



Tip II Diabetes Mellitusda Lipid Peroksidasyonu ve Eritrosit Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Lipid Peroxidation and Erythrocyte Antioxidative Enzyme Activities in Type II Diabetes Mellitus

Emin AKGÜL¹Nevin İLHAN¹Necip İLHAN¹İhsan HALİFEOĞLU¹

Özet

Bu çalışmanın amacı; diabetin patogenezinde rol oynayan lipid peroksidasyonu ile eritrosit antioksidan enzim aktivitelerinin değişimini incelemektir. Çalışmada lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malonildialdehit (MDA) ile antioksidan enzimlerden eritrosit glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri tayin edilmiştir. Sonuçta; plazma MDA düzeylerinin diabetik grupta kontrol grubundan daha yüksek, GPx ve SOD aktivitelerinin ise diabetik grupta kontrol grubundan daha düşük olduğu bulunmuştur. Bütün bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$; $p < 0.05$). Sonuç olarak Tip II diabette oksidatif aktivitenin arttığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diabet, glutatyon peroksidaz, malonildialdehit, süperoksit dismutaz.

Abstract

The aim of this study is to examine the roles of erythrocyte antioxidative enzymes activities and lipid peroxidation in the pathogenesis of diabetes. In this study, the activities of erythrocyte antioxidative enzymes glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) and lipid peroxidation product malonildialdehit (MDA) were determined. In conclusion, plasma MDA levels were found to be higher in the diabetic group than the control group. On the other hand, GPx and SOD levels were found to be lower in diabetic group than those of control group. All findings were statistically significant ($p < 0.001$; $p < 0.05$). As a result oxidative activity was increased in type II diabetes mellitus.

Key Words: Diabetes Mellitus, glutathione peroxidase, malonildialdehit, süperoksit dismutase.

GİRİŞ

Diabetes Mellitus, şiddetli insülin disfonksiyonuna bağlı olarak ortaya çıkan karbonhidrat, lipid ve protein metabolizma bozuklukları ile karakterize kompleks ve oldukça sık rastlanılan bir hastalıktır (1-4).

Bu hastalığın en belirgin özelliği, zamanla ortaya çıkan retinopati, nefropati ve nöropati gibi kronik komplikasyonlarının olmasıdır (1,2,4-7). Özellikle iyi kontrol edilmeyen diabetde oksidatif aktivitenin artması serbest radikal oluşumunu artırmaktadır (3,8,9-12). Diabetde, proteinlerin nonenzimatik glikozillenmesinin artması ve bu glikozillenen proteinlerin oksidasyonu sonucu serbest radikaller oluşmaktadır Diabetde serbest radikal oluşumunun artmasına karşılık radikal tutucu sistemlerde azalma olduğu ileri sürülmüştür. Bu gelişmeler diabet komplikasyonlarının patogenezinde rol oynayan serbest radikallere olan ilgiyi artırmaktadır (12,13).

Serbest radikaller kovalent bağları etkileyerek protein, nükleik asit ve lipidlerin yapı ve fonksiyonlarını bozmaktadır. Serbest radikaller membran enzimlerine ve reseptörlerine kovalent bağlanarak

onların antijenik özellik ve taşıma fonksiyonunu bozar, poliansatüre yağ asidi / protein oranını değiştirir ve lipid peroksidasyonunu başlatır. Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur, lizozomal frajilite artışı ile mikrozomal enzimlerde değişiklikler meydana gelir, hücre ölümü ve kollajen oluşumunda artış görülür. (13-16)

Bu çalışmada ; Tip II Diabetes Mellitus'lu hastalarda, plazma MDA düzeyi ile intrasellüler enzimatik antioksidanlar olan eritrosit süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peraksidaz (GPx) aktivitelerinde görülen değişikliklerin tarafımızdan teyidi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma; Haziran-Eylül 1996 tarihleri arasında Fırat Tıp Merkezi Diabet Polikliniği'ne başvuran Diabetes Mellitus tanısı konulmuş yaşları ortalama 35-70 arasında değişen 57 (19 erkek, 38 bayan) Tip II Diabetli ve 40 (20 erkek, 20 bayan) sağlıklı kişi üzerinde yapılmıştır.

