

## Οξειδωτικό Stress. Η σημασία του στην παθογένεια των επιπλοκών του Σακχαρώδη Διαβήτη

Ε. Κουλουρίδης

Δ/ντής Νεφρολογικού Τμήματος  
Γ.Ν.Ν. Κέρκυρας.

### Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια ένα νέο πεδίο έρευνας έχει προκαλέσει το ενδιαφέρον στον τομέα της ιατρικής, σχετικά με το ρόλο των ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Oxylradicals) στην παθογένεια διαφόρων νοσημάτων, όπως του σακχαρώδη διαβήτη, της αθηρωμάτωσης, της καρκινογένεσης, της βλάβης των ιστών κατά την φάση της επαναιμάτωσης μετά ισχαιμία και του γήρατος.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (οξυρίζες) χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός, τουλάχιστον, **αζευγάρωτου** ηλεκτρονίου στο μόριο του οξυγόνου. Η έννοια του αζευγάρωτου ηλεκτρονίου υποδηλώνει ότι ένα ηλεκτρόνιο κινείται μόνο του σε μία τροχιά, γύρω από τον πυρήνα του ατόμου του οξυγόνου, σε αντίθεση με το σύνηθες φαινόμενο της ύπαρξης δύο ηλεκτρονίων, σε κάθε τροχιά, τα οποία παρουσιάζουν αντίθετη **στροφορμή** (spin).

Υπό την έννοια αυτή το ίδιο το μόριο του οξυγόνου αποτελεί οξυρίζα<sup>(1)</sup>. Η ιδιότητα αυτή του οξυγόνου είναι αποτέλεσμα της ατομικής του δομής, η οποία και του προσδίδει τον ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο που κατέχει στην διατήρηση του φαινομένου της ζωής.

Συγκεκριμένα ο ατομικός αριθμός (Z) του οξυγόνου είναι οκτώ (8), γεγονός που σημαίνει ότι διαθέτει οκτώ πρωτόνια και οκτώ ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια είναι κατανεμημένα, γύρω από τον πυρήνα, σε δύο στιβάδες, την στιβάδα K και την στιβάδα L. Η στιβάδα K περιέχει δύο (2) ηλεκτρόνια και η στιβάδα L έξι (6) ηλεκτρόνια.

Τα ηλεκτρόνια της κάθε στιβάδας κινούνται σε συγκεκριμένες τροχιές (τροχιακά ή υποφλοιούς) οι οποίες υπόκεινται σε ορισμένες βασικές αρχές που διέπουν όλα τα στοιχεία του περιοδικού πίνακα. Μία βασική αρχή, σύμφωνα με την οποία καθορίζεται ο αριθμός των ηλεκτρονίων ανά τροχιά, είναι η **απαγορευτική αρχή του Pauli** η οποία ορίζει ότι " δεν είναι δυνατόν να υπάρχουν, στο ίδιο άτομο, δύο ηλεκτρόνια με την αυτή κατάσταση, δηλ. να έχουν και τους τέσσερις κβαντικούς αριθμούς ίδιους"<sup>(2)</sup>.

Με βάση την αρχή αυτή κάθε τροχιακό μπορεί να συμπεριλάβει δύο μόνον ηλεκτρόνια τα οποία θα διαφέρουν μεταξύ τους τουλάχιστον ως προς τον τέταρτο κβαντικό αριθμό (ms), δηλαδή την μαγνητική ροπή που δημιουργείται από την περιστροφή του ηλεκτρονίου γύρω από τον άξονά του (στροφορμή ή spin). Μ' άλλα λόγια δύο ηλεκτρόνια μπορούν να συνυπάρχουν στο ίδιο τροχιακό αρκεί η περιστροφή του ενός, γύρω από τον άξονά του, να είναι αντίθετου φοράς από το άλλο.

Κατόπιν των ανωτέρω τα έξι ηλεκτρόνια της στιβάδας L του ατόμου του οξυγόνου διατάσσονται ως εξής: Τα δύο από αυτά σε τροχιά που χαρακτηρίζεται 2s, το σχήμα της οποίας τείνει να

είναι σφαιρικό. Τα υπόλοιπα τέσσερα διατάσσονται σε τρεις τροχιές οι οποίες χαρακτηρίζονται 2p και το σχήμα τους παρίσταται με δύο σφαίρες ενωμένες σε ένα σημείο, ο επιμήκης άξονας των οποίων προσανατολίζεται προς τις τρεις διαστάσεις του χώρου. Τα δύο από τα τέσσερα αυτά ηλεκτρόνια παρουσιάζουν αντίθετη στροφορμή και καταλαμβάνουν το πρώτο τροχιακό, τα υπόλοιπα δύο παρουσιάζουν την ίδια στροφορμή και καταλαμβάνουν από ένα τροχιακό το καθένα.

