

Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi

Ramazan MEMİŞOĞULLARI

AİBÜ Düzce Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce

ÖZET

Diyabet tüm dünyada görülme sıklığı hızla artmakta olan kronik bir metabolizma bozukluğudur. Diyabetin ve komplikasyonlarının patogeneğinde pek çok mekanizma ileri sürülmüştür. Bunlar içinde en fazla kabul göreni ise artan serbest radikallerin komplikasyonlara neden olmasıdır. Diyabette oluşan oksidatif stresle, antioksidan kapasiteyi artırarak başa çıkılabilir. Bu derlemede oksidatif stresin diyabetteki rolü ve antioksidanların bu stresle başa çıkabilmedeki etkisi irdelenmektedir.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, diyabet komplikasyonları, serbest radikaller, antioksidanlar.

The Role of Free Radicals and the Effect of Antioxidants in Diabetes

SUMMARY

Diabetes is a chronic metabolism disorder with increasing prevalence worldwide. Many mechanisms have been suggested in the pathogenesis of diabetes and its complications. The most accepted mechanism is that free radicals are the main cause of the complications. Oxidative stress can be managed by increasing antioxidant capacity in diabetes. The role of oxidative stress in diabetes and the effect of antioxidants have been examined in this review

Key Words: Diabetes, diabetic complications, free radicals, antioxidants

GİRİŞ

Diyabet, kronik metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda da artmış bir oksidatif stres durumudur. Diyabette artmış serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal veya fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır. Organizma bu zararlı radikallerin etkisiyle başa çıkabilmek için bazı enzimatik ve non enzimatik antioksidan defans sistemlerine sahiptir (1-5). Ayrıca diyabette eksojen antioksidanlar verilerek serbest radikallerin etkileriyle başa çıkılabilir (1). Oksidatif stres serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Bunun da diyabetin makro ve mikrovasküler komplikasyonlarına neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (1-5). Bu derlemede son yıllarda yayınlanmış literatürler ışığında diyabette oksidatif stres ve antioksidanların etkileri hakkındaki bilgileri bir araya getirmek amaçlanmıştır.

OKSİDATİF STRESLE İLGİLİ BAZI TANIMLAMALAR

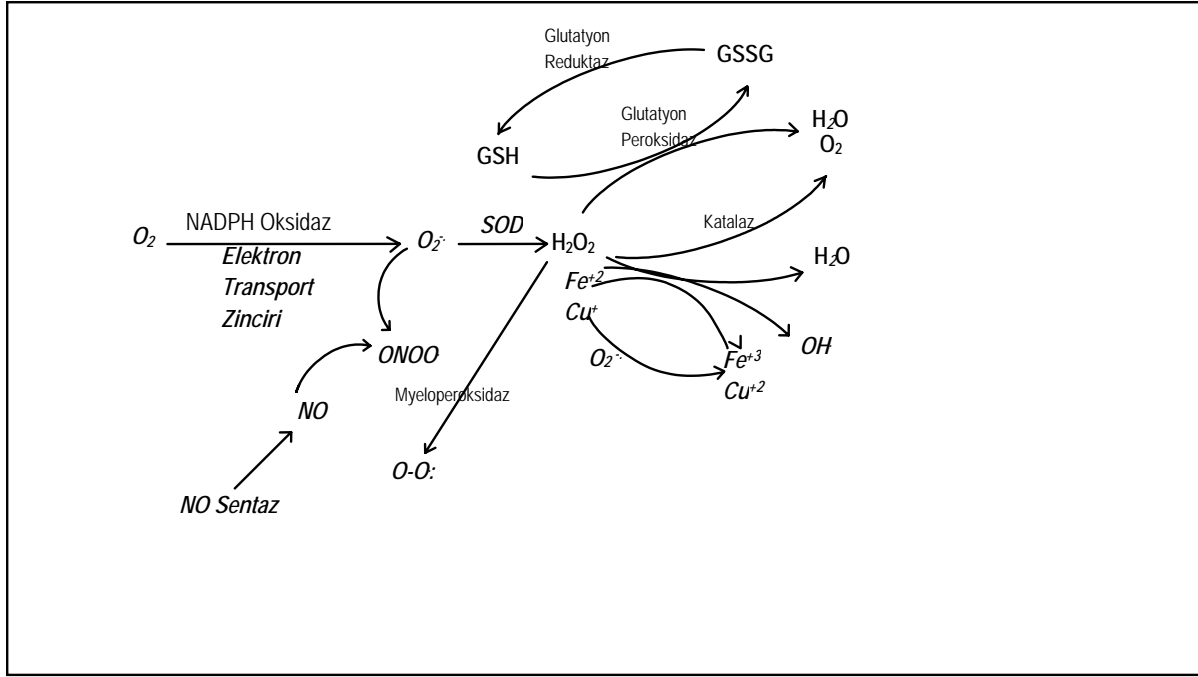
Diyabet artmış bir oksidatif stres durumu olduğu için ve bu oksidatif stresi anlayabilmek için öncelikle serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu hakkında bilgiler aşağıda verilmektedir.

SERBEST RADİKALLER

Elektronlar orbital denen bölgelerde dönerler. Her orbital normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen 2 elektron ihtiva eder. Serbest radikaller ortaklanmamış elektron içerir. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli de moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla olur (4,6). Ayrıca iyonize radyasyon da serbest radikal oluşumuna sebep olabilir.

Oksijen, iki elektronu eşleşmemiş şekilde bir elektron dağılımına sahiptir. Bu yüzden bazen oksijen biradikal olarak değerlendirilir. Oksijen molekülünün reaktif bir özelliği olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir (1,4).