Hasta ve kontrol grubundan 10-14 saat açlıktan sonra, Etilendiamin Tetra Asetik Asit (EDTA) içeren tüplere 5 mililitre (ml.) venöz kan alındı. Eritrosit GPx enzim aktivitesinin ölçümü, Paglia ve Valentine(15) metoduna göre çalışan, Randox marka kitin Technicon RA-XT marka otoanalizöre uyarlanması ile yapıldı. Hemoglobin tayini Drabkin yöntemi ile tam kanda yapıldı. GPx tayini yapılacak örnek aşağıdaki şekilde hazırlandı. 0.05 ml tam kan, kit içerisinde bulunan dilüsyon ajanının 1ml'si ile 5 dakika inkübe edildi. Üzerine 1 ml çift güçlü drabkin ayırıcı eklenerek iyice karıştırıldı ve 20 dakika içerisinde ölçüm yapıldı. Ölçüm sonucunda bulunan değerler dilüsyon faktörü ile çarpılıp hemoglobin değerine bölünerek U/gHb cinsinden enzim aktivitesi bulundu. Tam kan örneği 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek şekilli eleman ve plazması ayrıldı. Plazma MDA tayini için kullanılırken altta kalan hücresel kısım 4 kez %0.9'luk serum fizyolojik ile yıkanarak eritrositler iyice saflaştırıldı. Eritrosit SOD aktivitesi, Randox firmasının enzimatik metotla çalışan kiti kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Örnek olarak kullandığımız eritrosit paketi 0.01 M fosfat tamponu (pH:7.0) ile 25 kez seyreltilerek yüzde inhibisyonu %30-60 arasına düşürüldü. Kit içeriğine uygun olarak hazırlanan standart eğri kullanılarak, ölçüm yaptığımız örneklerin

SOD aktivitelerinin logaritmik değerleri bulundu. Ters logaritmaları alınarak hesaplanan SOD aktiviteleri (U/L) hemoglobin değerlerine bölünerek (U/gHb) türünden enzim aktiviteleri hesaplandı.

Plazma örneklerinde, MDA tayini, Satoh (16) ve Yagi'den (17) modifiye edilen bir yöntemle Shimadzu UV-1201V spektrofotometre kullanılarak yapıldı. Standart olarak 1,1,3,3 tetrametoksiopropan kullanıldı.

Çalışmanın sonuçları, SPSS istatistik programı kullanılarak Student's t testi ile değerlendirildi (18).

BULGULAR

Tablo I' de kontrol ve diabetik gruptaki ortalama plazma MDA düzeyleri, eritrosit GPx ve SOD aktiviteleri görülmektedir.

Tablo I. Sağlıklı kişilerde ve Tip II diabetli hastalarda plazma MDA seviyeleri ile eritrosit SOD ve GPx aktiviteleri

	Kontrol grubu	Tip II Diabet Grubu	t	p
PlazmaMDA (nmol/ml)	2.10±0.5 (n:40)	2.92±0.9* (n:57)	5.73	<0.001
Eritrosit SOD (U/gHb)	1085.33±191.5 (n:40)	877±169.3* (n:57)	9.29	<0.001
Eritrosit GPx (U/g Hb)	39.75±11.3 (n:40)	32.84±10.3** (n:57)	3.07	<0.05

Kontrol grubu MDA düzeyleri 2.10 ± 0.5 nmol/ml iken Diabetik grubun MDA düzeyleri 2.92 ± 0.9 nmol/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubu diabetik grup ile karşılaştırıldığında diabetik grupta, plazma MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p < 0.001$). Eritrosit SOD aktivitesi kontrol grubunda 1085.33 ± 191.5 U/gHb diabetik grubda ise 877 ± 169.3 U/gHb olarak bulunmuştur. SOD düzeyleri gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Eritrosit GPx düzeyleri kontrol grubunda 39.75 ± 11.3 U/gHb, Diabetik grubda ise 32.84 ± 10.3 U/g Hb olarak saptanmıştır. Eritrosit GPx düzeylerinde görülen değişiklikler istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$).

TARTIŞMA

Diabetes mellitus, geçiş metalleri tarafından katalizlenen oksidatif stres sonucu oluşmaktadır. Oksidatif stresin biyolojik yapılar üzerinde belirgin oksidatif zarar verici potansiyeli vardır. Glukoz, as-



korbat ve poliansatüre yağ asitleri v.b gibi düşük moleküler ağırlıklı redükthanlar in vivo olarak geçiş metallerinin katalizlediği oksidasyon ile H₂O₂ ve lipit peroksitleri oluşturarak oksidatif strese katkıda bulunmaktadır. Peroksit miktarındaki küçük değişim anjiyopatideki esansiyel yağ asit metabolizması bozukluğuna katkıda bulunmaktadır. Bu oksidasyonun aldehit ürünleri uzun ömürlü proteinler üzerinde birikerek, pentosidin gibi fluorescent ürünler oluşturmakta ve bu da oksidasyon hızının kaba indeksini göstermektedir (3).