Είναι εμφανές ότι με την παραπάνω διάταξη δημιουργούνται οι προϋπόθεσης για την πρόσληψη δύο ακόμη ηλεκτρονίων, από την εξωτερική στιβάδα του οξυγόνου, τα οποία θα παρουσιάζουν αντίρροπα spin, σε σχέση με τα ήδη υπάρχοντα. Η ιδιότητα αυτή είναι εκείνη ακριβώς που του προσδίδει την ικανότητα να συμπεριφέρεται ως οξυρίζα, αλλά, συγχρόνως, και την θεμελιώδη ιδιότητα να αποτελεί τον τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλυσού του κυττάρου καθώς και άλλων, εξαίχουσας σημασίας μεταβολικών διεργασιών οι οποίες είναι συυφασμένες με την ίδια την ύπαρξη και διατήρηση του φαινομένου της ζωής.

### Γενικά περί οξυριζών

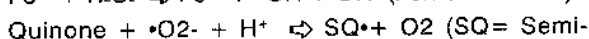
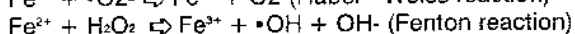
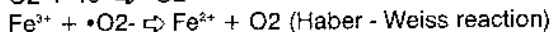
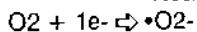
Οι πλέον γνωστές και περισσότερο μελετημένες οξυρίζες είναι η ανιονική ρίζα οξυγόνου (superoxide radical anion) [ $\text{O}_2^-$ ], η ρίζα υδροξυλίου (hydroxyl radical) [ $\text{OH}^\bullet$ ], οι αλκοξυλικές ρίζες (alkoxy radicals) [ $\text{OR}^\bullet$ ] και η ρίζα του νιτρικού οξειδίου (nitric oxide radical) [ $\text{NO}^\bullet$ ].

Η επίδραση των ριζών αυτών στα βιολογικά συστήματα του κυττάρου είναι καταστροφική και συνίσταται, κυρίως, στην υπεροξειδωση των λιπών και των πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την καταστροφή των κυτταρικών μεμβρανών και την ανενεργοποίηση των πρωτεϊνικών ενζύμων του κυττάρου. Τελικό αποτέλεσμα της επίδρασης αυτής είναι ο θάνατος και η αποσύνθεση του κυττάρου<sup>(9)</sup>.

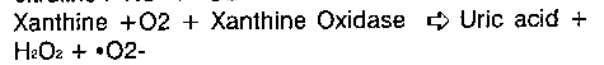
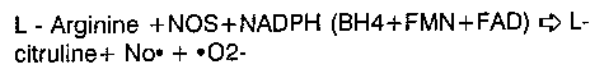
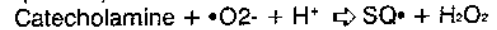
Οι πηγές παραγωγής οξυριζών μπορεί να είναι ενδογενείς (ενδοκυτταρικές) ή εξωγενείς. Στις ενδογενείς πηγές συγκαταλέγονται η αλυσος μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων, των μικροσωμίων και των χλωροπλαστών. Οξειδωτικά ενζυμικά συστήματα του κυττάρου όπως η ξανθίνη οξειδάση, η διοξυγενάση της τρυπτοφάνης, η οξειδάση της γαλακτόζης, η κυκλοοξειγενάση, η λιποξειγενάση και η μονοαμινοξειδάση (MAO). Επίσης η φαγοκυτταρική δραστηριότητα των μακροφάγων, των ουδετερόφιλων, των ηωσινόφιλων και των ενδοθηλιακών κυττάρων αποτελεί σημαντική πηγή παραγωγής οξυριζών. Εξωγενείς πηγές είναι το παρακουάτ, δικουάτ, η αλοξάνη, η δοξορουμπισίνη, η παρακεταμόλη, το κάπνισμα σιγαρέτων, η ιονίζουσα ακτινοβολία, το κόκκινο κρασί κ.α.<sup>(1,3,4)</sup>.

Οι χημικές αντιδράσεις παραγωγής των οξυριζών, σε κυτταρικό επίπεδο είναι οι εξής:

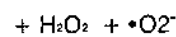
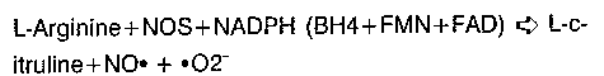
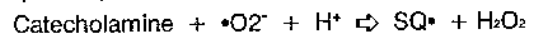
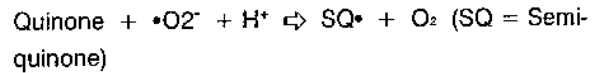
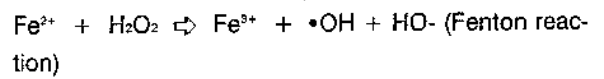
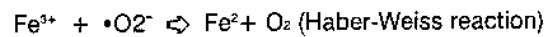
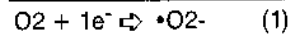
#### Reactive Oxygen Species



quinone)



#### Πίνακας 1: Αντιδράσεις παραγωγής οξυριζών

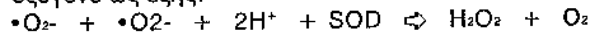


Εξ αιτίας της καταστροφικής τους επίδρασης στο κύτταρο οι οξυρίζες υπόκεινται άμεσα σε αδρανοποίηση με κατάλληλους, κυτταρικούς, μηχανισμούς οι οποίοι εδράζονται στο σημείο παραγωγής τους, διότι εάν αφεθούν ελεύθερες προκαλούν ταχύτατη καταστροφή των βιολογικών υποστρωμάτων.