Diyabetteki oksidatif streste rol oynayan serbest radikaller şunlardır.



Şekil 1 Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu¹

(1). $O_2^{\cdot-}$ (Süperoksid)

Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz. Bu radikalin moleküler düzeyde önemli özelliği, sekonder olarak ürettiği radikallerdir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan $O_2^{\cdot-}$ mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)'ın okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+)'a okside olması ile üretilir (Şekil 1). Ayrıca pek çok oksidaz tarafından da üretilir. O_2 genel olarak anyon şeklinde tarif edildiği halde, ortamın pH sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) ismini alır. Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte, kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemli olan, H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksid, nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir. Azalmış süperoksid düzeyleri, bakteriyel enfeksiyonlara artmış bir yatkınlığa yol açabilir. Artmış süperoksid düzeyleri ise süperoksid dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksid (H_2O_2) ve oksijene dönüştürülerek azaltılır. Böylece hücrel süperoksid düzeyleri sıkı kontrol altındadır. Süperoksidin aşırı üretimi hücrel metabolizmanın aşırı

yükselmiş glukoz tarafından bozulduğu durumlarda gerçekleşir. Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olur. ATP sentezi inhibe edilir ve elektron transport zinciri yavaşlar (1,2,4-7).

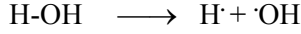
(2). H_2O_2 (Hidrojen Peroksid)

Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksid oluşur. Peroksid molekülü iki H molekülü ile birleşirse H_2O_2 oluşur. H_2O_2 süperoksidin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak ta üretilmektedir. H_2O_2 aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçen, sitozole diffüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksidin ulaşmadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksidle reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Hidrojen peroksid başka bir şekilde de serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur (Şekil 1). Bu da doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lokosit defansının diğer bir komponentidir (1-7).

(3). $\cdot OH$ (Hidroksil Radikali)

Hidroksil, bilinen en reaktif radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve şekerler gibi biyokimyasal

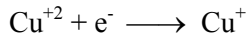
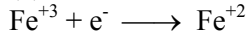
maddelerin bir çoğuyla reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H^+ 'in birleşmesinden oluşur. Gamma radyasyona maruz kalan dokularda da hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve 2 radikal oluşur. Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülün H atomu çıkarılmasını sağlar (1,4,6,7).



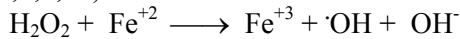
(4). NO (Nitrik Oksid)

NO, nitrik oksid sentaz (NOS) olarak bilinen sitozolik bir enzimin aktivitesi ile oluşur. Vasküler tonun regülasyonunda guanilat siklazı aktive eden NO major rol oynar. Oksijen bağlanan bölgeye kompetitif bağlanarak direkt olarak sitokrom oksidazın inhibisyonu ile hücresel solunumu düzenler. NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksidle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (1,8). Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından (tartışmalı olmakla birlikte) endoteldeki nitrik oksid üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. (3,8-10,11). Ancak diyabette NO'nun artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır (12).

(5). Geçiş Metalleri



gibi bir elektronun alınması ve verilmesi durumlarında bu serbest metal iyonları radikal reaksiyonunu hızlandırır. Metal iyonları lipid peroksidasyonu esnasında rol oynarlar. Oluşmuş lipid hidroperoksitlerin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalize eder. Böylece daha az zararlı olan radikalleri daha zararlı hale getirirler. *Fenton reaksiyonu* olarak bilinen reaksiyonda Fe^{+2} iyonlarının H_2O_2 'i indirgeyip $\cdot OH$ oluşturabildikleri bilinmektedir (2,5,6,13).



Seruloplazmin Fe^{+2} 'ni Fe^{+3} 'e oksitler ve Fe^{+3} 'ün transferrine bağlanmasını kolaylaştırır. Seruloplazminin antioksidan aktivitesi: Ferroksidaz aktivitesi, askorbat oksidaz

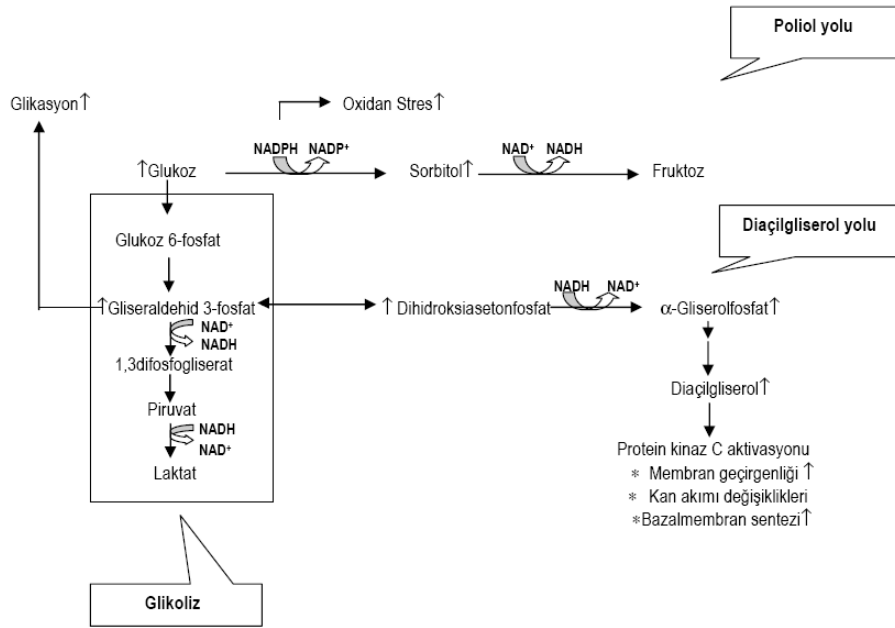
aktivitesi, oksijen radikali temizleyici aktivitesi ve GSH-bağımlı peroxidaz aktivitesi şeklinde 4 yolla olur (5,13). Transferrin de H_2O_2 'den demir iyonu bağımlı hidroksil oluşumunu inhibe eder. Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum seruloplazmin düzeylerinin artmış ve transferin düzeylerinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (2,5,13). Diyabette serum seruloplazmin düzeyleri, serbest radikal reaksiyonlarını ve lipid peroksidasyonunu hızlandırabilen yüksek serbest Fe^{+2} 'ye cevap olarak artmış olabileceği vurgulanmaktadır. Hidroksil oluşumunu azaltan transferin düzeylerinin diyabette azalmış olması diyabetteki oksidatif strese önemli katkı yapar. Ayrıca seruloplazmin ve transferin arasında sağlıklı kişilerde negatif bir korelasyon olduğu, ancak diyabette bu korelasyonun bozulduğu da vurgulanmaktadır (2).

