

PAPER DETAILS

TITLE: TIP II DIABETES MELLITUS`LU HASTALARIN ERITROSIT İÇİ Cu,ZnSOD, CAT ve GSH-Px
ANTİOKSIDAN ENZİM DÜZEYLERİNİN ARASTIRILMASI

AUTHORS: Yılmaz ÇİGREMİS,Mehmet KÖSE,Fikret ÖZUGURLU,Yusuf TÜRKÖZ,Mücahit EGRİ

PAGES: 239-244

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/83204>

TİP II DİABETES MELLİTUS'LU HASTALARIN ERİTROSİT İÇİ Cu,Zn-SOD, CAT ve GSH-Px ANTİOKSİDAN ENZİM DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI[†]

Yılmaz ÇİĞREMİŞ*

İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 44069, Malatya, TÜRKİYE, ycigremis@inonu.edu.tr

Mehmet KÖSE, Fikret ÖZUGURLU, Yusuf TÜRKÖZ

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 44069, Malatya, TÜRKİYE

Mücahit EĞRİ

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, 44069, Malatya, TÜRKİYE

ÖZET

Bu çalışmada Tip II Diabetes Mellitus'lu hastaların eritrosit içi Süperoksit Dismutaz (Cu,Zn-SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri ölçüldü. Araştırma grubu, komplikasyonları bulunmayan Tip II Diyabetli 50 kişi ve gönüllü sağlıklı 50 kişiden oluşturuldu. Kontrol grubu eritrosit içi Cu,Zn-SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri sırasıyla $1071,7 \pm 331,5$ Ü/gHb, $175,4 \pm 38,8$ K/gHb, ve $1381,8 \pm 690,6$ Ü/gHb iken, Tip II Diabetes Mellitus'lu hastalarda aynı enzimlerin aktiviteleri sırasıyla $653,2 \pm 215,5$ Ü/gHb, $196,3 \pm 53,3$ K/gHb, ve $1236 \pm 478,6$ Ü/gHb bulundu. Kontrole göre hastaların SOD aktivitesi anlamlı şekilde düşmüşken, CAT aktivitesi ise anlamlı şekilde yüksek olarak tespit edildi ($p < 0,05$). Kontrol ve hasta grubu GSH-Px enzim aktivitesi arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Bu verilerin ışığı altında, Tip II Diabetes Mellitus gibi glukoz toleransının bozulduğu durumlarda serbest oksijen radikallerinin aşırı üretilebileceği ve böylece eritrosit içi oksidan/antioksidan dengede bozulma olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Tip II diabetes mellitus, eritrosit, SOD, CAT, GSH-Px.

THE INVESTIGATION OF ERYTHROCYTE Cu,Zn-SOD, CAT AND GSH-Px ANTIOXIDANT ENZYME LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE II DIABETES MELLITUS

ABSTRACT

In this study, the activities of Superoxide Dismutase (Cu,Zn-SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px) were measured in the erythrocyte of the patients with type II Diabetes Mellitus. The research group included 50 type II diabetic patients without complications and 50 healthy volunteers. The activities of erythrocyte enzymes Cu,Zn-SOD, CAT and GSH-Px from control group were determined as 1071.7 ± 331.5 U/gHb, 175.4 ± 38.8 K/gHb, and 1381.8

[†] Bu çalışma 18-21 mayıs 1998 tarihinde, Kayseri Erciyes Üniversitesi'nde yapılan Uluslararası Katılımlı XVI. Gevher Nesibe Tıp Günleri I. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi ve Workshop'unda poster olarak sunulmuştur.