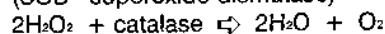
Οι μηχανισμοί αδρανοποίησης συνίστανται σε ενζυμικά συστήματα προκαλούντα αποδόμηση των οξυριζών (degradative enzymes), σε αντιοξειδωτικά συστήματα (antioxidants) και σε μόρια δεσμεύοντα τις οξυρίζες (scavengers).

Η αποδόμηση των οξυριζών επιτελείται κυρίως με τα εξής ένζυμα:

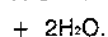
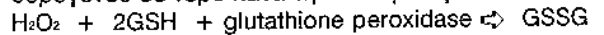
1. Την δισμουτάση του υπεροξειδίου (superoxide dismutase) η οποία μετατρέπει την ρίζα οξυγόνου σε υπεροξειδίο του υδρογόνου, το οποίο στην συνέχεια με την δράση του ενζύμου καταλάση (catalase) μετατρέπεται σε νερό και μοριακό οξυγόνο ως εξής:



(SOD=superoxide dismutase)



2. Την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (glutathione peroxidase), η οποία οξειδώνει την γλουταθειόνη και μετατρέπει το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό κατά την αντίδραση:



Τα αντιοξειδωτικά συστήματα του κύτταρου συνίστανται στην βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), τις βιταμίνες E και K, το α-λιποϊκό οξύ (ALA), τις θειόλες και την Ουμβικουινόνη (Ubiquinone η συνένζυμο Q, το οποίο αποτελεί δομικό στοιχείο της αναπνευστικής αλυσού των μιτοχονδρίων).

Ουσίες οι οποίες δεσμεύουν τις οξυρίζες (scavengers) είναι: Η Ν-2-μερκαπτοπριονύλ-γλυκίνη (MPG, ενδοκυττάρια δράση), η διμεθύλ-θειουρία, η μανιτόλη, η γλυκόζη και το διμεθύλ-σουλφοξείδιο οι οποίες απομακρύνουν υδροξυλικές ρίζες. Αξιοσημείωτο είναι ότι η καπτοπρίλη (μη κυτταρικό στοιχείο) απομακρύνει επίσης οξυρίζες.

## Οξυρίζες και υπεργλυκαιμία

Η υπεργλυκαιμία, η οποία συνοδεύει τον Σακχαρώδη Διαβήτη, αλλά και η αντίσταση στην δράση της ινσουλίνης, ανεξαρτήτως της παρουσίας η μη κλινικού διαβήτη, αποτελούν καταστάσεις στις οποίες διαπιστώνεται αυξημένη παραγωγή οξυριζών. Τα υπάρχοντα, μάλιστα, βιβλιογραφικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ της άποψης ότι τα οξειδωτικά αυτά σώματα ευθύνονται για την εμφάνιση των επιπλοκών του Σ.Δ. αλλά και για το ίδιο το φαινόμενο αντίστασης στην δράση της ινσουλίνης<sup>(4,5)</sup>.

Εάν πράγματι η υπόθεση αυτή είναι αληθής τότε ανοίγονται μπροστά μας τεράστιες προοπτικές για την αντιμετώπιση και θεραπεία του Σ.Δ. οι οποίες τοποθετούν σε εντελώς νέα βάση την προσπάθεια πρόληψης και θεραπείας μιας νόσου η οποία παρουσιάζει εκπληκτικά αυξανόμενη νοσηρότητα και θνησιμότητα στις σύγχρονες, προηγμένες, κοινωνίες.

Ποιες όμως είναι οι αιτίες που οδηγούν σε αυξημένη παρουσία οξυριζών στον Σακχαρώδη Διαβήτη; Από τα βιβλιογραφικά δεδομένα φαίνεται ότι στον Σ.Δ. υπάρχει αφ ενός μεν αυξημένη παραγωγή οξυριζών αφ ετέρου δε μειωμένη αδρανοποίησή τους<sup>(4,6,7,8)</sup>.

Η αυξημένη παραγωγή οξυριζών οφείλεται στην "αυτοοξειδωση" της γλυκόζης, στην γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών και στην δραστηριοποίηση των μονοκύτταρων.