LİPİD PEROKSİDASYONU

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikali oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikali oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğer doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (6,14,15).

Lipid peroksidler daha sonra malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asidlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir. Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (6,14-16).

Pek çok çalışma diyabetik komplikasyonlar ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (1-5,15). Bu yüzden lipid peroksidasyonunun kontrolü çok önemlidir. Bu amaçla da hem endojen hem de eksojen antioksidanlar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda antioksidan suplementasyonunun plazma antioksidan düzeylerini önemli derecede artırdığı vurgulanmaktadır (14-19).



Şekil 2. Poliol ve diaçilgliserol yollarının birbirleriyle ilişkisi¹⁵

DİYABETİN VE KOMPLİKASYONLARININ PATOGENEZİ

Diyabetes Mellitus, mutlak veya fonksiyonel insülin yetersizliği sonucu ortaya çıkan, karbonhidrat metabolizması başta olmak üzere yağ ve protein metabolizmasında da bozuklukla seyreden bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır (1-4). Hastalığın ilerlemesiyle retinopati, renal yetmezlik, nöropati ve ateroskleroz gibi spesifik komplikasyonların gelişmesi riski artar (2,5,9,10,22,23).

İntrasellüler sinyal transdüksiyonunda değişiklik, aldoz redüktaz aktivitesinde artış, Na^+ - K^+ ATP'az aktivitesinde azalma, TxA_2 ve endotelin gibi vazokonstriktörlerde artış, PGI_2 ve NO gibi vazodilatatörlerde azalma, reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin oluşumunda artma ve proteinlerin glikasyonundaki artış, değişmiş lipoprotein metabolizması, artmış protein kinaz C aktivitesi gibi pek çok faktör diyabetin komplikasyonlarının gelişmesinde rol oynamaktadır (3,9,10,22,23). Bu faktörlerin her biri temel ortak bir mekanizmanın farklı yansımaları olabileceği gibi, çeşitli dokuların farklı mekanizmalara duyarlılık göstermelerinden kaynaklanabilmektedir. Bir

çoğu birbiri ile yakın ilişkili olan bu mekanizmalar bazen örtüşmektedir. AGE oluşumunun yol açtığı oksidatif stres, glikooksidasyonla AGE oluşumunu hızlandırmaktadır. Oksidatif stresi artıran ve AGE oluşumunu hızlandıran poliol yolu aktivasyonu damar duvarında doku protein kinaz C aktivasyonuna neden olmakta ve retina, lens, glomerul ile sinir dokusunda miyoinozitol düzeyinde ve protein kinaz C aktivitesinde azalmaya yol açmaktadır (3,22,23).

Anormal poliol yolu hipotezine göre glukoz girişi için insüline ihtiyaç duymayan ve aldoz redüktaz enzimi içeren lens, periferik sinirler, böbrek glomerulleri gibi dokularda hiperglisemi sonucu hücre içi glukoz ve dolayısıyla sorbitol konsantrasyonu artar. Aşırı su tutucu özellikte olan sorbitolün bu dokularda birikmesi hücre ödemi ve hasarına neden olur (3). Hiperglisemide poliol yolunun aktivasyonu ile NADH/NAD⁺ oranı artmakta ve bu da enzimatik olmayan glikasyonu ve diaçilgliserol sentezini artırmaktadır. Diaçilgliserolün artışı da protein kinaz C aktivasyonuna yol açarak diyabetteki damar patolojilerine neden olmaktadır (3,9,10,22,23) (Şekil 2).

Oksidatif stres hipotezinde reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikallerin oluşum hızı ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki

dengelessizlik diyabetin kronik komplikasyonlarına neden olmaktadır. Bir başka deyişle hiperglisemi oksidatif strese yol açmaktadır. Lipid hidroperoksidler, konjuge dienler, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ve isoprostanlar gibi oksidatif stres göstergelerinin düzeylerinin arttığı diyabetli hastalarda E ve C vitaminleri, glutatyon, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan parametrelerin miktarının azalması diyabetin kronik komplikasyonlarının patogeneğinde oksidatif stresin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir (2,5,9,10,22,23). Mitokondri ve endoplazmik retikulum membranları ve plazmada bulunan lipidler, peroksidasyonun ve ROS saldırılarının ana hedefidir.

