

Stres oksidatif dan nitrosatif pada berbagai faktor risiko *stroke*

Hasyim Fachir¹, Bambang Setiawan^{2,3}

¹Bagian/SMF Ilmu Penyakit Saraf, Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat-RSUD Ulin, Banjarmasin

²Dokter Muda-Bagian Kimia Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

³Kelompok Studi Radikal Bebas dan Pemanfaatan Bahan Alam, Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

ABSTRACT

Hasyim Fachir, Bambang Setiawan – *Oxidative and nitrosative stres in some risk factor of stroke*

Stroke is a disease caused by cerebral blood flow disturbance. Disturbance of cerebral blood flow could induce oxidative and nitrosative stres. Beside that, *stroke* is a also neurodegenerative disease that based on several risk factors. Some risk factors of *stroke* have causative link with oxidative and nitrosative stres. These risk factors include aging, hypertension, smoking, atherosclerosis and diabetes mellitus.

Key words: *stroke* - risk factor - reactive oxygen species - reactive nitrogen species

ABSTRAK

Hasyim Fachir, Bambang Setiawan – *Stres oksidatif dan nitrosatif pada berbagai faktor risiko stroke*

Stroke merupakan penyakit akibat gangguan peredaran darah otak. Gangguan peredaran darah otak dapat memicu stres oksidatif dan nitrosatif. Selain itu, *stroke* termasuk penyakit neurodegeneratif yang dapat didasari berbagai faktor risiko. Berbagai faktor risiko pada *stroke* juga mempunyai hubungan kausatif dengan stres oksidatif dan stres nitrosatif. Faktor risiko tersebut berupa penuaan, hipertensi, merokok, aterosklerosis, dan diabetes melitus.

(B.I.Ked. Vol. 37, No.2: 94-99, 2005)

PENGANTAR

Berdasarkan definisi dari WHO, *stroke* merupakan manifestasi klinik yang berlangsung cepat akibat gangguan fungsi serebral secara fokal maupun menyeluruh (global) dengan gejala-gejala yang terjadi selama 24 jam atau lebih atau berakhir dengan kematian, tanpa adanya penyebab lain yang jelas selain vaskular.^{1,2,3}

Prevalensi *stroke* mengalami peningkatan sejak tahun 1980 terutama pada populasi lanjut usia.

Di Amerika Serikat *stroke* merupakan salah satu penyakit yang kerap terjadi. Setiap tahun 1,5 juta warga negara Amerika menderita *stroke* dan hanya 350.000 penderita yang dapat bertahan. Jumlah biaya setiap tahun yang dikeluarkan secara langsung maupun tidak langsung akibat kejadian *stroke* yang pertama melebihi 40 juta dolar.⁴

Di Indonesia *stroke* merupakan *emerging disease*. Selama 10 tahun terakhir dilaporkan bahwa *stroke* menempati 50% dari ranjang bangsal penyakit saraf setiap tahunnya. Sekitar seperlima dari jumlah tersebut meninggal selama perawatan.⁵ Data *stroke* di Indonesia secara akurat dan lengkap belum ada akan tetapi insidensinya diperkirakan (akan) meningkat seiring dengan peningkatan umur

Hasyim Fachir, Department of Neurology, Faculty of Medicine Lambung Mangkurat University/Ulin Hospital Banjarmasin, Bambang Setiawan, Young Doctor, Department of Chemist Medicine Lambung Mangkurat University Banjarmasin

harapan hidup. Di samping itu, penyakit-penyakit yang merupakan faktor risiko *stroke* juga akan meningkatkan insidensi *stroke*.⁶

Adanya faktor risiko mengakibatkan seseorang lebih peka terhadap serangan *stroke*. Beberapa faktor risiko tersebut di antaranya didasari oleh status stres oksidatif dan nitrosatif.

Istilah stres oksidatif sering digunakan untuk menggambarkan situasi konsentrasi redoks selular. Istilah ini diperkenalkan oleh Sies pada tahun 1991 melalui bukunya yang berjudul *Oxidative Stres*. Pada buku tersebut didefinisikan istilah stres oksidatif, yakni stres yang terjadi ketika keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan mengalami perubahan akibat produksi senyawa oksigen reaktif (SOR) yang berlebih dan atau gangguan mekanisme pertahanan antioksidan selular. Kerusakan yang terjadi sebagai akibat stres oksidatif disebut kerusakan oksidatif.^{7,8}

Analog dengan stres oksidatif, istilah stres nitrosatif telah diperkenalkan oleh Stamler dan koleganya. Stres nitrosatif menunjukkan keadaan ketidakseimbangan pembentukan nitrit oksida (NO \cdot) dan senyawa nitrogen reaktif (SNR) turunan nitrit oksida.⁹ Pada makalah ini akan dibahas peran stres oksidatif dan nitrosatif pada berbagai faktor risiko *stroke*.