Η αυτοοξειδωση της γλυκόζης (glucose autoxidation) αποτελεί χημική διεργασία στην οποία υπόκεινται όλες οι αλδεύδες, οι οργανικές δηλαδή ενώσεις οι οποίες περιέχουν στο μόριό τους την ρίζα **καρβονυλίου** ( $O=C <$ ).

Η ρίζα καρβονυλίου συμπεριφέρεται ως ηλεκτρικό δίπολο. Η ιδιότητα αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι τα ηλεκτρόνια του διπλού δεσμού (άνθρακος - οξυγόνου) μετατοπίζονται προς την πλευρά του οξυγόνου, λόγω διαφορετικής ηλεκτροχημικής συγγένειας μεταξύ των ατόμων οξυγόνου και άνθρακα.

Η πολικότητα του μορίου ευνοεί την αυτόματη οξειδωση του ατόμου άνθρακος η οποία οδηγεί στην προσθήκη μιας υδροξυλομάδας (-OH) και την δημιουργία ενολικών σωματίων. Οι αντιδράσεις αυτές χωρούν μέσω των ελευθέρων ριζών<sup>(9)</sup> και το τελικό αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ριζών υδροξυλίου (hydroxyl radicals) και υπεροξειδίου του υδρογόνου (hydrogen peroxide)<sup>(10)</sup>.

Η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών είναι ένα φαινόμενο το οποίο λαμβάνει χώρα στον οργανισμό σε καταστάσεις υπεργλυκαιμίας, ανεξαρτήτως αιτιολογίας. Το φαινόμενο αυτό επιτελείται κατά δύο τρόπους<sup>(7)</sup>:

1. Το καρβονυλικό άτομο άνθρακος της γλυκόζης ενώνεται, δια διπλού δεσμού, με το άζωτο της αμινομάδας των αμινοξέων των πρωτεϊνών, παραγόμενης με το τρόπο αυτό μιας **αλδιμίνης** (βάση του Schiff) και ρίζας υδροξυλίου.

2. Η βάση του Schiff υπόκειται σε ενδομοριακή μετατόπιση του διπλού δεσμού και μετατρέπεται στο πλέον σταθερό προϊόν του A-

madori, από το όνομα του πρώτου χημικού που το περιέγραψε. Στην προκειμένη περίπτωση η ρίζα καρβονυλίου εντοπίζεται πλέον στο δεύτερο άτομο άνθρακος του μορίου της γλυκόζης. Το προϊόν αυτό αποτελεί στην ουσία μία **κετοαμίνη** (Ketoamine), η οποία είναι περισσότερο σταθερή από την προηγούμενη αλδιμίνη.

Τα δύο αυτά προϊόντα αποτελούν τα **πρώιμα προϊόντα γλυκοζυλίωσης** των πρωτεϊνών (early glycosylation products) και οι μεν αλδιμίνες απαιτούν μερικές μόνο ώρες για τον σχηματισμό τους οι δε κετοαμίνες μερικές εβδομάδες<sup>(11,12)</sup>. Ο χρόνος ζωής των ανωτέρω προϊόντων διαρκεί όσο και η υπεργλυκαιμία, εξαφανίζονται δε με την υποχώρησή της, γι αυτό και πιστεύεται ότι δεν παίζουν ιδιαίτερο παθογενετικό ρόλο στην εμφάνιση των επιπλοκών του Σ.Δ.

Το φαινόμενο όμως της δημιουργίας γλυκοζυλιωμένων πρωτεϊνών δεν σταματάει στο επίπεδο της βάσης του Schiff και των προϊόντων A-madori αλλά ορισμένα από αυτά δεν επανέρχονται στην προηγούμενη κατάσταση και εάν η υπεργλυκαιμία διαιωνιστεί, τότε δημιουργούνται περισσότερο πολύπλοκα προϊόντα τα οποία είναι σταθερά και διαρκούν όσο διαρκεί και η ζωή της πρωτεΐνης η οποία έχει προσβληθεί.

Τα εν λόγω προϊόντα ονομάζονται **προκεχωρημένα προϊόντα γλυκοζυλίωσης** (advanced glycosylation end products) και έχουν την δυνατότητα να δημιουργούν σταθερούς δεσμούς με τις αμινομάδες παρακειμένων πρωτεϊνών σχηματίζοντας ενδοπρωτεϊνικές γέφυρες (Cross-Links)<sup>(13,14)</sup>. Η διαδικασία αυτή φαίνεται ότι προλαμβάνεται από την χορήγηση αμινογουανιδίνης.

Έχει αποδειχθεί εναπόθεση των προϊόντων αυτών στο κολλαγόνο του σκληρού χιτώνα του ματιού, του τοιχώματος των στεφανιαίων αγγείων και της βασικής μεμβράνης του σπειράματος. Η εναπόθεσή τους αυξάνεται "φυσιολογικά" με την πάροδο της ηλικίας (διαδικασία γήρατος), είναι όμως ιδιαίτερα αυξημένη στους διαβητικούς<sup>(15,16)</sup>.

