti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menyerang suatu sel, sebelum melewati membran, asam sialat yang berlokasi di permukaan sel akan menangkap sebagian ROS, sehingga kemungkinan proses peroksidasi pada lipid membran mengalami perlambatan atau terhambat, yang menyebabkan produk peroksidasi lipid, dan/atau sebagian MDA yang terbentuk, diduga bereaksi dan menstimulasi aktivasi jalur inflamasi. Peningkatan AST dimungkinkan karena ketika asam sialat berperan sebagai antioksidan, beberapa asam sialat diduga akan diperbarui, diproduksi dan disekresi kembali untuk memperbaiki dan mengganti sebagian asam sialat yang mengalami *shedding* akibat efek toksik ROS.

Penelitian yang dilakukan oleh Renju *et al.* (2012) membuktikan bahwa peningkatan glukosa darah memainkan peran dalam patogenesis stres oksidatif yang menyebabkan menurunnya kekuatan antioksidan total [46]. Peningkatan aktivitas antioksidan kemungkinan merupakan suatu respon regulasi kompensasi terhadap peningkatan stres oksidatif. Oleh karena itu, kadar AST meningkat paralel terhadap stres oksidatif, yang mendukung peran asam sialat sebagai suatu antioksidan [23].

#### **4. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil analisis kadar MDA dan asam sialat serum pada pasien DMT2 dan kontrol, ditemukan bahwa tingkat MDA dan asam sialat serum lebih tinggi pada pasien DMT2 dibandingkan subjek non-DM, tetapi secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna. Adapun hubungan antara MDA dan asam sialat pada DMT2 ditemukan korelasi negatif yang bermakna.

#### **Daftar Pustaka**

- [1] International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas 6<sup>th</sup> edition*, 2013.
- [2] Novo, Nordisk, 2013. *The Blueprint for Change Programme Series Changing Diabetes in Indonesia*. Novo Nordisk, Denmark.
- [3] Torres, Y.C., Katholi, R.E., 2014. Novel Treatment Approaches in Hypertensive Type 2 Diabetic Patients. *W. J. Diab.* 5(4):536-545.
- [4] Kutmon, M., Evelo, C.T., Coort, S.L., 2014. A Network Biology Workflow to Study Transcriptomics Data of The Diabetic Liver. *BMC Genom.* 5:971-981.
- [5] Li, Z., Geng, Ya-Na., Jiang, Jian-Dong., Kong, Wei-Jia., 2014. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Berberine in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Evi-Based Comp. Alter. Med.* :1-12.
- [6] Taheri, E., Djalali, M., Saedisomeolia, A., Moghadam, A.M., Djazayeri, A., Qorbani, M., 2012. The Relationship between the Activates of Antioxidant Enzymes in Red blood Cells and Body Mass Index in Iranian Type 2 Diabetes and Healthy Subjects. *J. Diab. Metab. Disord.* 11(3):1-5.
- [7] Tejasvi, M.L.A., Bangi, B.B., Geetha, P., Avinash, C.K.A., Chittaranjan, B., Bhayya, H., Donempudi, P., 2014. Estimation of Serum Superoxide Dismutase and Serum Malondialdehyde in Oral Submucous Fibrosis: A Clinical and Biochemical Study. *J. Can. Res. Therap.* 10(3):722-725.
- [8] Frohnert, B.I., Bernlohr, D.A., 2013. Protein Carbonylation, Mitochondrial Dysfunction, and Insulin Resistance. *Adv. Nutr.* 4: 157-163.
- [9] Ayala, A., Munoz, M.F., Arguelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longevity.* :1-31.

