

Klinik Araştırma

Hiperglisemik Glukoz Metabolizma Bozukluğu Olan Hastalarda Serum Malondialdehit, α -Tokoferol ve β -Karoten Düzeyleri

Murat ÜNALACAK^{a,1}, Hulusi ATMACA², Ahmet GÜREL³, Ferah ARMUTCU³, Nejat DEMİRCAN¹
Erol AKTUNÇ¹

¹ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı,

² Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı,

³ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ZONGULDAK

ÖZET

Amaç: Diabetes mellitus (DM), bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve bozulmuş açlık glukozu (BAG) olan hastalarda serum MDA, α -tokoferol ve β -karoten düzeylerinin değerlendirilmesi.

Gereç ve Yöntem: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Hastanesi Aile hekimliği ve Dahiliye polikliniklerine başvuran ve yapılan tetkiklerle DM, BGT ve BAG olduğuna karar verilen toplam 99 hasta ve 37 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrol gruplarına ait serum örneklerinde MDA, α -tokoferol ve β -karoten çalışıldı.

Bulgular: DM grubunun MDA düzeyi BGT, BAG ve kontrol gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunurken, α -tokoferol düzeyi kontrol grubundan, β -karoten düzeyi ise BGT, BAG ve kontrol gruplarından düşük bulundu. BGT grubunun MDA düzeyi BAG ve kontrol gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunurken, α -tokoferol düzeyi kontrol grubundan, β -karoten düzeyi ise BAG ve kontrol gruplarından düşük bulundu. BAG grubu ile kontrol grubu arasında her üç parametre açısından da anlamlı fark yoktu.

Sonuç: BAG hariç, diğer hiperglisemi ile seyreden hastalıklarda lipid peroksidasyonu artarken, α -tokoferol ve β -karoten seviyeleri düşmektedir. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Diabetes mellitus, bozulmuş glukoz toleransı, bozulmuş açlık glukozu, MDA, [alfa]-tokoferol, [beta]-karoten

ABSTRACT**Serum MDA, α -Tocopherol and β -Carotene Levels in Patients Having Hyperglycemic Glucose Metabolism Disorders**

Objectives: Evaluation of serum MDA, α -tocopherol and β -carotene in patients having diabetes mellitus (DM), impaired glucose tolerance (IGT) and impaired fasting glucose (IFG).

Materials and Methods: Ninety-nine patients, who were detected to have DM, IGT or IFG at their admission to Zonguldak Karaelmas University Hospital, Family Medicine or Internal Medicine outpatient clinics, and 37 healthy controls were included in the study. MDA, α -tocopherol and β -carotene levels were studied in the serum samples of all patients and controls.

Results: While MDA level in DM group was significantly higher than the IGT, IFG and control groups, α -tocopherol level in DM group was lower than the control group and β -carotene level was lower than IGT, IFG and control groups. While MDA level in IGT group was significantly higher than the IFG and control groups, α -tocopherol level in IGT group was lower than the control group and β -carotene level was lower than IFG and control groups. There was no significant difference of any of the three parameters between IFG and control groups.

Conclusion: While lipid peroxidation increases, α -tocopherol and β -carotene levels decrease in the diseases with hyperglycemia, except IFG ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Key words: Diabetes mellitus, impaired glucose tolerance, impaired fasting glucose, MDA, [alfa]-tocopherol, [beta]-carotene

Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türevi (ROT) bileşikler; hücrelerde dopamin ve adrenalin oksidasyonu, pürin katabolizması, aerobik metabolizma gibi normal kimyasal reaksiyonlar sırasında üretilen oldukça toksik bileşiklerdir (1). Ayrıca radyasyon, sigara gibi çevresel faktörler ve hiperglisemi gibi normal metabolizmada gözlenen bazı değişiklikler de ROT bileşik sentezinde artışa neden olmaktadır (2,3). Bu reaktif bileşikler yapısal özellikleri nedeni ile lipid, protein ve nükleik asit gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir.

Bu bileşenlerin okside olması yapılarında değişikliklere neden olur. Bu da hücre fonksiyonlarının bozulması ve hücre ölümüne kadar giden bir süreci başlatır (4). ROT bileşiklerinin neden olduğu oksidan stresin diyabet, kanser gibi bir çok hastalığın patogenezinde ve komplikasyonlarının gelişmesinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (5,6).