Το ερευνητικό ενδιαφέρον των εν λόγω προϊόντων έγκειται στο γεγονός ότι έχουν ανακαλυφθεί υποδοχείς στην μεμβράνη των μακροφάγων οι οποίοι συνδέονται με αυτά με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή τους και την απελευθέρωση κυτταροκινών, οξυριζών και αυξητικών παραγόντων όπως IL-1 και TNF<sup>(17)</sup>.

Η διαδικασία της ενεργοποίησης των μακροφάγων οδηγεί σε καταστροφικά αποτελέσματα όπως στην αποδόμηση της θεμελίου ουσίας, την αύξηση της διαβατότητας των τριχοειδών, την πάχυνση και την απώλεια της ελαστικότητας του τοιχώματος των αγγείων καθώς επίσης και την ενεργοποίηση άλλων κυττάρων π.χ. αιμοπεταλίων με αποτέλεσμα την έκλυση του αντίστοιχου αυξητικού παράγοντα (PDGF). Η δράση των αυξητικών παραγόντων επαυξάνεται από την δράση της ινσουλίνης. Επίσης η απελευθέρωση κυτταροκινών οδηγεί στην ενεργοποίηση συγκεκριμένων πρωτοογκογονιδίων όπως των c-myc και c-fos.

## Ομοιότητα των οξυριζών στον Σακχαρώδη

Στον Σακχαρώδη Διαβήτη παρατηρείται μειωμένη αδρανοποίηση των οξυριζών η οποία οφείλεται σε μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα των αντιοξειδωτικών συστημάτων του κυττάρου η οποία εντοπίζεται, κυρίως, στους ιστούς που προσλαμβάνουν γλυκόζη ανεξάρτητα από την παρουσία ινσουλίνης. Οι ιστοί αυτοί είναι ο αμφιβληστροειδής χιτώνας του οφθαλμού, οι φακοί, ο νευρικός ιστός και το ενδοθήλιο των αγγείων.

Η παρουσία υπεργλυκαιμίας, στους παραπάνω ιστούς, οδηγεί σε αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης φρουκτόζης και σορβιτόλης. Τούτο διότι η γλυκόζη μετατρέπεται σε φρουκτόζη με τη βοήθεια του ενζυμικού συστήματος της ρεδοκτάσης της αλδόζης (aldose-reductase) και σε σορβιτόλη με το ενζυμικό σύστημα της δευδρογεννάσης της σορβιτόλης (sorbitol-dehydrogenase). Η αυξημένη αυτή δραστηριότητα προκαλεί έκπλυση των αποθεμάτων των κυττάρων σε νικοτινάμιδο-διφωφο-νουκλεοσίδιο (NADPH) με αποτέλεσμα να μειώνεται η δραστηριότητα των ενζύμων που απαιτούν την παρουσία NADPH, όπως της συνθετάσης του νιτροοξειδίου (NOS) και της ρεδοκτάσης της γλουταθειόνης (glutathione reductase)<sup>(4,6)</sup>.

Άμεσο αποτέλεσμα της μειονεκτικής αυτής ενζυμικής δραστηριότητας είναι η μειωμένη παραγωγή νιτροοξειδίου και γλουταθειόνης. Η μειωμένη παραγωγή νιτροοξειδίου οδηγεί σε αγγειοσύσπαση και βλάβη του ενδοθηλίου των αγγείων, συνεπώς σε υπέρταση και αρτηριοσκλήρυνση, ενώ η μειωμένη παραγωγή γλουταθειόνης οδηγεί σε αυξημένη συγκέντρωση οξυριζών στον ενδοκυττάριο χώρο με όλα τα γνωστά αποτελέσματα.

Μία ακόμα αιτία μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας αντιοξειδωτικών συστημάτων στους παραπάνω ιστούς είναι η ενδοκυττάρια έλλειψη βιταμίνης C, η οποία οφείλεται στο γεγονός ότι η μεταφορά γλυκόζης και βιταμίνης C, στα κύτταρα αυτά, επιτελείται μέσω του ίδιου μεταφορέα. Η παρουσία υπεργλυκαιμίας οδηγεί σε κορεσμό του μεταφορέα από την γλυκόζη η οποία, εν προκειμένω, ανταγωνίζεται την μεταφορά βιταμίνης C στον ενδοκυττάριο χώρο<sup>(10)</sup>.

Η έλλειψη βιταμίνης C, στο μικροπεριβάλλον του ενδοκυττάρου χώρου, δημιουργεί σοβαρό πρόβλημα στην αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης E (τοκοφερόλης) στο επίπεδο των κυτταρικών μεμβρανών. Τούτο διότι η βιταμίνη C ανάγει την οξειδωθείσα βιταμίνη E, συμβάλλοντας έτσι ουσιαστικά στην ανακύκλωση της εν λόγω βιταμίνης της οποίας η παρουσία είναι απαραίτητη για την απομάκρυνση των ηλεκτρονίων που παράγονται κατά την οξείδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης<sup>(10)</sup>.