Glikozillenmiş proteinler, otooksidasyona uğrayabilir ve bu sırada serbest radikaller üretilir (8,9). Gillery ve arkadaşları (21), diabetik serumdan hazırlanan glikozile proteinlerin 7.4'ten düşük pH değerlerinde süperoksit radikali oluşturduğunu bulmuşlardır. Sonuçta proteinlerin çapraz bağlanması ve degradasyonu ile diabette moleküler düzeyde hasarlar oluşur (8,9).

Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan SOD ve GPx enzimleri serbest oksijen radikal toksitesine karşı önemli defans mekanizmalarını oluştururlar. SOD enzimi, toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Plazmada üretilen ve eritrosit hücre membranını geçebilen hidrojen peroksit ve süperoksit iyonları eritrositler de toplanır. Eritrositlerde hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu sağlayan GPx; hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin yıkımını katalize eden doğal bir antioksidandır. Peroksizomlarda lokalize GPx, hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin detoksifikasyonu için katalaza alternatif bir enzim sistemi olarak rol oynamaktadır (14,16,22).

Birçok çalışmada diabetik bireylerdeki plazma ve doku lipid peroksidasyon ürünleri (MDA düzeyleri) karşılaştırılmıştır. TBA metodu kullanılarak yapılan bütün bu çalışmalarda diabetik hasta plazmalarında, eritrositlerinde ve doku homojenatlarında, sağlıklı bireylere göre MDA düzeyleri belirgin olarak yüksek bulunmuştur (3,15,16,23-25).

Kaji ve arkadaşları(26), Tip II diabetikli kadın hastalarda plazma MDA düzeyinin arttığını, Gallou (23) Blackman (27) ve Noberasco (28) adlı araştırmacılar da yaptıkları çalışmalarda plazma MDA

düzeylerinin diabetik hastalarda kontrol grubuna göre belirgin derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Parthiban, diabetin komplikasyonlarının gelişmesinde diabetik hastaların eritrosit hücre membranlarında lipid peroksidasyonu ürünlerinin artmasının rol oynadığını belirtmiştir (29). Normolipidemik tip II diabetli hastalar üzerinde Freitas tarafından yapılan bir çalışmada da MDA düzeylerinde görülen artışın serum lipid içeriğinden bağımsız olduğu açıklanmıştır (30,31). Çalışmamızda diabetik hasta grubunda MDA düzeylerinin yükseldiği bulunmuş olup bu bulgu, diğer araştırmacıların sonuçları ile uyum göstermektedir. (p<0.001).

Plazma lipit peroksitlerinin artması sağlam doku ve organlar üzerinde bozucu etkilere neden olur. Diabetik hastalarda olan birçok mikro ve makrovasküler komplikasyondan lipit peroksidasyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Lipit peroksidasyon artışı diabetik hastalarda uzun süreli komplikasyonların bir hazırlayıcı faktörü olabilmektedir. Losada tarafından yapılan bir çalışmada da retinopatili ve retinopatisi olmayan Tip I diabetli hastalarda serum MDA düzeylerinin retinopatili hastalarda anlamlı olarak arttığı bulunmuştur (32). Diabetiklerde plazma lipit peroksitlerinin artması bu bireylerde gözlenen retinopatinin nedenidir. Bundan dolayı plazma lipit peroksit düzeyleri diabetin prognozunu değerlendirmede faydalı bir kriter olabilir denilmektedir (33-35).