ROT bileşiklerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemlerini kullanırlar. Antioksidan bileşenlerin bazıları hücre

^a Yazışma Adresi: Dr. Murat Ünalacak, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı ZONGULDAK
Tel: 0372 2610169

tarafından sentez edilirken, bazıları da diyetle alınmaktadır. Gıdalarda bulunan α -tokoferol, keratenoitler ve C vitamini diyetle alınan önemli nonenzimatik antioksidan bileşiklerdir (7). Yağda eriyen vitaminlerden olan α -tokoferol, biyolojik sistemlerde önemli bir antioksidandır. Biyolojik membranların lipid tabakaları arasında bulunur ve bu bölgede yapısal rol oynar. α -tokoferol, otooksidasyonun başlatıcısı olan peroksit ve hidroperoksit radikallerini inhibe eder (7). Yeşil sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunan ve vitamin A'nın öncül maddesi olan karoten de α -tokoferol gibi antioksidan özelliğe sahip bir bileşiktir. Son yıllarda, Tip 2 DM dışında hiperglisemi ile seyreden ve glukoz metabolizma bozuklukları olarak kabul edilen bozulmuş açlık glukozu (BAG) ve bozulmuş glukoz toleransı (BGT) tanımlanmıştır. Bu çalışma Tip 2 DM, BAG ve BGT olan hastalarda serum lipid peroksidasyonu, α -tokoferol ve β -karoten düzeylerindeki değişiklikleri araştırmak amacı ile planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta seçimi: Bu çalışmaya Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği ve Dahiliye polikliniklerine başvuran hastalar dahil edildi. Çalışmaya alınan kişiler çalışmanın niteliği hakkında sözel olarak bilgilendirilerek onayları alındı. Hastalardan 12 saat açlık sonrası ilk kan örnekleri alındı. Açlık kan şekeri (AKŞ) 110-140 mg/dl arasında olan kişiler çalışmaya alındı. AKŞ değerleri 110-125 mg/dl olan hastalara hiperglisemik glukoz metabolizma bozukluğunu sınıflandırmak amacıyla 75 gram glukozla oral glukoz tolerans testi (OGTT) uygulandı ve OGTT sonuçlarına göre hastalar iki gruba ayrıldı. Birinci gruba (BAG grubu) (n=31, 15 erkek, 16 kadın) BAG tanımına uygun olarak AKŞ=110 – 125 mg/dl ve 2. saat kan şekeri < 140 mg/dl olan hastalar, ikinci gruba da (BGT grubu) (n=34, 17 erkek, 17 kadın) BGT tanımına uygun olarak AKŞ < 125 mg/dl ve 2. saat kan şekeri 140- 200 mg/dl olan hastalar dahil edildi. Açlık kan şekeri iki kez 126 mg/dl ve üzerinde ölçülen hastalardan üçüncü grup (DM grubu) (n=34, 16 erkek, 18 kadın) oluşturuldu. Sağlıklı kişilerden de dördüncü grup (kontrol grubu) oluşturuldu (n=37, 18 erkek, 19 kadın). Gruplar arasında yaş, cinsiyet, sigara kullanımı ve alkol tüketimi bakımından anlamlı fark yoktu. Hastaların kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlardan MDA, α -tokoferol ve β -karoten çalışıldı.

Malondialdehid (MDA) ölçümü: MDA ölçümünde Draper ve Hadley'in (8) tanımladığı metot kullanıldı. Reaksiyonun prensibi, MDA'nın alkali pH da tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu 532 nm de maksimum absorbans veren pembe renkli bileşiğin oluşmasına dayanır.