- [10] Salem, M., Kholoussi, S., Kholoussi, N., Fawzy, R., 2011. Malondialdehyde and Trace Element Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Arc. Hell. Med.* 28(1):83-88.
- [11] Pizzimenti, S., Ciamporero, E., Daga, M., Pettazzoni, P., Arcaro, A., Cetrangolo, G., Minelli, R., Dianzani, C., Lepore, A., Gentile, F., Barrera, G., 2013. Interaction of Aldehydes Derived from Lipid Peroxidation and Membrane Proteins. *Front. Physiol.* 4(242):1-17.
- [12] Kundu, D., Roy, A., Mandal, T., Bandyopadhyay, U., Ghosh, E., Ray, D., 2013. Relation of Iron Stores to Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. *Nig. J. Clin. Practice.* 16(1):100-103.
- [13] Bhutia, Y., Ghosh, A., Sherpa, M.L., Pal, R., Mohanta, P.K., 2011. Serum Malondialdehyde Level: Surrogate Stress Marker in the Sikkimese Diabetics. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* 2(1):107-112.
- [14] Kurtul, N., Gokpinar, E., 2012. Salivary Lipid Peroxidation and Total Sialic Acid Levels in Smokers and Smokeless Tobacco Users as Maras Powder. *Med. Inflamm.* :1-8.
- [15] Jayasekharan, V.P., Ramya, R., Rajkumar, K., Kumar, T.D., Nandhini, G., Kumar, S.S., 2014. Estimation of Nitric Oxide and Malondialdehyde in Serum and Saliva of Patients with Oral Lichen Planus. *J. Res. in Dental Sci.* 5(4):230-236.
- [16] McCaskill, M.L., Kharbanda, K.K., Tuma, D.J., Reynolds, J., DeVasure, J., Sisson, J.H., Wyatt, T.A., 2011. Hybrid Malondialdehyde and Acetaldehyde Protein Adducts form in the Lungs of Mice Exposed to Alcohol and Cigarette Smoke. *Alc. Clin. Exp. Res.* 35(6):1106-1113.
- [17] Rasmi, Y., Golizadeh, M., Valizadeh, N., Saleh-Moghaddam, M., 2014. Systemic Low-Grade Inflammation in Siblings of Type 2 Diabetic Patients. *ScienceAsia* 40. :285-289.
- [18] Bhattacharjee, D., Chakroborti, G., Bhattacharya, G.C., Ravi, B.V., 2015. Study of Serum Sialic Acid and Copper as Inflammatory Markers in Type 2 Diabetes Mellitus. *Ind. Med. Gaz.* :13-18.
- [19] Ali, L.A., Ali, D.M., Mahdi, A.G., 2015. Serum Sialic Acid in Non-Insulin Dependent Diabetic Mellitus Patients with Microvascular Complications. *J. Appl. Chem.* 4(1):154-159.
- [20] Hedge, M.N., Sucheta, K., Nidarsh, H., Mahesh, B., Asiyath, S., 2013. A Comparative Study of Myeloperoxidase and Sialic Acid Level in Diabetic Smokers and Non Smokers with Dental Caries. *J Adv. Res. Bio. Sci.* 5(4):409-412.
- [21] Oktay, S., Uslu, L., Batirel, S., Emekli, N., 2014. The Function of Sialic Acid as a Radical Scavenger in Experimental Hypothyroidism with and without Hyperlipidemia. *J. Surg. Arts.* 7(2):75-79.
- [22] Mahendran K, B., Gnanadesigan E, Kumara D, R., Babu M, F., 2013. Evaluation of Sialic Acid Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Dent. Med. Sci.* 5(1):33-36.
- [23] Mohan, S.K., Priyav, V., 2010. Serum Total Sialic Acid, Lipid Peroxidation, and Glutathione Reductase Levels in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Turk J. Med. Sci.* 40 (4): 537-540.
- [24] Rahman, I.U., Bashir, M., Salman, M., Idrees, M., Khan, M.I., 2011. Bitter Melon (*Momordica Charantia*) Reduces Serum Sialic Acid in Type 2 Diabetics: Evidence to Delay the Process of Atherosclerosis. *Chin. Med.* 2:125-129.
- [25] Ruhaak, L.R., Zauner, G., Huhn, C., Bruggink, C., Deelder, A.M., Wuhrer, M., 2010. Glycan Labeling Strategies and their Use in Identification and Quantification. *Anal. Bioanal. Chem.* 397:3457-81.
- [26] Nayak, B.S., Duncan, H., Laloo, S., Maraj, K., Matmungal, V., Matthews, F., Prajapati, B., Samuel, R., Sylvester, P., 2008. Correlation of Microalbumin and Sialic Acid with Anthropometric Variables in Type 2 Diabetic Patients with and without Nephropathy. *Vasc. Heal. Risk Manag.* 4(1):243-247.
- [27] Rathod, S.R., Khan, F., Kolte, A.P., Gupta, M., 2014. Estimation of Salivary and Serum Total Sialic Acid Levels in Periodontal Health and Disease. *J. Clin. Diag. Res.* 8(9):19-21.
- [28] Divija, D.A., Rajeshwari, A., Nusrtah, A., 2013. Evaluation of Serum Sialic Acid and Microalbuminuria in Diabetic Nephropathy. *Int. J. Rec. Tren. Sci. Tech.* 3(8):219-223.
- [29] Pradeep M.R., Deepa K., Kumar S.M., S., Kumar, D.V., Sujith R., 2014. Serum and Salivary Sialic Acid and L-Fucose as Prognostic Markers in Potentially Malignant Disorders and Oral Cancer. *Uniq. J. Med. Dent. Sci.* 02(04):76-83.
- [30] Erdogan, H.M., Karapehliyan, M., Cital, M., Atakis, O., Uzlu, E., Unver, A., 2008. Serum Sialic Acid and Oxidative Stress Parameters Changes in Cattle with Leptospirosis. *Vet. Res. Commun.* 32:333-339.
- [31] Kumar, A., Dhillon, B.S., Rao, D.N., Menon, G., Shankar, H., Dhaliwal, L.K., Leema, M., Chandhiok, N., Kumar, N., Sehgal, R., Mittal, S., Sahdev, S., Shobha, K., Jinda, V.L., 2012. Temporal Trends of Malondialdehyde in Stored Human Plasma. *Ind. J. Clin. Biochem.* 27(4):405-409.
- [32] Khurshid, M.U., Munir, N., 2009. Total Serum Sialic Acid (TSSA) in Selective Patients of Diabetes Mellitus (DM). *Annals* 14(2):46-49.
- [33] Jozwik, M., Wolczynski, S., Jozwik, M., Szamatowicz, M., 1999. Oxidative Stress Markers in Preovulatory Follicular Fluid in Humans. *Mol. Hum. Repro.* 5(5):409-413.