Plazmada oksidatif stres sonucu üretilen ve eritrosit hücre membranını geçebilen hidrojen peroksit ve süperoksit iyonları eritrositlerde toplanır. Bu açıdan eritrositler önemli bir havuzdur. Eritrositlerde, hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu sağlayan GPx ve katalaz (CAT), süperoksit radikallerinin dismutasyonunu sağlayan CuZn-SOD ve ayrıca A,C ve E vitaminleri gibi çeşitli antioksidan savunma sistemleri bulunur. Bu savunma sistemleri sayesinde toksik hidroksil radikallerinin oluşması engellenir (36). Tho ve arkadaşları (37), Uzel ve arkadaşları (38), İnal ve arkadaşları (39) diabetik hastalarda eritrosit GPx aktivitesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bizim bulgularımızda bu çalışmalar ile uyum göstermektedir. Fakat Matsubara (40) tarafından yapılan bir çalışmada ise insülin bağımlı diabetes mellitus hastalarının eritrosit GPx ak-

tivitesinde önemli bir artış olduğu saptanmış ve glutasyon redoks sisteminin diabet yada diabetin tedavisi ile stimüle edilebileceği ileri sürülmüştür. Çalışmamızda bulunan GPx düzeylerindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0.05$) ve bu enzim aktivitesindeki azalmanın da enzimin nonenzimatik glikozilasyonu sonucu olabileceği düşünülebilir.

Selvam ve Anuradha (15), Tho (37), Fujiwara (16), Alataş ve İnal (41) tarafından yapılan çalışmalarda da eritrosit SOD aktivitesinin diabette azaldığı bildirilmiştir. Crouch (42) adlı araştırmacı yapmış olduğu *in vitro* bir çalışmada, insan eritrosit SOD aktivitesinin streptozosin uygulamasından 10 dakika sonra, maksimum %40 oranında inhibe edildiğini bildirmiştir. Sakurai ve Tsuchiya (43) adlı araştırmacılar yüksek glukoz konsantrasyonunda CuZn-SOD'un enzimatik aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir. Loven ve arkadaşları, diabetik ratların eritrosit SOD aktivitesinin önemli derecede azalmadığını, bildirmişlerdir (44). Arai tarafından yapılan çalışmada ise CuZn-SOD'un glikozilasyonunun enzim aktivitesinin azalmasına neden olduğu; ancak diabetli hastaların eritrositlerindeki total SOD aktivitesinin değişmediği bulunmuştur. (45). Bu çalışmada Tip II diabet grubundaki SOD aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0.001$).

Diabetik kişilerde görülen SOD aktivitesindeki azalmanın SOD'un nonenzimatik glikozilasyonu nedeniyle olduğu ileri sürülebilir. Nonenzimatik glikozilasyon; LDL, VLDL, hemoglobin, karbonik anhidraz ve Ca-Mg ATPaz gibi bazı protein ve enzimlerde de gösterilmiştir. Diabetik hastaların eritrositlerindeki nonenzimatik glikozilasyon düzeyinin daha yüksek olmasının nedeni eritrositlerin glukoz transportu için insüline ihtiyaç duymaması ve glukozun kolayca sitoplazmaya diffüze olabilmesidir. Bundan dolayı eritrosit proteinlerinin nonenzimatik glikozilasyonu hiperglisemi ile korelasyon göstermektedir (46,47).

Artmış glukoz ve glikozillenmiş proteinler oksidasyona uğrayarak serbest radikal oluşturmakta ve bu da sonuçta organizmada oksidatif strese neden olmaktadır. Diabetin vasküler komplikasyonlarının patogeneğinde, oksidatif strese bağlı lipid pe-