Tablo 1. Çalışma gruplarında serum MDA, α -tokoferol ve β -karoten değerleri ve bu değerlerin ikili gruplar arasında karşılaştırmalarının p değerleri

Gruplar	n	MDA (μ mol/L)	α -tokoferol (μ gr/dL)	β -karoten (μ gr/dL)
Tip 2 DM	34	3.13 \pm 0.60	1193 \pm 266	74 \pm 15
BGT	34	2.53 \pm 0.48	1186 \pm 282	93 \pm 17
BAG	31	2.19 \pm 0.37	1340 \pm 279	110 \pm 22
Kontrol	37	2.07 \pm 0.35	1397 \pm 276	112 \pm 19
P değeri				
DM ve BGT		0.001	0.999	0.001
DM ve BAG		0.001	0.190	0.001
DM ve Kontrol		0.001	0.014	0.001
BGT ve BAG		0.033	0.152	0.001
BGT ve Kontrol		0.001	0.01	0.001
BAG ve Kontrol		0.631	0.799	0.998

MDA: malondialdehit; DM:diabetes mellitus; BGT:bozulmuş glukoz toleransı; BAG:bozulmuş açlık glukozu.

Ölçülen absorbans değerleri MDA standart grafiği kullanılarak μ mol/L olarak hesaplandı.

α -tokoferol ölçümü: Serum α -tokoferol düzeyleri Hashim ve Schuttringer (9) tarafından tanımlanan metotla yapıldı. Önce serum örnekleri etanol ve n-heptan ile karıştırılıp vorteksle ve 5 dakika 1000 devir/dk santrifüj edildi. Böylece proteinler çöktürülürken E vitamini n-heptan fazına geçti. Kör ve numune tüplerine üstte kalan n-heptan fazından 0.4 ml alındı. Üzerlerine 0.3 ml α - α' dipiryridyl eklenip karıştırıldı. 460 nm de köre karşı %T değerleri okundu. Daha sonra her iki tüpe 0.1 ml demir-3-klorür eklenerek karıştırıldı ve 4 dakika sonra 510 nm de köre karşı %T değerleri okundu. Serum α -tokoferol düzeyi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

α -tokoferol (mg/dl) = $[(\log 510 - 1.36) - 0.32 \cdot \log 460] / -0.4608$
Sonuçlar 1000 ile çarpılarak μ g/dl olarak ifade edildi.

β -karoten ölçümü: Total karotenlerin 450 nm. de verdiği absorbansın ölçülmesinden faydalanılarak, β -karoten düzeyi saptandı. Kısaca, bir deney tüpüne 0.75 ml plazma ve üzerine 2 ml etanol (%95) yavaşça karıştırılarak ilave edildi. Vorteksle de iyice karıştırıldı. Daha sonra 3 ml n-hekzan ilave edildi. Ağzı kapatılarak vorteksle en az bir dakika karıştırıldı. 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Üst hekzan fazının absorbans spektrofotometrede 450 nm de hekzan körtüne karşı ölçüldü. β -karotenin 450 nm hekzandaki molar ekstinksiyon katsayısından faydalanılarak miktarı μ g/dl olarak hesaplandı (10).

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme Windows 2000 ortamında SPSS programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında Oneway Anova testi kullanılırken, posthoc olarak da Tukey testi kullanıldı.

BULGULAR

Sonuçlar Tablo 1' de toplu olarak verilmiştir. DM grubunun MDA düzeyi BGT, BAG ve kontrol gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$), α -tokoferol düzeyi kontrol grubundan ($p < 0.014$), β -karoten düzeyi ise BGT, BAG ve kontrol gruplarından düşük ($p < 0.001$, $p < 0.001$) bulundu. BGT grubunun MDA düzeyi BAG ve kontrol gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p < 0.033$, $p < 0.001$), α -tokoferol düzeyi kontrol grubundan ($p < 0.01$), β -karoten düzeyi ise BAG ve kontrol gruplarından düşük ($p < 0.001$, $p < 0.001$) bulundu. BAG grubu ile kontrol grubu arasında her üç parametre açısından da anlamlı fark yoktu.