Αξίζει να σημειωθεί εδώ ότι σε καταστάσεις μειωμένης εισόδου βιταμίνης C στο κύτταρο η ανακύκλωση της βιταμίνης E βασίζεται αποκλειστικά στην ανακύκλωση της υπάρχουσας βιταμίνης C στον ενδοκυττάριο χώρο, την αναγωγή δηλαδή του δευδροασκορβικού σε ασκορβικό οξύ.

Τον ρόλο αυτό τον έχει επωμιστεί ένα

ιδιαίτερα σημαντικό αντιοξειδωτικό σύστημα των κυττάρων, το σύστημα του δευδρολιποϊκού οξέος (DHLA). Σημειωτέον ότι το DHLA μεταφέρεται στον ενδοκυττάριο χώρο μέσω ενός μεταφορέα των λιποϊκών οξέων και επομένως η μεταφορά του δεν επηρεάζεται από την υπεργλυκαιμία.

#### Αιτιοπαθογενετική συσχέτιση οξυριζών και των επιπλοκών του Σακχαρώδη Διαβήτη.

Από τα όσα εξετάθησαν μέχρι τώρα είναι φανερό ότι ο Σακχαρώδης Διαβήτης χαρακτηρίζεται από την αυξημένη παρουσία ελευθέρων ριζών οξυγόνου (αυξημένη παραγωγή - μειωμένη αδρανοποίηση).

Στην παρουσία των ισχυρών αυτών οξειδωτικών σωμάτων αποδίδεται η παθογένεια συγκεκριμένων επιπλοκών του Σ.Δ. όπως η περιφερική νευροπάθεια, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου των μικρών και μεγάλων αγγείων, η καρδιακή ανεπάρκεια, η αθηρωμάτωση και η αρτηριακή υπέρταση που συνοδεύουν τον Σ.Δ., ο καταρράκτης, ακόμα και η αντίσταση στην δράση της ινσουλίνης<sup>(4,10,16,19)</sup>.

Το θεωρητικό υπόβαθρο της πρόκλησης των παραπάνω επιπλοκών βασίζεται σε συγκεκριμένες δράσεις των οξυριζών σε κυτταρικό επίπεδο. Συγκεκριμένα προκαλούν υπεροξείδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα να αυξάνει η διαπερατότητα των κυτταρικών μεμβρανών. Προσβάλλουν τα πρωτεϊνικά μόρια των υποδοχέων στο επίπεδο της μεμβράνης προκαλώντας αύξηση της ικανότητας σύνδεσής τους με τον αγωνιστή (π.χ. υποδοχείς ενδοθηλίνης) ή μείωση (π.χ. β-αδρενεργικοί υποδοχείς).

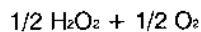
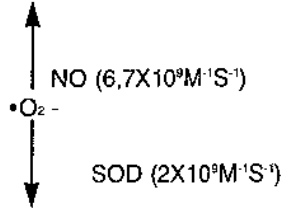
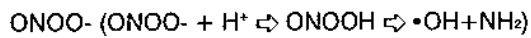
Εάν τα προσβεβλημένα πρωτεϊνικά μόρια αποτελούν τμήματα ενζυμικών συστημάτων τα οποία είναι υπεύθυνα για την μεταφορά ιόντων εκατέρωθεν της μεμβράνης όπως η Na-K-ATPάση, η Ca-ATPάση και ο Na:Ca αντιμεταφορέας, τότε δημιουργούνται συνθήκες αύξησης του ενδοκυττάρου ασβεστίου σε επίπεδα που οδηγούν σε σοβαρές δυσλειτουργίες μέχρι και πλήρη καταστροφή του κυττάρου.

Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι μειώνεται η δραστηριότητα της Na-K-ATPάσης και της Ca-ATPάσης ενώ αυξάνεται η δραστηριότητα του συστήματος αντιμεταφοράς Na:Ca. Η αύξηση του ενδοκυττάρου νατρίου και του ενδοκυττάρου ασβεστίου που προκύπτει, μέσω αυτού του μηχανισμού, οδηγεί σε αγγειοσύσπαση και αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων, με άμεσο αποτέλεσμα την αύξηση της αρτηριακής πίεσης.

Το επίπεδο του ενδοκυττάρου ασβεστίου φαίνεται ότι παίζει θεμελιώδη ρόλο στην μεταφορά γλυκόζης από τον εξωκυττάριο στον ενδοκυττάριο χώρο, παρουσία ινσουλίνης. Συγκεκριμένα φαίνεται ότι η αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου πέραν ενός συγκεκριμένου επιπέδου (370 nmol/lit ύδατος) παρεμποδίζει την είσοδο γλυκόζης στο κύτταρο όσο και εάν αυξηθεί η πυκνότητα της ινσουλίνης στον εξωκυττάριο χώρο. Δημιουργεί δηλαδή συνθήκες **αντίστασης** στην δράση της ινσουλίνης<sup>(4,20,21,22)</sup>.