$\pm 690.6 \text{ Ü/gHb}$ respectively. In the patient with type II Diabetes Mellitus activity of the same enzymes were $653.2 \pm 215.5 \text{ U/gHb}$, $196.3 \pm 53.3 \text{ K/gHb}$, $1236 \pm 478.6 \text{ U/gHb}$. While the SOD activity of patients was significantly lower, the CAT activity was determined to be significantly higher than that of control group ($p < 0.05$). No significant difference between the GSH-Px enzyme activity of patients and control group was observed. Considering these results, we conclude that the conditions where the glucose tolerance impaired such as Type II Diabetes Mellitus may cause in excessive production of the oxygen radicals and the oxidant/antioxidant balance in erythrocytes may be disturbed.

Key Words: Type II diabetes mellitus, erythrocyte, SOD, CAT, GSH-Px.

1.GİRİŞ

Diabetes Mellitus; pankreasın salgıladığı iki hormondan biri olan insulinin salgılanmaması, yetersizliği veya etkisizliği sebebi ile kan şekeri düzeyinin normalin üzerinde bulunması ve idrarda şekeri çıkması sonucu teşhis edilen bir hastalıktır. Juvenil; Tip I ve Adult; Tip II olmak üzere iki tipi vardır (1-3). Her iki tip diyabette de hastalığın iyi kontrol edilmemesi ve ilerlemesi durumunda böbrek yetmezliği, körlük, koroner kalp hastalığı ve iskemik beyin hasarı gibi önemli komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (4). Diyabetli bir bireyin, normal bir bireye göre kör olma riski 25 kat, böbrek yetmezliğine yakalanma riski 20 kat, koroner kalp hastalıklarına yakalanma riskide 2 ile 4 kat daha fazladır (1, 5, 6).

Tip II Diabetes Mellitus'taki hiperglisemik durum serbest radikal oluşumunu artırmaktadır. Glukozun otooksidasyonu sonucu, son yörüngelerinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron içeren yüksek reaktif bileşikler olan serbest radikaller aşırı miktarda oluşmakta ve oksidan/antioksidan denge bozulmakta, böylece oksidatif stres artmaktadır (1, 4, 5, 7). Hiperglisemideki aşırı oksidatif stresin vasküler duvarlarda ve plazmada lipid peroksidasyonunu artırmasıyla aterosklerozis oluşumu arasında ilişkiler bulunmuştur (6). Ayrıca Tip II Diabetes Mellitus'ta vasküler ve diğer komplikasyonların sebebi olarak sigara içimi, hipertansiyon ve dislipidemi gibi faktörler gösterilmektedir. Bazı araştırmacılar bu risk faktörlerinin oksidatif stresi artırarak diyabetin patofizyolojisine ve komplikasyonların gelişimine katkıda bulunduğunu bildirmektedirler (8-10). Oksidatif stresin artması serbest radikal oluşumunda bir artışı da beraberinde getirmektedir. Serbest radikallerin biyolojik etkileri vitamin A ve C, karotenoidler, glutatyon gibi antioksidanlar ve antioksidan enzimler tarafından kontrol edilmektedir. Bu enzimler arasında SOD; hidrojen peroksitin süperoksit anyonuna dismutasyonunu katalizlerken, GSH-Px ve CAT ise hidrojen peroksidin detoksifiye olmasında görevlidir (11, 12).

Bu araştırmada; Tip II Diyabetli bireylerin eritrosit içi Cu,Zn-SOD, CAT ve GSH-Px enzim düzeyleri ölçülerek, diyabetin oksidan/antioksidan sistemi nasıl etkilediği incelenmeye çalışılmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