TARTIŞMA

DM, karmaşık bir patoloji tablosuyla izlenen bir durumdur. Son yıllarda bu tablonun oluşumunda etken faktörler arasında, hiperglisemiye bağlı oksidan ortam oluşumu üzerinde durulmaktadır. Hipergliseminin oksidan bir ortama neden olduğuna, önceden yapılmış birçok çalışmada işaret edilmiştir (11). DM'li hastalarda gözlenen, katarakt, ateroskleroz, eritrositlerde bozukluk, lenfosit ve trombosit fonksiyon bozukluğu gibi bulgular, serbest radikallerin artmasıyla ilgili bulunmaktadır (12,13). Tip 2 DM'nin patogenezi ve komplikasyonlarının gelişim mekanizmalarını açıklamak için hipergliseminin neden olduğu metabolik değişiklikler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır ve hala yapılmaktadır (14,15). Bu çalışmaların bir kısmı hiperglisemi ile serbest radikal üretimi arasındaki olası ilişkiyi araştırmaya yoğunlaşmıştır. Weidig ve arkadaşları yaptıkları hücre kültürü çalışmasında, hiperglisemiye maruz kalan koroner mikrovasküler endotel hücrelerinde prooksidan enzim aktivitelerinde ve serbest radikallerin seviyesinde artış gözlendiğini bildirmişlerdir (16). Yüksek glukoz konsantrasyonunun ROT bileşiklerinin üretiminde artışa neden olduğu ve embriyonik dismorfogenezde artmış süperoksit anyon radikalının etkili olduğu Yang ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (17). Başka bir çalışmada, hipergliseminin neden olduğu endotelial hücre proliferasyonunda süperoksit anyon radikalı üretimindeki artışın etkili olduğu gösterilmiştir (18). Nishikawa ve arkadaşları hipergliseminin aktive ettiği oksidan metabolik yolların inhibisyonu ile mitokondrial süperoksit radikal üretimini normale döndüğünü rapor etmişlerdir (19). Ayrıca hipergliseminin üretimine neden olduğu ileri glikasyon ürünlerinin de NADPH-oksidaz enzimi gibi bazı oksidan enzim aktivitelerini artırarak oksidan stres gelişimine katkıda buldukları gösterilmiştir (20). Bu ve benzeri çalışmalar, hipergliseminin ROT bileşiklerin üretimini artırdığını göstermektedir. ROT bileşikleri lipid, protein, nükleik asit gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membran yapısında bulunan doymamış yağ asitleri oksidasyona duyarlıdır ve bunların oksidasyonu lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Bir reaksiyon zincirinin başlaması, diğer reaksiyon zincirlerinin başlama ve şiddetlenmesine neden olur ve bunun sonucunda yaygın peroksidasyon, membran lipid tabakasının yapısal bütünlüğünde bozulma, membran geçirgenliğinde artma, iyon transportunda bozulma ve son olarak lizis ortaya çıkar (21).

Oksidan stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde MDA yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Çalışmamızda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinin DM grubunda BAG, BGT ve kontrol gruplarına göre artmış olduğu, BGT grubunda BAG ve kontrol gruplarına göre artmış olduğu izlenmiştir. BAG grubunda serum MDA seviyesi kontrol grubuna göre hafif yüksek olmakla birlikte istatistiksel anlamda fark gözlenmemiştir. Bu durum yüksek glukoz düzeyinin oksidatif hasara yol açan sebeplerden biri olduğunu belirten literatür bilgileriyle doğrulanmaktadır (22,23). Gopaul ve arkadaşları yaptıkları çalışmada BGT olan kişilerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lipid peroksidasyonunda artış olduğunu bildirmişlerdir (24). Artmış olan oksidatif hasarın en azından kısmen hipergliseminin sonucu olarak geliştiği düşünülmektedir. Bütün hücreler ROT bileşiklerinin zararlı etkilerini önleyecek enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemine sahiptir. Glutasyon, α -tokoferol, beta karoten nonen-zimatik antioksidan sistemin önemli bileşenleridir (25). α -tokoferol ve karotenoidler gibi antioksidanların önemli bir kaynağı besin-

lerdir. Önemli bir zincir kırıcı antioksidan olan α -tokoferol lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, hücre zarında oluşacak olan hasarı ve düşük dansiteli lipoproteinlerin modifikasyonunu engeller. Karotenoidler ortamda bulunan moleküler oksijeni ve peroksil radikalını temizler. Antioksidanların diyetle alınmasının birçok hastalığın riskinin azalmasıyla ilişkili olduğuna dair epidemiyolojik çalışmalardan, hayvan deneylerinden ve in vitro deneylerden elde edilmiş kanıtlar her geçen gün artmaktadır (25).