roksidasyonu artışı ve antioksidan savunma sistemlerindeki yetersizliğin önemli etkenler olabileceği kanısına varılmıştır. Sonuç olarak; hem diabetin kendisi hem de komplikasyonlarının yapmış olduğu oksidatif stres oksidatif aktivitede bir artış ve antioksidan kapasitede bir azalmaya neden olmaktadır. Bu durum tarafımızdan yapılan bu çalışma ile de tespit edilmiş olup bulgularımız diğer araştırmacıların bulguları ile tam bir uyum göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Alp, H., Molvalılar, S. (1987) Endokrin Hastalıklar, s. 207-290, Bayda Basın-Yayın-Dağıtım, İstanbul.
- 2- Yenigün, M. (1995). Her Yönü ile Diabetes Mellitus, s.547-737. Haseki Hastanesi Vakfı, İstanbul.
- 3- Wolf, S.P. (1993) Diabetes mellitus and free radical. Free Radicals in Medicine. (Cheeseman KH, Slater TF(eds)), pp 643-649. British Medical Bulletin, London.
- 4- Dods, R.F. (1989) Diabetes Mellitus. Clinical Chemistry (2 nd ed). (Bircher S, Kaplan JE (eds)). pp 436-454. The C.V. Mosby Company.
- 5- Kahn, C.R. (1994) Joslin's Diabetes Mellitus. s. 631-737. A Warely Company.
- 6- Candan, G. (1988). Diabetes Mellitus. s. 117-188. Alemdar Ofset İstanbul.
- 7- Godin, D.V., Saleh, A.W., Maureen, E.G., Goumeniouk, A.D. (1988). Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes. Molecular and Cellular Biochem. 84, 223-231.
- 8- Hunt, J.V., Bottoms, M.A., Mitchinson, M.J. (1993) Oxidative alterations in the experimental glycation model of diabetes mellitus are due to protein-glucose adduct oxidation. Biochem J. 291, 529-535.
- 9- Wolff, S.P., Dean, R.T. (1987) Glucose autoxidation and protein modification: The potential role of autoxidative glycosylation in diabetes. Biochem. J. 245, 243-250.
- 10- Hatemi, H., Ömer, A. (1996) Proteinlerin Glikozillenmesi ve Diabetes Mellitustaki Önemi. Püsula. 2,1-32.
- 11- Candan, G., Hatemi, H., Gündoğdu, S., Baban, N. (1985) Diabetes Mellitus ve Glikozillenmiş Hemoglobin. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi. 18,27-30.
- 12- Gürbilek, M., Aksoy, N.H., Akkuş, I., Kalak, S., Çağlayan, O., Aköz, M., Zeren, E.M. (1994) Diabetiklerde Eritrosit İçi Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz ile Plazma E Vitamininin Araştırılması. S.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi. 10,311-315.
- 13- Ha, H., Kim, K.K. (1995) Role of oxidative stress in