Materyal

Araştırmamıza; İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Diyabet Kliniğine tedavi amacı ile gelen, yaşları 40- 60 yaş arasında değişen ($51,2 \pm 5,9$ yıl), diyabetlilik süresi 2-4 yıl ($2,9 \pm 0,71$ yıl) arasında olan, klinik incelemeler ve laboratuvar test sonuçları neticesinde hiçbir komplikasyonu bulunmayan, HbA_{1c} %'leri $8,24 \pm 0,59$, kan glukoz oranı $155,14 \pm 21,7$ mg/dL, idrar mikrototal proteinleri $28,82 \pm 7,53$ mg/dL arasında değişen değerlere sahip ve ketoasidozisleri olmayan, herhangi bir antidiyabetik ilaç, sigara, alkol ve benzeri maddeleri kullanmayan 21'i erkek, 29'u kadın toplam 50 Tip II Diabetes Mellitus'lu kişi seçilmiş ve hasta grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubunu ise dahiliye polikliniğine kontrol amacıyla gelen, yaşları 40-60 arasında değişen ($49,1 \pm 6,1$ yıl), klinik incelemeler ve laboratuvar test sonuçlarında sağlıklı çıkan, HbA_{1c} %'leri miktarı $5,30 \pm 0,42$ olan, kan glukoz oranı $89,74 \pm 7,14$ mg/dL, idrar mikrototal proteinleri $27 \pm 6,74$ mg/dL arasında değişen sigara, alkol ve benzeri maddeleri kullanmayan, 29'u kadın, 21'i erkek toplam 50 kişi oluşturmuştur.

(Çizelge 1).

Çizelge 1. Hasta ve kontrol grubu biyokimyasal parametreleri

	Kontrol (n=50) $\bar{X} \pm SD$	Diya be $\bar{X} \pm SD$
Glukoz (mg/dL)	89,74 $\pm$ 7,14	155,14 $\pm$ 21,7*
HbA _{1c} (%)	5,30 $\pm$ 0,42	8,24 $\pm$ 0,59*
İdrar mikrototal proteini (mg/dL)	27,0 $\pm$ 6,74	28,82 $\pm$ 7,53

*Kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir (p<0,05).

Metot

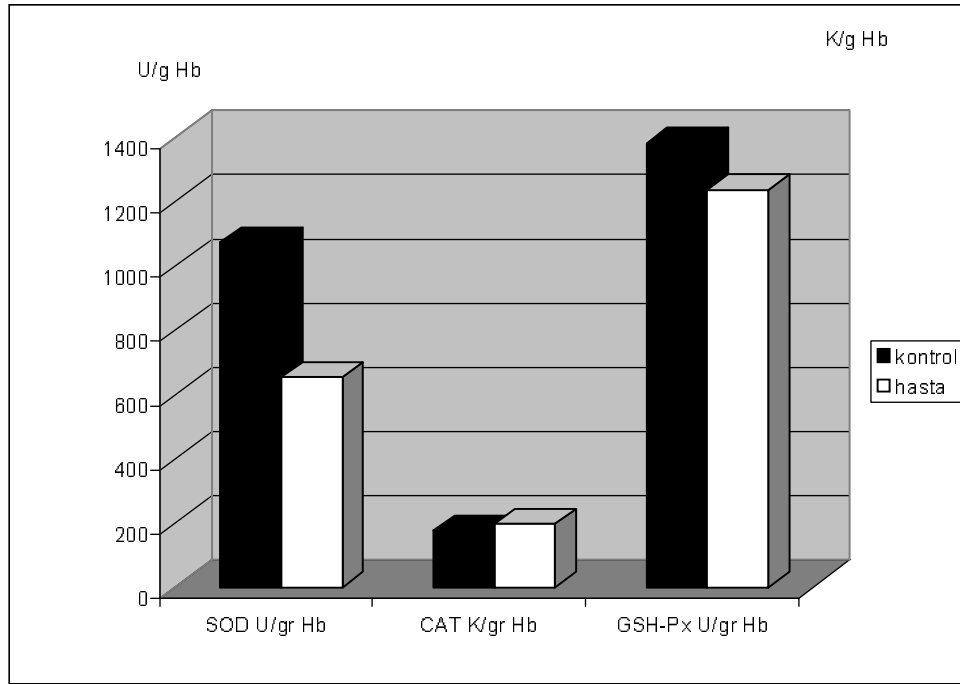
Hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden alınan ven kanı eritrosit hemolizatlarının hazırlanması için kullanılmıştır. Alınan ven kanları Na-EDTA'lı CBC tüplerine konmuş ve +4 °C'de 1500xg'de, 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrılmıştır. Daha sonra eritrositler % 0,9'luk NaCl ile 3 defa yıkanarak plazma artıkları uzaklaştırılmıştır. Enzim analizi için saf eritrosit paketinden bir miktar numune alınmış, alınan bu numune +4 °C'de soğutulmuş distile su ilavesi ile hemoliz edilmiştir. Daha sonra +4°C'de, 1500xg'de, 15 dakika santrifüj edilerek hücre partikülleri çöktürülmüştür. Elde edilen süpernatantlar, hemoglobin ve enzim analizinde kullanılmıştır.