Diyabetteki vasküler komplikasyonlarda görülen endotel fonksiyon bozukluklarından endoteldeki nitrik oksid üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır. Bu azalmaya da ileti aksaması, substrat L-arginin yetmezliği veya nitrik oksid sentazın kofaktörlerindeki azalma neden olabilir. Ancak diyabetteki azalmış endotel bağımlı vazodilatasyona NO üretiminin azalması mı, yoksa oksidatif stresin mi neden olduğu tartışmalıdır (3,8,9,10,22,23).

Diyabetin kronik komplikasyonlarının mekanizması ile ilgili bir diğer hipotez de AGE hipotezidir. Oligosakkarit zincirlerin enzimatik olarak proteinlere glukozidik bağ ile bağlandığı glukozilasyon glikoprotein sentezi sırasında oluşan posttranslasyonel modifikasyondur. Bazal membran proteinleri, α_2 makroglobulin, bazı hücre membran reseptörleri, HLA antijenleri, immunglobulinler ve bazı hormonlar bu şekilde sentezlenen önemli glikoproteinlerdir (3,9,10,22,23).

Hiperglisemi durumlarında glukozun hücre içine alınmasının insülden bağımsız olduğu eritrosit, beyin, böbrek, lens, periferik sinirler gibi dokularda intrasellüler konsantrasyonu artan glukoz, proteinlere non-enzimatik bir tepkime sonucu bağlanmaktadır. Proteinlerin terminal aminoasidindeki α -amino grubuna veya lizinin ϵ -amino grubuna glukozun bağlanması ile labil Schiff bazı oluşur. Yaşam süresi kısa olan proteinlerle daha dayanıklı ve geri dönüşümlü Amadori ürünleri oluşmaktadır. Bu şekilde oluşan erken glikasyon ürünleri tedavi sonucu glukozun normale dönmesiyle azalmaktadır. Yarı ömrü uzun olan proteinlerde ise geri dönüşümsüz olarak imidazol veya pirol yapısındaki ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşmaktadır.

Hipergliseminin şiddetine ve süresine, proteinlerin yarı ömrüne, dokuların glukozla olan geçirgenliğine ve proteinlerdeki serbest amino gruplarının sayısına bağlı olan protein glikasyonu yarı ömrü kısa (albumin, hemoglobin) ve uzun (kollogen, elastin, myelin, tubulin) olan tüm proteinlerde gerçekleşmektedir. Dayanıklı doku proteinlerine bağlanmayan bu glikasyon ürünlerinin en tipik örneği hemoglobine bağlı glukoz (HbA_{1c}) ve fruktozamindir (3,9,10,22,23).

Proteinlerin yapı işlev ve metabolizmasını etkileyen protein glikasyonunu serbest radikallerin oluşumu ve glikooksidasyon izlemektedir. Aşırı biriken inaktif proteinler DNA hasarına neden olabilir veya hücre siklusunu bozabilir. Glukoz kaynaklı amadori ürünlerinden glikooksidasyonla uzun ömürlü proteinlerdeki amino gruplarını geri dönüşümsüz olarak çapraz bağlayabilen AGE bileşikleri oluşmaktadır. Böylece non-enzimatik glikasyonun (NEG) artışı sonucu ortaya çıkan AGE bileşikleri diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır (9,10,22,23).

Proteinlerin büyüklüğünü, şeklini, elektriksel yüklerini, viskozitesini, çözünürlüğünü değiştiren glikasyon, ısı ve enzimlere dayanıklılığı ve membran reseptörüne bağlanmayı etkilemektedir. Ayrıca SOD ve katalaz gibi antioksidan enzimler glikasyonla inaktive olmaktadır. Diyabette koagülasyona eğilimi artıran AGE bileşikleri koagulan/antikoagulan dengesini koagulanlar lehine bozmaktadır (9,10,22,23).

Ayrıca yapılan çalışmalarda homosisteinin de diyabetin komplikasyonlarının gelişiminde rolü olabileceği vurgulanmaktadır (3,19,23). Homosistein bu etkisini endotelial toksisite oluşturarak, kan plateletlerinin adhezyonunu artırarak, pıhtılaşma faktörlerinde değişiklikler yaparak veya reaktif oksijen türleri oluşumunu artırarak göstermektedir. Komplikasyon gelişmiş diyabetlilerde plazma homosistein düzeyleri ve lipid peroksidasyon markerleri artmış olarak bulunmuştur. Homosistein LDL oksidasyonunu artırmaktadır (3,19,23,24).

DİYABETTE ANTIOKSİDAN MEKANİZMALAR

Oksidantları inaktif hale getiren maddelere antioksidanlar denir. Normal sağlıklı kişilerde serbest radikaller/antioksidanlar denge halindedir. Diyabette ise bu denge serbest radikaller lehine bozulmuştur(2,5). Bu da diyabetin komplikasyonlarına neden olmaktadır. İşte bu antioksidan mekanizmaları daha aktif hale veya bozulmuş bu dengeyi antioksidanlar lehine artırabilirsek diyabetin komplikasyonlarıyla başa

çıkabiliriz. Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler (4,6,7,25-28).

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.
2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.
3. Onarma etkisi
4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır.

Antioksidan mekanizmaları kabaca; aşağıdaki başlıklar altında gruplandırabiliriz.

ANTIÖKSİDAN ENZİMLER

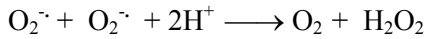
Oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler.