Çalışmamızda BGT ve Tip 2 DM gruplarında serum α -tokoferol düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu bulgularımız literatürle uyum göstermektedir. Ford ve arkadaşları diyabetli hasta grubunun serum α -tokoferol seviyesinin kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir (26). Sundaram ve arkadaşları, 467 Tip 2 DM hastası ve 180 kontrol üzerinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada, hastalara tanı konulmasının 2. yılında lipid peroksidasyonunun belirgin şekilde arttığını, E vitamininin belirgin derecede azaldığını, ve değişikliklerin, hastalığın süresi ile korele olduğunu ve komplikasyon gelişmiş olan hastalarda farkın daha belirgin olduğunu göstermişlerdir (27). Plazma α -tokoferol konsantrasyonunun sağlıklı kişilerde insülin rezistansı ile ters ilişki olduğu (28,29), düşük serum vit E konsantrasyonlarının tip 2 DM riskini artırdığı bir prospektif kohort çalışma ile ortaya konmuştur (30). Ayrıca kan glukoz, insülin düzeyleri ile α -tokoferol düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar da bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Ylönen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diyetle alınan vit E ile açlık kan glukozu ve HbA1c düzeyi arasında ters ilişki olduğunu rapor etmişlerdir (31). Ayrıca daha önceden yapılan kesitsel çalışmalarda plazma tokoferol ve plazma açlık insülin konsantrasyonları arasında ters ilişki olduğu bildirilmiştir (28,29) Bu çalışmalar, hasta grupların α -tokoferol düzeylerinin kontrol grubundan anlamlı derecede düşük bulunmuş olduğu bizim çalışmamızı desteklemektedir. Facchini ve arkadaşları yaptıkları çalışmada serum karotenoid konsantrasyonlarının açlık kan glukoz ve insülin konsantrasyonu ile ters ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (28). Plazma tokoferol konsantrasyonunun sağlıklı kişilerde insülin rezistansı ile ters ilişki olduğu (28,29), düşük serum vit E konsantrasyonlarının tip 2 DM riskini artırdığı bir prospektif kohort çalışma ile ortaya konmuştur (30). Decsi ve arkadaşları obes çocuklarda yaptıkları bir çalışmada plazma α -tokoferol değerleri ile açlık insülininin ters ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (32). DM hastalarında α -tokoferol ve karotenoid düşüklüğünün nedeni bilinmemekle birlikte, alım ve/veya kullanımdaki değişiklikten kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Karotenoidler ve tokoferoller ile glukoz metabolizması arasındaki bağlantının biyolojik mekanizmaları hakkındaki bilgimiz oldukça kısıtlıdır. Tokoferol ve karotenoidlerin glukoz metabolizması ile ilişkilerinin antioksidan etkileri ile tam olarak açıklanabildiği söylenemez (33-35).