Cu,Zn-SOD aktivitesi 560 nm'de Sun ve ark. (13), ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit anyonlarının nitro blue tetrazolium'u (NBT) indirgemesi esasına dayalı metodu ile ölçülmüştür. Bir ünite SOD, %50'lik NBT inhibisyonu meydana getiren enzim miktarı olarak belirlenmiştir. Sonuçlar hemoglobin başına ünite olarak verilmiştir (Ü/gHb). GSH-Px aktivitesi Paglia ve Valentine (14) metoduna göre NADPH'nin 340 nm'deki oksitlenmesinin takibiyle ölçülmüştür. 1 Ünite enzim, dakikada okside olan mikromol cinsinden NADPH miktarı olarak tayin edilmiştir. Sonuçlar hemoglobin başına ünite olarak verilmiştir (Ü/gHb). CAT aktivitesi ise Aebi' nin (15) metoduna göre 240 nm'de, enzim tarafından yıkılan hidrojen peroksidin izlenmesi esasına göre ölçülmüştür. Sonuçlar hemoglobin başına saniyede yıkılan hidrojen peroksidin oranı olarak verilmiştir (K/gHb).

Sonuçların istatistiki analizinde Student's t testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Hasta ve kontrol grubunun eritrosit içi ortalama Cu, Zn-SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri Şekil 1'de ve Çizelge 2'de verilmiştir. Bu çalışmada Tip II Diabetes Mellitus'lu hastaların eritrosit içi ortalama Cu, Zn-SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bir azalma (p<0,05), CAT aktivitesinde ise anlamlı bir artış tespit edilmiştir (p<0,05). GSH-Px aktivitesinde ise istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.



Şekil 1. Hasta ve kontrol grubu enzim aktiviteleri

Çizelge 2. Hasta ve kontrol grubu eritrosit içi SOD, CAT ve GSH-Px enzim düzeyleri.

	Cu,Zn-SOD ($\bar{X} \pm$)	AT ($\bar{X} \pm$)	G Px ($\bar{X} \pm$)
Kontrol (n=50)	1071,7 $\pm$ 331,5	175,4 $\pm$ 38,8	1381,8 $\pm$ 690,6
İyabetli (n=50)	653,2 $\pm$ 215,5*	196,3 $\pm$ 53,3*	1236 $\pm$ 478,6