(1). Süperoksid Dismutaz

Mc Cord ve Fridovich tarafından 1968'de keşfedilmiştir. 3 tür SOD vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksid radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dir (4,6,25,26).

Metalloprotein olan SOD bir süperoksid molekülünü O₂ molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksid molekülünü H₂O₂'e indirger (Şekil 1).

SOD



Bu dismutasyon reaksiyonu superoksit radikalinin anyon ve katyon formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4,8 de kendiliğinden de cereyan eder. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH'nın 7,35- 7,45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş oluşacaktır. SOD enzimi varlığında pH en az 7,4 olduğu koşullarda bu reaksiyon 4 kat daha hızlı olacaktır (4). Diyabette SOD düzeylerinin arttığı, değişmediği veya azaldığı şeklinde birbiriyle çelişen çalışmalar vardır (2,12,21,29).

(2). Katalaz

Sumer ve Dounce tarafından 1937'de kristalize halde saflaştırıldı. Her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe⁺³ bulduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Peroksizomlarda lokalizedir. SOD'ın oluşturduğu H₂O₂'i katalaz peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar (Şekil 1). Glutasyon peroksidazın H₂O₂'e karşı K_m'i katalaza göre daha düşüktür.

Yani düşük konsantrasyonlarda H₂O₂'i glutasyon peroksidaz parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise katalaz aktivite kazanır. Katalaz aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğundur (4,6,25-28). Tip 2 diyabetli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada diyabetli hastaların artmış serum katalaz aktivitesine sahip oldukları vurgulanmaktadır (2). Ancak bu artışın organizmanın kendisini lipid peroksidasyonundan korumak için kompensatuvar bir mekanizma olabileceği vurgulanmaktadır. Ancak başka çalışmalarda da azalmış olduğu vurgulanmaktadır (12,29).

(3). Glutasyon Peroksidaz

Her birinde selenosistein içeren 4 alt birimden oluşur. Redükte glutasyonu yükseltgerken H₂O₂'i de suya çevirir (Şekil 1) ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur (30).

GSH-Px



E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır. Glutasyon peroksidaz yetersizliği selenyum eksikliği sonucu olabilir. Çünkü selenyum bu enzimin bir integral parçasıdır (6,31-33).

Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda serum glutasyon peroksidaz aktivitesinin azalmış olduğu rapor edilmektedir (2,29).

(4). Glutasyon Redüktaz

Yükseltgenmiş glutasyonu indirgenmiş hale çeviren 2 subünitten oluşmuş bir dimerdir. Her bir subünit 3 tane yapısal alan içerir: NADPH bağlayan alan, FAD bağlayan alan ve ara yüz alan olmak üzere. Okside glutasyon bir subünitin FAD alanı ve diğer subünitin arayüz alanından oluşan bir bağlanma bölgesi vardır. Glutasyonun indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'ye transfer edilir. Daha sonra subünitlerdeki iki sistein arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle okside glutasyona aktarılmış olur (4). Yapılan çalışmalarda diyabette glutasyon redüktaz aktivitesinin azalmış olduğu belirtilmektedir (29)

(5). Glutasyon S-Transferaz (GST)

Toksik metabolitlerle glutasyonun konjugasyonunu katalizleyen GST enzimi de toksik metabolitlerin detoksifikasyonuna yol açan başka bir antioksidan enzimdir (34). Yapılan çalışmalarda diyabette antioksidan enzimlerin arttığı veya azaldığı şeklinde raporlar vardır. Ancak diyabette kesin olarak antioksidan sistemlerde bozukluk vardır (2,29).

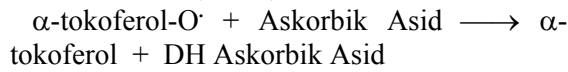
ANTIÖKSİDAN VİTAMİNLER

(1). E Vitamini

İlk olarak Evans tarafından 1938 yılında bulunmuştur. Yağda çözünen vitamin olduğu için hem sellüler hem de subsellüler membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur. Membranlarda oksijen radikallerinin ana temizleyicisidir. En aktif formu α -tokoferoldür. Zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon görür. Hidrofobik kısmına hidrojenini kolaylıkla verebilen -OH grubu bağlıdır. Bu yüzden lipid peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri yağ asidi yerine α -tokoferolle birleşerek reaksiyon zinciri kırılmış olur (31-35).



Böylece α -tokoferol yeni bir radikal olan α -tokoferol-O $^{\cdot}$ e dönüştürülmüş olur. Bu radikalın ise başka bir yağ asidiyle birleşebilme aktivitesi düşüktür. Sonuçta zincir reaksiyonunu durdurur. Oluşan bu tokoferoksil radikali membran yüzeyinde askorbik asitle (C vitamini) reaksiyona girerek tekrar tokoferole dönüşmektedir (31-35).



α -tokoferol ve C vitamininin organizmada düşük düzeylerde olması miyokard enfarktüsü ve bazı kanserlerin artmış insidansı ile ilişkili bulunmuştur.

Kutlu M. ve ark. (36) diyabetli ratlara vitamin E ve C suplementasyonunun lipid peroksidasyonunu azalttığını rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada da tip 2 diyabetli hastalara 1 ay boyunca 800 IU/gün E vitamini suplementasyonunun bütün lipidleri ve lipid fraksiyonlarını, açlık kan glukozunu ve fruktozamin düzeylerini, TBARS düzeylerini azalttığını, insülin ve C peptid düzeylerini, glutatyon peroksidaz ve SOD aktivitelerini artırdığını, kısacası tip 2 diyabetten korunmada ve tedavisinde E vitamininin yararlı etkiler sağladığı rapor edilmektedir (37).