- [34] Arnetz, L., Ekberg, N.R., Alvarsson, M., 2014. Sex differences in type 2 diabetes: focus on disease course and outcomes. *Dovepress*. 7:409-420.
- [35] American Diabetes Association, 2014. Standards of medical care in diabetes-2014. *Diab. Care*. 37 Suppl 1:14-80.
- [36] Chen S.C., Song G.Y., Sun Y., Liu N., 2012. The relationship between oxidative stress and endothelial progenitor cells count in the first-degree relatives of diabetes mellitus. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 51(3):197-200.
- [37] Khemka, V.K., Choudhuri, S., Ganguly, A., Ghosh, A., Bir, A., Banerjee, A., 2014. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Nonobese Type 2 Diabetes Mellitus. *Adv. Endoc.* :1-6.
- [38] Jimenez-Osorio, A.S., Picazo A., Gonzalez-Reyes, S., Barrera-Oviedo, D., Rodriguez-Arellano, M.E., Pedraza-Chaverri, J., 2014. Nrf2 and Redox Status in Prediabetic and Diabetic Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 15:20290-20305.
- [39] Farhan, L.O., 2015. Determination of Several Biochemical Parameters in Sera of Iraqi Patients with type 2 Diabetes. *Bagh. Sci. J.* 12(2).
- [40] Abdella N., Akanji A.O., Mojiminiyi O.A., Al Assoussi A., Moussa M., 2000. Relation of serum total sialic acid concentration with diabetic complications and cardiovascular risk factors in Kuwaiti type 2 diabetic patients [abstract]. *Diab. Res. Clin. Pract.* 50(1):65-72.
- [41] Prathiroopa, Kavyashree S.J., Ashwitha K.M., Babu T.V, S., Shantaram, M., 2015. Serum L-fucosa, total sialic acid and ceruloplasmin levels in type II diabetic subjects of Somwarpet Taluk-a preliminary study. *Int. J. Res. Phar. Bio.* 2(1):14-20.
- [42] Subzwari, M.J., Qureshi, M.A., Khan, A.A., Sodagar, F., Jehan, S., 2010. Relationship between sialic acid and microvascular complication in type 2 diabetes mellitus. *Proc. S.Z.P.G.M.I.*; 24(2):79-83.
- [43] [Prajna K.](#), [Kumar J. A.](#), [Rai, S.](#), [Shetty, S.K.](#), [Rai, T.](#), [Shrinidhi, Begum, M.](#), [Shashikala](#). 2013. Predictive Value of Serum Sialic Acid in Type-2 Diabetes Mellitus and Its Complication (Nephropathy). *J. Clin. Diag. Res.* 7(11):2435-2437.
- [44] Sudha R, Toora, B.D., Sarkar, G., Sarkar, M., 2012. Serum Sialic Acid in Relation to Erythrocyte Sedimentation Rate and HbA1c of Type 2 Diabetic Patients. *Nat. J. Basic Med. Sci.* 2(4):316-319.
- [45] Gokmen, S.S., Kazezoglu, C., Sunar, B., Ozcelik, F., Gungor, O., Yorulmaz, F., Gulen, S., 2006. Relation between serum sialic acid, sialic acid-rich inflammation-sensitive proteins and cell damage in patients with acute myocardial infarction. *Clin. Chem. Lab. Med.* 44(2):199-206.
- [46] Renju, V.C., Santha, K., Sethupathy, S., 2012. Oxidative stress, sialic acid and total antioxidant status in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int. J. Pha. Biosci.* 3(4):789-795.