*Kontrol grubu ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p < 0,05$).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tip II Diyabet'li hastalar vasküler ve diğer komplikasyonların gelişiminde artan bir riske sahiptirler. Oksidatif stres bu komplikasyonların oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır (8-12, 16-18). Artan oksidatif stres nedeniyle oluşan radikallerin zararlı etkileri antioksidan enzimler (SOD, CAT, GSH-Px) ile yok edilmektedir. Diabetes Mellitus'ta en önemli problem glukozun metabolize edilememesi sonucu kanda birikmesi, enerji üretiminde lipidlerin kullanılması ile zararlı serbest radikallerin artmasıdır. Bu hastalıkta, glukozun otooksidasyonu hızlanmakta ve okside olan glukoz, glukoz asitlerine dönüşürken bir taraftan da serbest radikalleri oluşturmaktadır (7, 19). Diyabette serbest radikallerin üretiminin artmasına yol açan diğer önemli bir etkiye, antioksidanların miktarının azalması sonucu oksidan/antioksidan dengenin bozulmasıdır. Poliol yolunda glukozun sorbitole metabolize edilmesi sonucu NADPH miktarının azalması, okside glutatyonun redükte forma dönüşüm hızını yavaşlatarak antioksidan kapasiteyi negatif yönde etkilemektedir (20, 21). Ayrıca sorbitolün fruktoza oksidasyonundaki artış, prostaglandin G_2 'nin H_2 'ye indirgenmesi aracılığı ile süperoksit anyon oluşumunu artırmaktadır. Her iki durumda da, yani serbest oksijen radikallerinin oluşumunun artması ve/veya antioksidan sistemin kesintiye uğraması diyabetli hastalarda oksidatif stresin artmasına yol açmaktadır (7).

Araştırmamız neticesinde Tip II Diabetes Mellitus'lu hastaların eritrosit içi Cu,Zn-SOD aktivitesinde kontrole göre anlamlı bir azalma, CAT aktivitesinde ise anlamlı bir artma tespit edilmiştir. GSH-Px aktivitesinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamasa da diyabetli grupta, GSH-Px aktivitesinde bir azalma gözlenmiştir. Diğer araştırmalar incelendiğinde bizim sonuçlarımızla benzerlik veya farklıklar göstermektedirler. Inuaki vd.(22) Tip II diyabetlilerin polimorf nuklear lokositlerinin SOD aktivitesinde bir azalma gözlemişlerdir. Balcı vd. (23) alloxan vererek deneysel diyabet oluşturdukları ratların lenslerinde düşük SOD aktivitesi tespit etmişlerdir. Şekeroğlu vd. (11), Sözmen vd. (24), diyabetlilerin serum SOD aktivitelerinin anlamlı şekilde kontrole göre azaldığını bildirmişlerdir.

SOD enzim aktivitesindeki bu azalma artan oksidatif stres nedeniyle olabilir. Artan oksidatif stres oksidan/antioksidan dengeyi bozacaktır. Bir çok çalışmada diyabette oksidatif stresin aşırı arttığı bildirilmiştir (5, 11, 19, 25). Artan oksidatif stres, Cu,Zn-SOD aktivitesindeki değişikliği beraberinde getirebilir. Araştırmamızda Cu,Zn-SOD aktivitesinde görülen azalma, artan serbest oksijen radikallerinin bu enzimi oksitleyerek denatüre etmesinden veya uzun süreli hiperglisemide SOD'un glikolize edilerek inhibe olmasından kaynaklanmış olabilir (26). Ayrıca diyabette görülen hiperglisemiden dolayı bağırsak çinko emiliminin bozulması ve idrarla aşırı çinko atılması, enzimi inaktive etmiş olabilir (27). Bununla birlikte Cho vd. (19), streptozosin ile deneysel olarak diyabet oluşturdukları ratların hepatic SOD aktivitelerini artmış olarak bulmuşlardır. Sözman vd. (20) ise, diyabetli hastaların serum SOD aktivitesinde kontrole göre her hangi bir fark bulamamışlardır. Araştırmamızla zıt gibi görünen bu sonuçların nedeni diyabetin süresi ile ilgili olabilir. Kronik diyabette artan oksidatif stres nedeniyle oluşan serbest radikaller, SOD enzimini inaktive edebilirken akut dönemli oluşturulan diyabette bu durum görülmeyebilir. Nitekim Cho vd. (19), kısa süreli deneysel bir diyabet oluşturmuşlardır. Diyabetin başlangıç safhalarında artmış SOD aktivitesi ile karşılaşmak mümkün olabilir. Cho vd. aynı çalışmada diyabetli grupta artan CAT aktivitesi ve azalan GSH-Px aktivitesi bulmuşlardır. Sözman vd. (20), diyabetlilerin serum CAT aktivitesinde bir artma olduğunu bildirmişlerdir. Yine Şekeroğlu vd. (11), diyabetik hastaların serum ve eritrosit GSH-Px aktivitelerinde kontrole göre anlamlı olmayan bir azalma bildirmişlerdir. Araştırmamızda gözlediğimiz artan CAT aktivitesi; GSH-Px enzim aktivitesinin düşük olmasına paralel bir kompenzasyon mekanizmasından kaynaklanabilir. GSH-Px aktivitesinin düşmesi, glukozun kullanılamaması sonucu yavaşlayan pentoz fosfat metabolik yolunun, daha az NADPH üretmesi nedeniyle olabilir (28). Bu durumda, oluşan hidrojen peroksit ortamdan GSH-Px yerine, CAT tarafından aynı hızla uzaklaştırılacaktır ve böylece CAT enzimi aktivitesini artırmak zorunda kalacaktır.