Sonuç olarak hiperglisemi ile seyreden hastalıklarda lipid peroksidasyonu artarken, α -tokoferol ve β -karoten seviyelerinin düştüğü yaptığımız çalışmada ve benzeri çalışmalarda gösterilmiştir. Bundan dolayı, hiperglisemi ile seyreden hastalıkların önlenmesi ve komplikasyonlarından korunmada bu bilgilerin göz önünde tutulmasının ve E vitamini, karoten gibi doğal antioksidanlardan zengin gıdaların hastaların diyetlerine eklenmesinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 81-493.
2. Nakazawa T, Nagatsuka S. Radiation-induced lipid peroxidation and membrane permeability in liposomes. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1980; 38: 537-544.
3. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985; 64: 111-126.
4. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals, lipid peroxidation, and cell damage. *Lancet* 1984; 2: 1095.
5. Mercuri F, Quagliari L, Ceriello A. Oxidative stress evaluation in diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2000; 2: 589-600.
6. Gey KF. Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease. *Br Med Bull* 1993; 49: 679-699.
7. Burlakova EB, Krashakov SA, Khrapova NG. The role of tocopherol in biomembrane lipid peroxidation. *Membr Cell Biol* 1998; 12: 173-211.
8. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-430.
9. Hashim SA, Schuttringer GR. Rapid determination of tocopherol in macro- and microquantities of plasma. Results obtained in various nutrition and metabolic studies. *Am J Clin Nutr* 1966; 19: 137-145.
10. Cals MJ, Succari M, Meneguzzi C. Markers oxidative stress in fit, health-conscious elderly people living in the paris area. *Nutrition* 1997; 13: 319-326.
11. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-412.
12. Kowluru RA, Odenbach S. Role of interleukin-1beta in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2004; 88: 1343-1347.
13. Dulak J, Tomala K, Loboda A, Jozkowicz A. Nitric oxide-dependent synthesis of vascular endothelial growth factor is impaired by high glucose. *Life Sci* 2004; 75: 2573-2586.
14. Li H, Gutterman DD, Rusch NJ, Bubolz A, Liu Y. Nitration and functional loss of voltage-gated K⁺ channels in rat coronary microvessels exposed to high glucose. *Diabetes* 2004; 53: 2436-2442.
15. Keynan S, Khamaisi M, Dahan R, Barnes K, Jackson CD, Turner AJ, Raz I. Increased expression of endothelin-converting enzyme-1c isoform in response to high glucose levels in endothelial cells. *J Vasc Res* 2004; 41: 131-140.
16. Weidig P, McMaster D, Bayraktutan U. High glucose mediates pro-oxidant and antioxidant enzyme activities in coronary endothelial cells. *Diabetes Obes Metab* 2004; 6: 432-441.
17. Yang X, Borg LAH and Eriksson UJ. Altered metabolism and superoxide generation in neural tissue of rat embryos exposed to high glucose. *Am J Physiol* 1997; E173-E180.
18. Zanetti M, Zwacka RM, Engelhardt JF, Katusic ZS and O'Brien T. Superoxide anions and endothelial cell proliferation in normoglycemia and hyperglycemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 195-200.
19. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I and Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404: 787-790.
20. Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM and Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol* 2001; 280: 685-694.
21. Kinalski, M, Sledziewski A, Telejko B, Zarzycki W, Kinalska I. Lipid peroxidation and scavenging enzyme activity in streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol* 2000; 37: 179-183.
22. Costagliola C, Lulona G, Menziona A, Nesti A, Simonelli F, Rinoldi E. Systematic human disease as oxidative risk factor in cataractogenesis. *Ophthalmic Res* 1988; 20: 308-316.
23. Ceriello A, Giuppono D, Quatrozo A, Donzello C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetics: new prospect for prevention of diabetic complications. *Diabetic Care* 1991; 14: 68-72.
24. Gopaul NK, Manraj MD, Hebe A, Yan SLK, Johnston A, Carrier MJ, Anggard EE. Oxidative stress could precede endothelial dysfunction and insulin resistance in Indian Mauritians with impaired glucose metabolism. *Diabetologia* 2001; 44: 706-712.
25. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes* 1997; 46: 14-18.
26. Ford ES, Mokdad AH, Ajani UA, Liu S. Associations between concentrations of alpha-tocopherol and gamma-tocopherol and concentrations of glucose, glycosylated haemoglobin, insulin and C-peptide among US adults. *Br J Nutr* 2005; 93: 249-255.
27. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)* 1996; 90: 255-260.
28. Facchini FS, Humphreys MH, DoNascimento CA, Abbasi F, Reaven GM. Relation between insulin resistance and plasma concentrations of lipid hydroperoxides, carotenoids, and tocopherols. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 776-779.
29. Öhrvall M, Tengblad S, Vessby B. Lower tocopherol serum levels in subjects with abdominal adiposity. *J Intern Med* 1993; 234: 53-60.
30. Salonen JT, Nyyssönen K, Tuomainen TP, et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. *BMJ* 1995; 311: 1124-1127.
31. Ylönen K, Alfthan G, Groop L, Saloranta C, Aro A, Virtanen SM. Dietary intakes and plasma concentrations of carotenoids and tocopherols in relation to glucose metabolism in subjects at high risk of type 2 diabetes: the Botnia Dietary Study. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1434-1441.
32. Decsi T, Molnár D, Koletzko B. Lipid corrected plasma alpha-tocopherol values are inversely related to fasting insulinaemia in obese children. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20: 970-972.
33. Clinton SK. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev* 1998; 56: 35-51.
34. Azzi A, Breyer I, Feher M, et al. Specific cellular responses to alpha-tocopherol. *J Nutr* 2000; 130: 1649-1652.
35. Traber MG, Packer L. Vitamin E: beyond antioxidant function. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1501-1509.

Kabul Tarihi: 17.05.2005