Οι ελεύθερες ανιονικές ρίζες οξυγόνου είτε θα αδρανοποιηθούν, μέσω του ενζυμικού

συστήματος της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και μοριακό οξυγόνο είτε θα αντιδράσουν με το νιτρικό οξείδιο και θα σχηματίσουν **περοξυνιτρίτες** (peroxynitrite) κατά την αντίδραση:  $\bullet\text{O}_2^- + \text{NO} \rightleftharpoons \text{ONOO}^-$ .



**Πίνακας 2:** Αντιδράσεις παραγωγής Περοξυνιτρίτη και Υπεροξειδίου του υδρογόνου (ενδοκυττάρια συγκέντρωση NO: 70 - 100nM, ενδοκυττάρια συγκέντρωση  $\bullet\text{O}_2^-$ : 10 - 100pM).

Η ταχύτητα της αντίδρασης αυτής είναι τρεις φορές μεγαλύτερη από αυτήν της δισμουτάσης του υπεροξειδίου, γεγονός το οποίο ευνοεί την δημιουργία περοξυνιτρίτη<sup>(23)</sup>.

Ο περοξυνιτρίτης μετατρέπεται στην συνέχεια σε περοξυνιτρικό οξύ (ONOOH, peroxynitrous acid), το οποίο διασπάται σε ρίζες υδροξυλίου και διοξειδίου του αζώτου ( $\text{ONOO}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{ONOOH} \rightleftharpoons \bullet\text{OH} + \text{NO}_2$ )<sup>(24)</sup>. Εκτός όμως από την παραγωγή των ιδιαίτερα τοξικών ριζών υδροξυλίου, ο περοξυνιτρίτης είναι σε θέση να προκαλέσει **νίτρωση** (nitration) των τυροσινικών αμινοξέων των πρωτεϊνών. Η νίτρωση των τυροσινών παρεμποδίζει την περαιτέρω φωσφορυλίωση τους με αποτέλεσμα να καθίστανται ανενεργές οι τυροσινικές κινάσες<sup>(24)</sup>.

Η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω θεωρείται υπεύθυνη για την εμφάνιση των αθηρωματικών βλαβών στο τοίχωμα των αγγείων αλλά και για την τοξικότητα των οξυριζών στο νευρικό ιστό.

Μία ακόμα επιπλοκή που αποδεδειγμένα οφείλεται στην τοξικότητα των οξυριζών είναι ο καταρράκτης που συνοδεύει τον Σ.Δ. αλλά και το φυσιολογικό γήρας. Η εμφάνιση του καταρράκτη οφείλεται στην μειωμένη διαθεσιμότητα γλουταθειόνης, την περίσσια υπεροξειδίου του υδρογόνου, την υπεροξειδωση των λιπών και την έλλειψη αντιοξειδωτικών συστημάτων στον φακό του ματιού<sup>(25)</sup>.

Εχει αποδειχθεί, πειραματικά, ότι η χορήγηση DHLA είναι σε θέση να προλάβει την ανάπτυξη καταρράκτη σε διαβητικά πειραματόζωα, σε ποσοστό -60 %, και η επίδραση αυτή οφείλεται στην αποκατάσταση φυσιολογικών επιπέδων γλουταθειόνης, ασκορβικού, διυδροασκορβικού και τοκοφερόλης στον φακό των πειραματόζωων<sup>(16)</sup>.

Μετά τα όσα εξετέθησαν είναι εμφανής ο πρωταρχικός ρόλος των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην παθογένεια των επιπλοκών του Σ.Δ. Οι θεραπευτικές δυνατότητες που ανοίγονται μπροστά μας είναι ακόμα απροσδιόριστες.

Ήδη έχουν δοκιμαστεί, με επιτυχία, φάρμακα τα οποία διαθέτουν την ικανότητα να αδραντοποιούν τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και παράλληλα να παρουσιάζουν υπογλυκαιμική και

αντιυπερτασική δράση, βελτιώνοντας, συγχρόνως, την αντίσταση στην δράση της ινσουλίνης. Χαρακτηριστικός αντιπρόσωπος της ομάδας αυτής των φαρμάκων είναι η **τρογλιταζόνη** (troglitazone), το μόριο της οποίας μοιάζει με την βιταμίνη E και ανήκει σε μία μεγάλη ομάδα φαρμακευτικών ουσιών που ονομάζονται **θειαζολιδινεδιόνες**<sup>(26)</sup>.