Sonuç olarak; Tip II Diabetes Mellitus gibi glukoz toleransının bozulduğu durumlarda, serbest oksijen radikallerinin aşırı oluşumuna cevap olarak eritrosit içi antioksidan kapasitede önemli değişiklikler meydana gelebilir. Ancak, diyabetli hastalarda kan glukoz düzeylerinin iyi kontrol edilemediği uzun süreli hiperglisemi durumlarında, SOD ve GSH-Px aktivitelerinin oldukça azalacağı, serbest oksijen radikallerinin tam olarak detoksifiye edilemeyeceği ve bunun sonucunda da eritrosit membranı ve diğer hücrel yapılar da ciddi hasarlanmalar meydana gelebileceği kanaatindeyiz. Bu durumun aşırı ve kontrolsüz gelişimi ise vasküler ve diğer komplikasyonları da beraberinde getirebilir. Diyabette artan oksidatif stres ve buna bağlı olarak antioksidan kapasitenin azalması bu hastalığın tedavisinde antioksidan sistemin güçlendirilmesini gerektirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Wolff SP., "Diabetes mellitus and free radicals" *Br. Med. Bulletin.*, 49(3): 642-652 (1993).
2. Mercangöz A., "Şeker hastalığının (Diabetes Mellitus) fizyolojik mekanizması" *Anadolu Üniv. Fen-Ed. Derg.*, 3 (2): 133-138 (1991).
3. Kutlu Hm., Mercangöz A., "Tip I ve Tip II Diabetes Mellitus'ta bazı serum enzim aktivite düzeyleri" *Anadolu Üniv. Fen Fak. Derg.*, 2: 145-159 (1996).
4. Paolisso G., Giugliano D., "Oxidative stress and insulin action: is there a relationship?" *Diabetologia*, 39: 357-363 (1996).
5. Vanizör B., Örem A., Karahan SC., and et al., "Decreased nitric oxide end-products its relationship with high density lipoprotein and oxidative stress in people with type II diabetes without complications" *Diabetes Res. Clin. Prac.*, 54: 33-39 (2001).
6. Mezzetti A., Cipollane F., Cuccurullo F., "Oxidative stress and cardiovascular complications in diabetes: isoprostanes as new markers on an old paradigm" *Cardiovascular Res.*, 47: 475-488 (2000).
7. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G., "Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular diseases. The role of oxidative stress" *Metabolism*, 44: 363-368 (1995).
8. Pyörälä K., Laakso M., Uusitupa M., "Diabetes and atherosclerosis: an epidemiological view" *Diabetes*, 3: 463-524 (1987).
9. Kanell WB., Hjärtland M., Castelli WP., "Role of diabetes in cardiac disease: conclusion from population