- development of diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 48, 18-21.
- 14- Bono, A., Gaimi, G., Catania, A., Somo, A., Panddfo, L. (1987) Red cell peroxide metabolism in diabetes mellitus. *Horm. Metabol. Res.* 19,264-266.
 - 15- Selvam, R., Anuradha, C.V. (1988) Lipid peroxidation antiperoxidative enzyme changes in erythrocytes in diabetes mellitus. *Indian J. Biochem & Biophys.* 25,268-272.
 - 16- Fujiwara, Y., Kondo, T., Murakami, K. (1989) Decrease of the Inhibition of Lipid Peroxidation by Glutathione-Dependent System in Erythrocytes of Non-Insulin Dependent Diabetics. *Klin Wochenschr.* 67,336-341.
 - 17- Paglia, D.E., Valentine, W.N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab& Clin Med.* 70,1,158-168.
 - 18- Satoh, K. (1978) Serum Lipid Peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin. Chim. Acta;* 90:37-43.
 - 19- Yagi, K. (1984) Assay of Blood Plasma or Serum. *Methods in Enzymology.* 105, 328-331.
 - 20- Ergiln ,M. (1995) SPSS for Windows. S. 124-185 Ocak Yayınları, Ankara..
 - 21- Gillery P., Monboise JC., Maquart FX and Borel JP. Does oxygen free radical increased formation explain long term complications of diabetes mellitus? *Med. Hypothesis.* 1989;29:47-50.
 - 22- Saleh, A.W., Godin, D.V. (1987) Alterations in free radical Tissue-defense mechanisms in streptozocin-induced diabetes in rat. *Diabetes.*36,
 - 23- Gallou, G., Ruelland, A., Legras, B., Mugendra, D., Allanaic, H., Cloarec, L. (1993) Plasma malondialdehyde in Type I and type II diabetic patients. *Clin. Chim. Acta;* 214, 227-234.
 - 24- Draper HH. and Hadley M. Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. *Methods in Enzymology.* 1990;186:421-427.
 - 25- Bird RP., Draper HH. Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Methods in Enzymology.* 1984;105:299-305.
 - 26- Kaji, H, Kurasaki, M., Ito, K., Sato, T., Nioka, T., Kojima, Y. (1985) Increased lipoperoxide value and glutathione peroxidase activity in blood plasma of type 2 (non insulin dependent) diabetic women. *Klin. Wochenschr.* 63,765-768.
 - 27- Blackman, B.C., White, P., Tsou, W., Finkel, D. (1989) Peroxidation of plasma and platelet lipids in chronic cigarette smokers and insulin dependent diabetics. *Ann NY Acad Sci.* 435, 385-386.
 - 28- Noberasco, G., Odetti, P., Boeri, D., Maiello, M., Adezati, L. (1991) Malondialdehyde (MDA) level in diabetic subjects. Relationship with blood glucose and glycosylated hemoglobin. *Biomed. Pharmacother.* 45,193-196.
 - 29- Parthiban, A., Vijayalingam, S., Shanmugasundaram, KR., Mohan, R. (1995). Oxidative stress and the development of diabetic complications-antioxidants and lipid peroxidation in erythrocytes and cell membrane. *Cell.Biol.Int. Dec;*19 (12):987-993
 - 30- Freitas, JP., Filipe, PM., Rodrigo, FG.(1997). Lipid peroxidation in type 2 normolipidemic diabetic patients. *Diabetes. Res. Clin. Pract.* may;36 (2):71-75
 - 31- Freitas, JP., Filipe, PM., Rodrigo, Glycosylation and lipid peroxidation in skin and in plasma in diabetic patients. *CR Seances Soc Biol Fil.*191 (5-6):837-843.
 - 32- Losada, M., Alio, JL.(1996). Malondaldehyde serum concentration in type 1 diabetic with and without retinopathy. *Doc. Ophthalmol.*93(3):223-229.
 - 33- Yagi K. Assay for serum lipid peroxide level and its clinical significance. *Academic Press. Newyork.* 1982;224-241.
 - 34- Türkalp I., Kaptanağası A. Plasma Lipid Peroxide Levels In The Type II Diabetics : Relationship With Long Term Diabetic Complications. *Marmara Medical Journal.*1994; Oct. Volume7 No:4 :143-149.
 - 35- Strange, R.C., Jones, P., Bieknell, J., Scarpello, J. (1992) Expression of CuZn superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocyte from diabetic and non diabetic subject. *Clin. Chim. Acta;* 207,261-263.
 - 36- Inouye, M., Hashimoto, H., Mio, T., Sumino, K. (1998) Levels of lipid peroxidation product and glycated hemoglobin A1 c in the erythrocytes of diabetic patients. *Clin. Chim. Acta. Aug. 28;* 276 (2):163-172.
 - 37- Tho, L.L., Candlish, J.K., Thai, A.C. (1988) Correlates of diabetes markers with erythrocytic enzymes decomposing reactive oxygen species. *Ann. Clin. Biochem.;* 426-431.
 - 38- Uzel, N., Sivas, A., Uysal, M., Öz, H. (1987) Erythrocyte Lipid Peroxidation and Glutathione Peroxidase Activites in patient with Diabetes Mellitus. *Horm. Metab. Res.;* 19,89-90.
 - 39- İnal, M., Kanbak, G., Alataş, Ö. (1994) Antioxidant Enzyme Activities in Diabetes Mellitus. *Tr.J. Med. Sci.;* 21,155-157.
 - 40- Matsubara, L.S., Ferreira, A.L.A., Tornero, M.T.T., Machado, P.E.A. (1992) Influence of diabetes mellitus on the glutathione redox system of human red blood cells. *Brazilian J Med. Biol. Res.;* 25,331-335.
 - 41- Alataş, Ö., İnal, M. (1994) Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity and Reduced Glutathione Level in Patients with Diabetes Mellitus. *Tr. J. Med. Sci.;* 21,9-11.

- 42- Crouch, R.K., Gandy, S.E., Kimsey, G., Galbraith, R.A., Galbrait, G.M.P., Buse, M.G. (1981) The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. *Diabetes*. 30,235-241.
- 43- Sakurai, T., Tsuchiya, S. (1988) Superoxide production from nonenzymatically glycated protein. *Febs*. 236,2,406-410.
- 44- Loven DP., Schedl H., Wilson H., Daabees TT., Stegmik LD., Diekus M. and Oberley L. Effect of insulin and oral glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*. 1986;35:503-507.
- 45- Arai, K., Lizuka, S., Tada, Y., Oikawa, K., Taniguchi, N. (1987) Increase in the glycosylated form and erythrocyte CuZn superoxide dismutase in diabetes and close association of the nonenzymatic glycosylation with the enzyme activity. *Biochim. Biophys. Acta.*; 924,292-296.
- 46- Kennedy, L., Baynes, J.W. (1984) Non-enzymatic glycosylation and the chronic complications of diabetes. An overview *Diabetologica*. 24, 93-98.
- 47- Kondo, T., Murakami, K., Ohtsuka, Y. (1987) Estimation and characterization of glycosylated carbonic anhydrase I in erythrocytes from patients with diabetes mellitus. *Clin. Chim. Acta.*; 166,22