- [47] Surapenehi K.M., Priya V.V., 2009. Altered serum total sialic acid, lipid peroxidation, ceruloplasmin and glutathione reductase levels in patients with carcinoma of prostate. *J. Clin. Diag. Res.* (3):1483-1485.
- [48] McCarthy, C., Saldova, R., Wormald, M.R., Rudd, P.M., McElvaney, N.G., Reeves, E.P., 2014. The Role and Importance of Glycosylation of Acute Phase Proteins with Focus on Alpha-1 Antitrypsin in Acute and Chronic Inflammatory Conditions. *J. Prot. Res.* 13:3131-3143.
- [49] Gornik, O., Lauc, G., 2008. Glycosylation of Serum Proteins in Inflammatory Diseases. *Dis. Mark.* 25:267-278.
- [50] Hemalatha, V.T., Austin, R.D., Manisundar, N., Sarumathi, T., Nisha, V.A., 2013. Evaluation of Salivary Sialic Acid in Patients With Different Clinico-Pathological Stages of Oral Leukoplakia and Oral Squamous Cell Carcinoma-A Cross Sectional Study. *Biosci. Biotech. Res. Asia* 10(1):419-425.
- [51] Swithraa, C., Sumathi S, S., Annapurna, K., Asmathulla, S., 2014. Evaluation of Oxidative Stress and Protein Bound Sialic Acid in Diabetes with and without Retinopathy. *Int. J. Rec. Trends Sci. Techno.* 13(1):183-186.
- [52] Gruszewska, E., Cylwik, B., Panasiuk, A., Szmitkowski, M., Flisiak, R., Chrostek, L., 2014. Total and Free Serum Sialic Acid Concentration in Liver Diseases. *BioMed Res. Inter.* :1-5.
- [53] Varma, V., Varma, M., Varma, A., Kumar, R., Bharosav, A., Vyas, S., 2016. Serum total sialic acid and highly sensitive C-reactive protein : prognostic markers for the diabetic nephropathy. *J. Lab. Physic.* 8(1):25-29.
- [54] Khaki-khatibi, F., Sadeghi, Z., Yaghoubi, A., Ashoori, M.R., Gharebaba, R.P., 2016. Relationship between serum levels of total sialic acid, MDA-LDL, and HS-CRP with extension of coronary artery disease, in nonsmokers and nondiabetic patients. *W. J. Pharm. Pharmac. Sci.* 5(2):294-305.
- [55] Shivashankara, A.R., Prabhu M, K., 2011. Salivary total protein, sialic acid, lipid peroxidation and glutathione in oral squamous cell carcinoma. *Biomed. Res.* 22(3):355-359.
- [56] Siddique, Y.H., Ara, G., Afzal, M., 2012. Estimation of lipid peroxidation induced by hydrogen peroxide in cultured human lymphocytes. *Int. Do. Resp. Soc.* 10:1-10.

- [57] Msolly, A., Miled, A., Kassab, A., 2013. Hydrogen peroxide : an oxidant stress indicator in type 2 diabetes mellitus. *J. Card. Dis.* 1(2):48-52.
- [58] Tiwari, B.K., Pandey, K.B., Abidi, A.B., Rizvi, S.I., 2013. Markers of Oxidative Stress during Diabetes Mellitus. *J. Biomark* :1-8.
- [59] Repetto, M., Semprine, J., Boveris, A., 2012. Lipid Peroxidation : Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. *InTech* :1-28.