- studies" *Am. J. Cardiol.*, 34: 29-34 (1974).
10. Uusitupa M., Niskanen LK., Sitonen O., and et al., "Five years incidence of atherosclerotic vascular disease in relation to general risk factors, insulin level, and abnormalities in lipoprotein composition in NIDDM and nondiabetic subjects" *Circulation*, 82: 27-36 (1990).
 11. 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 type 2 diabetes mellitus" *Clin. Biochem.*, 33(8): 669-674 (2000).
 12. Battal A., Baykal Y., Erikçi Y., ve diğerleri, "Serbest radikal temizleyici süperoksit dismutaz enziminin ve serum bakır, çinko, selenyum düzeylerinin diabetes mellitus'un kronik komplikasyonları ile ilişkisi" *Güllhane Askeri Tıp Akademisi Bülteni*, 37 (2): 218-222 (1995).
 13. Sun Y., Oberley LW., Li Y., "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase" *Clin. Chem.* 34(3): 497-500 (1988).
 14. Paglia DE., Valentine WN., "Studies on the quantative and qualitative characterization of erythrocyte GSH-Px" *J. Lab. Clin. Med.*, 70(1): 158-169 (1967).
 15. Aebi H., "Methods in enzymatic analysis" *Weinheim, Verlag Chemie*, 3: 273-282 (1982).
 16. Low PA., Nickander KK., "Oxygen free radical effects in sciatic nerve in experimental diabetes" *Diabetes*, 40, 873-877 (1991).
 17. Bloomgarden ZT., "Antioxidants and diabetes" *Diabetes Care*, 20(4): 670-673 (1997).
 18. Zadeh JN., Rahimi A., Sarmadi JT., and et al., "Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM" *Diabetologia*, 40: 647-653 (1997).
 19. Cho SY., Park JY., Park EM., and et al., "Alternation of hepatic antioxidation enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementatation of dandelion water extract" *Clin. Chim. Acta.*, 317: 109-117 (2002).
 20. Sözmen EY., Sözmen B., Delen Y., Onat T., "Catalase/Superoxide dismutase (SOD) and Catalase/Paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control" *Arch. Med. Res.* 32: 283-287 (2001).
 21. Sechi LA., Ceriello A., Griffin CA., et al., "Renal antioxidant enzyme mRNA levels are increased in rats with experimental diabetes mellitus" *Diabetologia*, 40: 23-29 (1997).
 22. Inuaki T., Takanashi K., Toyama K., and et al., "High glucose concentrations abolish the superoxide dismutase response of leucocytes to ascorbic acid or troglitazone in type 2 diabetes mellitus" *Life Sciences*, 70: 1-11 (2002).
 23. Balcı M., Akyol Ö., Zengin N., Kural G., "Antioxidant enzyme status in alloxan diabetic rat lenses" *Türk J. Med. Res.*, 12(1): 1-4 (1994).
 24. Sözmen B., Baram A., Sözmen EY., Aslan L., "Relationship between nitrite/nitrate levels and antioxidant enzyme activities in type 2 diabetes mellitus" *Medical Journal of Ege University*, 10: 67-70 (2000).
 25. Konukoğlu D., Çelik Ç., Akçay T., ve diğerleri., "Streptozosin indüksiyonu ile diabet oluşturulmuş sıçanlarda glikalizid'in eritrosit lipid peroksidasyonu, glutatyon ve glutatyon peroksidaz düzeylerine etkisi" *Klinik Gelişim*, 8(3): 3562-3565 (1995).
 26. Hunt J., Wolff SP., "Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complications" *Free Rad. Res. Commun.*, 12: 115-123 (1991).
 27. Golik A., Cohen N., Remot Y., and et al., "Type II diabetes mellitus, congestive heart failure, and zinc metabolism" *Biol. Trac. Elem. Res.* 39: 171-175 (1993).
 28. Hohman TC., Beg MA., "Diabetic complication: progress in the devolepment of treatments" *Exp. Opin. Invest. Drugs*, 3: 1041-1049 (1994).