(2). A Vitamini

A Vitaminleri görme, üreme, büyüme ve epitel dokusunun sağlamlığı için gerekli olan bir grup bileşiklerdir. Diyetdeki retinölün oksidasyonu sonucu oluşan retinoik asit, retinoidlerin görme dışında diğer etkilerinin çoğuna aracılık eder. α -tokoferolle karşılaştırıldığında oldukça zayıf bir antioksidandır. İnsan LDL'sinde α -

tokoferol'ün 1/20'si oranında bulunur ve α -tokoferol bittikten sonra kullanılır (4).

(3). C Vitamini

Askorbik asit; moleküler oksijen, nitrat, sitokrom a ve c gibi bileşiklerin indirgenmesine neden olan ve sulu ortamlarda serbest radikallerle reaksiyona girebilme kabiliyetinde olan suda eriyen bir vitamindir. Plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan defansı oluşturur. LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı korunmada yardımcı olur. Kollojen sentezinde, tirozin yıkımında, epinefrin sentezinde, safra oluşumunda ve pek çok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak rol alır. Süperoksid ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girip onları temizleyen bir antioksidan olmasının yanı sıra tokoferoksil radikalının tekrar tokoferole dönüşmesini sağlar. Bu esnada kendisi de dehidroaskorbata okside olur. C vitamini yetersizliği durumlarında oluşan tokoferoksil radikalleri tokoferole dönüşmesi için GSH ile reaksiyona girecek ve böylece hücredeki GSH miktarını azaltacaktır. Yine plazma C vitamini düşük (0.2 mmol/L'den düşük) olduğu zaman oksidan etki de gösterebilir. Süperoksid dışında Fe⁺³'ü Fe⁺²'ye indirgeyen başka bir ajandır. Bu şekilde demiri Fenton reaksiyonuna girmeye uygun hale getirir. Böylece plazma düzeyleri düşük olduğu zaman süperoksid üretimine katkıda bulunur (4,31-34). Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda C vitamini düzeyleri, sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (38).

GLUTATYON

Hücre içerisinde indirgen formda (GSH) bulunur. Endojen üretilen peroksidlere karşı okside olarak onları indirger. Glutatyon peroksidaz bu reaksiyonu katalizler. Glutatyon etkin olarak hücreyi koruyabilmesi için büyük kısmı redükte halde tutulmalıdır. Bu reaksiyonu da Glutatyon Redüktaz katalizler (Şekil 1). Glutatyonun Glutatyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç duyduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır (1,2,4,7). Yapılan çalışmalarda diyabette GSH düzeylerinin sağlıklı kişilerden anlamlı şekilde düşük olduğu rapor edilmektedir (12).

DİYABETTE KULLANILAN EKSOJEN ANTIÖKSİDAN MADDELER

(1). Melatonin

Lipofilik bir antioksidandır. Aynı zamanda pineal bezden salgılanan ve tümör oluşumunun sınırlandırılması, immun sistemin düzenlenmesi, reproduktif fonksiyonların kontrolü gibi fonksiyonlara sahip bir hormondur. Lipofilik

olduğu için hücrenin bütün organellerine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyerini de geçerek geniş bir alanda etki gösterir. Yapılan çalışmalarda diyabette artmış oksidatif stresi azalttığı belirtilmektedir (39-41). Bilinen en reaktif radikal olan hidroksil radikali ile reaksiyonu sonucu indolil katyon radikali oluşturur. Bu radikal de ortamdaki süperoksid radikalini tutarak etkisizleştirir (39-41).

(2). Anjiyotensin konvertaz enzim inhibitörleri

Bu grup ilaçların temel kullanım alanları aslında hipertansiyon tedavisi ve diyabetik nefropatinin engellenmesi veya ilerlemesinin yavaşlatılmasıdır. Ancak bu ilaçlar aynı zamanda antioksidan aktiviteye sahip ilaçlardır. Anjiyotensin II, NAD(P)H oksidazın protein kinaz C bağımlı aktivasyonu ile süperoksid oluşumunu artırır. Diyabetik böbrekte NAD(P)H oksidazın artması oksidatif stres artışına katkıda bulunur. Yapılan bir çalışmada bu grup ilaçların diyabetli böbrekte SOD aktivitelerini artırdığı ve MDA seviyelerini azalttığı da gösterilmiştir (42).

(3). Sülfanilüreler

Glibenclamide (glyburide)'in katalaz ve SOD aktivitesini artırdığı bulunmuştur (43). Glipizide'de antioksidan aktivite gösteren başka bir sülfanilüre türevi antidiyabetiktir. Gliklazid genel bir serbest radikal temizleyici ve ikinci jenerasyon sülfanilüre grubu bir antidiyabetiktir ve LDL oksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (44-46). Ayrıca diyabette görülen endotelial disfonksiyonu düzelttiğide belirtilmektedir. Bu etkinin gliklazidin metabolik etkilerinden değil antioksidan etkisinden kaynaklandığı vurgulanmaktadır (45).

(4). Metformin

Biguanid grubu bir antidiyabetiktir. Metforminin diyabette kardiyovasküler mortalite oranını azalttığı belirtilmektedir. Bu da muhtemelen metforminin antidiyabetik özelliklerinin yanında başka mekanizmalarında rol oynadığını göstermektedir. Metforminin örneğin eritrosit, karaciğer ve kan glutasyonunu artırdığı ve lipid peroksidasyonunu azalttığı belirtilmektedir (47). Aynı zamanda demir ve bakır gibi metallerle şelat yaparak onların toksik etkilerini yok ettiği için de antioksidan özellik gösterir.