## Summary

**Koulouridis E.: Oxidative Stress: it's importance in the pathogenesis of Diabetes Mellitus complications.**

Increased levels of oxyradicals, naturally produced during the cell metabolism accompany Diabetes Mellitus. Under normal circumstances oxyradicals are rapidly destroyed, because of their lethal effect upon the cells survival. In the case of diabetes mellitus an increased production and decreased destruction of oxyradicals produces accumulation of these dangerous products which are considered responsible for the complications of diabetes, such as: atherosclerosis, hypertension, retinopathy, nephropathy, neuropathy and myocardial degeneration. Certain compounds, which exhibit antioxidant properties, are tried now for therapeutic manipulation of these serious complications.

## Βιβλιογραφία

1. Cohen G. Enzymatic/Nonenzymatic sources of Oxyradicals and regulation of antioxidant defenses. (1994) Ann. N.Y.A.S. 738: 8-14.
2. Αλεξόπουλος Κ.Δ. Ατομική και Πυρηνική Φυσική. Τόμος Τρίτος, σελ. 37. Εκδότης: Βασιλάκης Ε.Γ., Αθήνα 1963.
3. Naylor W.G. (1991). Second Generation of Calcium Antagonists. pp:67-84. eds. Springer-Verlag.
4. Paolisso G, Giuliano D. (1996). Oxidative stress and insulin action: is there a relationship? : Diabetologia 39; 357-363.
5. Packer L. (1993) Workshop report: "The role of anti-oxidative treatment in diabetes mellitus". Diabetologia 36; 1212-1213.
6. Hunt JV, Dean RT, Wolff SP (1988) Hydroxyl radical production and autooxidative glycosylation. Glucose autooxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and aging. Biochem J 256: 205-212.
7. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H (1988) Advanced glycosylation end products in tissue and biochemical basis of diabetic complication. N Engl J Med 318: 1315-1322.
8. Hohman TC, Beg MA (1994) Diabetic complication: progress in the development of treatments. Exp Opin Invest Drugs 3: 1041-1049.
9. Βάρβογλης Γ.Α., Αλεξάνδρου Ν.Ε. Οργανική Χημεία. 6η έκδοση, Αθήνα 1973: 136-137.
10. Packer L. (1994) Antioxidant properties of lipoic acid and its therapeutic effects in prevention of diabetes complications and cataracts. Ann N Y A Science 738: 257-264.
11. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. (1984). Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of

- diabetic complications. *Ann Inter Med* 101: 527-537.
12. Idem. The pathogenic role of nonenzymatic glycosylation in diabetic complications. In: Crabbe MJC, ed. *Diabetic complications: scientific and clinical aspects*. London: Churchill Livingstone, 1987: 94-139.
  13. Eble AS, Thorpe SR, Baynes JW. (1983). Nonenzymatic glycosylation and glucose-dependent cross-linking of proteins. *J Biol Chem* 258: 9406-9412.
  14. Kent MJC, Light ND, Bailey AJ. (1985) Evidence for glucose-mediated cross-linking of collagen after glycosylation in vitro. *Biochem J* 225: 745-752.
  15. Monnier VM, Kohn RR, Cerami A. (1984). Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 583-587.
  16. Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR. (1986). Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 314: 403-408.
  17. Vlassara H, Brownlee M, Manogue K, Pasagian A, Cerami A. (1988). Cachectin/TNF and IL-2 synthesis and secretion are induced by glucose-modified protein binding to a high affinity macrophage receptor. *Science* (in press).
  18. Ceriello A., Pirisi M. (1995) Is oxidative stress the missing link between insulin resistance and atherosclerosis?. *Diabetologia* 38: 1484-1485.
  19. Rosen R, Ballhausen T, Bloch W, Addicks K (1995) Endothelial relaxation is disturbed by oxidative stress in diabetic rat heart: influence of tocoferol as antioxidant. *Diabetologia* 38: 1157-1168.
  20. Clausen T, Elrink J, Morten BR (1974) Insulin controlling calcium distribution in muscle and fat cells. *Acta Endocrinologica* 77: 137-143.
  21. Klip A (1984) Is intracellular Ca involved in insulin stimulation of sugar transport? Fact and prejudice. *Can J Biochem* 62: 1228-1236.
  22. Draznin B, Sussman KE, Kao M et al. (1987) The existence of an optimal range of cytosolic free calcium for insulin-stimulated glucose transport in rat adipocytes. *J Biol Chem* 262: 14 385-14 388.
  23. Hute RE, Padmaja S. ((1993) The reaction rate of nitric oxide with superoxide. *Free Radic Res Commun* 18: 195-199.
  24. Beckman JS (1994) Peroxynitrite versus hydroxyl radical: the role of nitric oxide in superoxide-dependent cerebral injury. *Ann N Y A Science* 738: 69-75.
  25. Bhuyan KC, Bhuyan DK (1984) Molecular mechanism of cataractogenesis. III. Toxic metabolites of oxygen as initiators of lipid peroxidation and cataract. *Curr Eye Res* 3: 67-81.
  26. Nolan J, Ludvik B, Beerdsen P et al (1994) Improvement in glucose tolerance and insulin resistance in obese subjects treated with troglitazone. *N Engl J Med* 331: 1188-1193.