(5). Lipoik Asid

Alfa lipoik asid ağır metallerle oluşan zehirlenmelerde detoksifikasyon ajanı olarak kullanılan bir antioksidandır. Antioksidan özelliği kendisinin dihidro lipoik aside indirgenirken, serbest radikalleri temizlemesinden ve de metal iyonlarıyla şelat yapmasından kaynaklanmaktadır. Hücrelerin glukoz kullanımını artırdığı için diyabet tedavisinde de kullanılmaktadır (48,49).

(6). Allopurinol

Ksantin oksidaz inhibitörü olduğu için ürik asit oluşumunu engelleyen ve hiperürisemi tedavisinde kullanılan bir antioksidandır. Hem ksantin oksidaz ve hem de ksantin dehidrogenaz hipoksantini ksantine ve ksantini de ürik aside dönüştürür. Allopurinol ksantin oksidazı inhibe eder ve aynı zamanda da lipid peroksidasyonunu ve hemoglobin glikasyonunu azalttığı bildirilmektedir (50). Ancak antioksidan olarak bilinen ürik asit düzeylerini de azalttığı için diyabette allopurinolün etkisinin diğer antioksidanlara göre daha zayıf kalacağı belirtilmektedir.

(7). Pentoksifilin

Pentoksifilin diyabette lipid peroksidasyonunu azalttığı belirtilmektedir (51). Pentoksifilin ksantin oksidaz üzerine inhibitör etkisi olan ve periferik damar hastalıklarında kullanılan ksantin türevi bir ilaçtır. Hidrojen peroksid oluşumunu artıran TNF-alfa'nın üretimini düzenler (51,52).

SONUÇ

Diyabet serbest radikallerin arttığı ve/veya antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisidir. Çeşitli yayınlarda bazı antioksidan enzimlerin azaldığı, arttığı veya değişmediği rapor edilmişse de araştırmacıların kesinlikle fikir birliğine vardıkları konu diyabette lipid peroksidasyonunun arttığı ve antioksidan mekanizmaların bozulmuş olduğudur. Bu yüzden diyabet tedavisinde antidiyabetiklere ek olarak antioksidan maddelerin veya antioksidan özellikleri olan antidiyabetiklerin kullanılması oksidatif stresle başa çıkabilmek için tavsiye edilmektedir.

Yazışma adresi:

Yrd. Doç. Dr. Ramazan MEMİŞOĞULLARI,
AİBÜ Düzce Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim
Dalı, Konuralp, DÜZCE
E-posta: rmemisogullari@hotmail.com

KAYNAKLAR

1. Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL: Oxidative Stress in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Endocrine Reviews*. 25: 612–628, 2004.
2. Memişoğulları R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I: Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Type II Diabetes Mellitus. *Cell Biochem Func*. 21: 291-296, 2003.
3. Sacks DB: Diabetes Mellitus. In: Burtis CA, Ashwood ER, (Ed). *Tietz Textbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Co: 766-776, 1999.
4. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C: Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*. 39: 841 – 852, 2005.
5. Memişoğulları R, Bakan E: Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 18: 193– 197, 2004.
6. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 54:176-186, (2001)
7. Sözmen EY: Yaşlanma Biyokimyası. In Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Eds) *İnsan Biyokimyası*, Palme Yayıncılık, Ankara pp: 665-674. 2002.
8. Pratic`o D: Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*. 181: 215–224, 2005.
9. Alper G. Diyabet. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY, (eds). *İnsan Biyokimyası*. Ankara, Palme Yayıncılık, pp: 248-257, 2002.
10. Ostenson, C. G: The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta Physiologica Scandinavica*. 171: 241– 247, 2001.
11. Akçay F, Aksoy H, Memişoğulları R: Effect of breast-feeding on concentration of nitric oxide in breast milk. *Ann Clin Biochem*. 39: 68-69, 2002.
12. Abou-Seif MA, Youssef A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta* 346 (2004) 161–170
13. Daimon M, Hama K, Susa S, Kimura M, Yamatani K, Ohnuma H, Manaka H, Kato T. Hyperglycemia is a factor for an increase in serum ceruloplasmin in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 21:1525-1528, (1998)
14. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N: Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 338: 668–676, 2005.
15. Şekeroğlu MR, Şahin H, Dülger H, Algün E: The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem*. 33:669-674, 2000.
16. Masella R, Benedetto RD, Varı R, Filesi C, Giovannini C: Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16: 577–586, 2005.
17. Taysi S: Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. *Clinical Nutrition*. 24: 385–389, 2005.
18. Memişoğulları R, Çayır K, Keleş M, Akçay F: Plasma Homocysteine and Malondialdehyde Levels in Patients with ESRD and The Effect of Hemodialysis on These Parameters. *Turk J Biochem*. 29 (4): 282-285, 2004.
19. Ozmen B, Ozmen D, Turgan N, Habif S, Mutaf I, Bayindir O: Association between homocysteinemia and renal function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Clin Lab Sci*. 32:279-86, 2002.
20. Rahimi R, Nikfâr S, Larjani B, Abdollahi M: A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 59: 365–373, 2005.
21. Aydın A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isımer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clinical Biochemistry* 34 (2001) 65–70
22. Lipinski, B: Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 15: 203–210, 2001.
23. Memişoğulları R. Plazma Homosistein Düzeyleri ile Tip 2 Diyabet, Komplikasyonları, Kontrolü ve Süresi Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2003
24. Memişoğulları R, Akçay F: Hiperhomosisteinemde Biyokimyasal Mekanizmalar. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2(1):41-49, 2004.
25. Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, RA., Bakan, E: Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*. 21 (5): 200–204, 2002.
26. Taysi S, Gul M, Sari RA, Akçay F, Bakan N: Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med*. 40: 684–688, 2002.
27. Habif S, Turgan N, Mutaf I, et al: Plasma catalase, glutathione peroxidase and selenium levels in adult diabetic patients. *Tr J Med Sci*. 27:139–141, 1997.
28. Taysi S, Kocer I, Memişoğulları R, Kiziltunc A: Serum oxidant/antioxidant status in patients with Behcet's disease. *Ann Clin Lab Sci*. 32(4):377-82, 2002.
29. Komosin´ska-Vassev K, Olczyk K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice* 68 (2005) 207–216
30. Akkuş I, Kalak S, Vural H, Çağlayan O, Menekşe E, Can G, Durmuş B: Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin c levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 244:221-227, 1996.
31. Chao JC, Huang CH, Wu SJ, Yang SC, Chang NC, Shieh MJ, Lo PN: Effects of beta-carotene, vitamin

- C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *J Nutr Biochem.* 13:427-434, 2002.
32. Steinberg FM, Chait A: Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. *Am J Clin Nutr.* 68: 319-327, 1998.
 33. Jialal I, Grundy SM: Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation.* 88: 2780-2786, 1993.
 34. Van Haften RI, Evelo CT, Penders J, Eijnwachter MP, Haenen GR, Bast A: Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and alpha-tocopherol derivatives. *Biochim Biophys Acta.* 1548: 23-28, 2001.
 35. Singh U, Jialal I: Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. *Ann N Y Acad Sci.* 1031:195-203, 2004.
 36. Kutlu M, Naziroglu M, Simsek H, Yilmaz T, Sahap Kukner A. Moderate exercise combined with dietary vitamins C and E counteracts oxidative stress in the kidney and lens of streptozotocin-induced diabetic-rat. *Int J Vitam Nutr Res.* 2005 Jan;75(1):71-80).
 37. Gokkuşu C, Palanduz Ş, Ademoğlu E, Tamer Ş. Oxidant and antioxidant systems in NIDDM patients: influence of vitamin E supplementation. *Endocrine research,* 27(3), 377-386 (2001)
 38. Will JC, Byers T: Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C? *Nutr Rev* 54:193–202, 1996
 39. Cam M, Yavuz O, Guven A, Ercan F, Bukan N, Ustundag N: Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozocin-induced diabetic rats. *J Pineal Res.* 35:212–20, 2003.
 40. Maritim AC, Moore BH, Sanders RA, Watkins JB: Effects of melatonin on oxidative stress in streptozocin-induced diabetic rats. *Int J Toxicol.* 18:161–6, 1999.
 41. Guerrero-Romero F, Rodri'guez-Mora'na M: Complementary Therapies for Diabetes: The Case for Chromium, Magnesium, and Antioxidants. *Archives of Medical Research.* 36: 250–257, 2005.
 42. Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Paszkowski: Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the diabetic kidney: effect of treatment with angiotensin convertase inhibitors. *IUBMB Life.* 49:303–7, 2000.
 43. Bukan N, Sancak B, Bilgihan A, Kosova F, Bugdayci G, Altan N: The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 26(7):519-22, 2004.
 44. Mamputu JC, Renier G: Advanced glycation end products increase, through a protein kinase C-dependent pathway, vascular endothelial growth factor expression in retinal endothelial cells Inhibitory effect of gliclazide. *Journal of Diabetes and Its Complications.* 16:284–293, 2002.
 45. Vallejo S, Angulo J, Peiro C, Sanchez-Ferrer A, Cercas E, Llergo JL, Nevado J, Sanchez-Ferrer CF, Rodrigues-Manas L: Prevention of endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by gliclazide treatment. *Journal of Diabetes and Its Complications,* 14: 224- 233, 2000.
 46. Alper G, Irer S, Duman E, Caglayan O, Yilmaz C: Effect of I-deprenyl and gliclazide on oxidant stress/antioxidant status and dna damage in a diabetic rat model. *Endocr Res.* 31(3):199-212, 2005.
 47. Yilmaz M, Bukan N, Ayvaz G, Karakoc A, Toruner F, Cakir N, Arslan M: The effects of rosiglitazone and metformin on oxidative stress and homocysteine levels in lean patients with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 20(12):3333-40, 2005.
 48. Thirunavukkarasu V, Anitha Nandhini AT, Anuradha CV: Lipoic acid improves glucose utilisation and prevents protein glycation and AGE formation. *Pharmazie.* 60(10):772-5, 2005.
 49. Rudich A, Tirosh A, Potashnik R, Khamaisi M, Bashan N: Lipoic acid protects against oxidative stress induced impairment in insulin stimulation of protein kinase B and glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia.* 42:949–957, 1999.
 50. Desco MC, Asensi M, Marquez R, et al: Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol. *Diabetes.* 51(4):1118–24, 2002.
 51. Radfar M, Larijani B, Hadjibabaie M, Rajabipour B, Mojtahedi A, Abdollahi M: Effects of pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type-2 patients:a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial. *Biomed Pharmacother.* 59(6):302-6, 2005.
 52. Nieder C, Zimmermann FB, Adam M, Molls M. The role of pentoxifylline as a modifier of radiation therapy. *Cancer Treatment Reviews.* 31: 448–455, 2005.