PEMBAHASAN

Penuaan

Organisme multiselular pada umumnya mengalami perubahan kualitatif terhadap waktu (menua). Perubahan kualitatif tersebut berkaitan dengan degenerasi progresif fungsi biologis, peningkatan kepekaan terhadap penyakit, serta peningkatan kepekaan untuk mati dalam jangka waktu tersebut.¹⁰ Hal ini terbukti bahwa sekitar 72% dari penderita *stroke* berusia 65 tahun atau lebih dan pada populasi ini angka kematiannya 88%.⁹

Berbagai teori dikemukakan untuk mengungkap terjadinya penuaan. Salah satu teori adalah teori radikal bebas. Teori radikal bebas menyatakan bahwa proses degeneratif yang berkaitan dengan menua merupakan dampak dari kerusakan akibat radikal bebas.¹⁰ Pada teori ini, radikal bebas yang dibentuk selama proses pernafasan dan metabo-

lisme dapat menyebabkan kerusakan endotel dan mutasi DNA. Kerusakan sel endotel dan DNA tersebut dapat mengakibatkan berbagai penyakit yang berhubungan dengan usia lanjut maupun kanker akibat mutasi genetik.¹¹ Sel endotel mempunyai kemungkinan yang menetap untuk terpajan oleh senyawa oksigen reaktif sehingga mengalami kerusakan oksidatif. Kerusakan oksidatif pada sel endotel dipertimbangkan sebagai salah satu mekanisme dasar terjadinya aterosklerosis.¹²

Hipertensi

Hipertensi adalah tekanan darah di atas tekanan darah normal. Hipertensi merupakan prediktor yang sangat kuat dan konsisten bagi terjadinya *stroke*. Faktor risiko ini menyertai 70% kejadian *stroke*. Hipertensi meningkatkan *stroke* melalui pembersihan aterosklerosis. Penelitian metaanalisis menyimpulkan bahwa terjadi peningkatan 10-12 kali risiko *stroke* pada seseorang dengan kategori tekanan darah diastolik sangat tinggi (rerata 105 mmHg) dibandingkan tekanan yang rendah (rerata 76 mmHg).¹³

Salah satu mekanisme yang diduga menjadi penyebab hipertensi adalah peningkatan pembentukan radikal superoksida oleh angiotensin II di dinding pembuluh darah. Lonjakan radikal superoksida akan bereaksi dengan nitrit oksida menghasilkan radikal peroksinitrit.⁷

Angiotensin II dapat merangsang produksi senyawa oksigen reaktif di antaranya radikal superoksida melalui aktivasi enzim NADH (nikotinamid adenin dinukleotida) atau NADPH (nikotinamid adenin dinukleotida fosfat) oksidase di membran. Selain itu, ketidakseimbangan antara penurunan produksi nitrit oksida dan peningkatan produksi radikal superoksida akan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel. Selanjutnya, fungsi endotel akan terganggu secara progresif, yang ditandai peningkatan tekanan darah dengan derajat disfungsi terkait dengan keparahan hipertensi.¹⁴

Merokok

Akhir-akhir ini merokok sebagai faktor risiko terjadinya *stroke* telah dapat diterima.¹⁵ Menurut laporan umum Ahli Bedah Amerika, pada tahun 1985 sebanyak 18% penderita *stroke* yang meninggal adalah perokok.⁷ Merokok sigaret merupakan salah satu faktor risiko *stroke* iskemik dengan risiko relatif

1,5. Berhenti merokok mengurangi risiko serangan *stroke* sebanyak 30-40%. Prevalensi *stroke* lebih tinggi pada wanita yang bersuami perokok dibanding wanita dengan suami bukan perokok.¹⁶

Komponen kimiawi di dalam rokok dan asapnya cukup kompleks. Rokok yang dibakar akan mengeluarkan bermacam-macam produk hasil pembakaran tidak lengkap dari daun tembakau, pembungkus rokok, zat pengawet, aroma, filter, serta pestisida yang digunakan sewaktu tembakau ditanam.¹⁷ Asap rokok dapat dipisahkan oleh filter menjadi fase gas dan fase partikulat (fase tar). Kedua fase tersebut mengandung radikal bebas.⁷ Selain akibat radikal bebas pada asap rokok, kemampuan merusak juga berasal dari senyawa oksigen reaktif pada aktivasi fagosit dalam tubuh.¹⁸

Fase gas mengandung radikal bebas dengan waktu hidup yang lebih pendek dibanding fase tar. Fase gas mengandung 10^{15} radikal bebas tiap hembusan yang terdiri atas radikal alkoksil, peroksil, dan radikal karbon sentral.⁷

Fase tar mengandung 10^{17} radikal per gram yang dapat dideteksi dengan ESR (*electron spin resonance*), dan sebagian besar sangat stabil sehingga menetap dalam hitungan jam. Fase ini mengandung quinon lipofilik dalam konsentrasi tinggi. Radikal semiquinon terperangkap pada matrik polimer dan akan mengalami interkonversi menjadi quinon dan hidroquinon. Senyawa ini dalam sistem biologis akan mengalami siklus redoks yang akan menghasilkan spesies oksidan berupa superoksida dan hidrogen peroksida. Tidak hanya dalam sistem biologis, keberadaan fase tar pada larutan juga menghasilkan radikal superoksida dan hidrogen peroksida.^{7,19}

Superoksida dan hidrogen peroksida dapat membentuk radikal hidroksil apabila terdapat pada lokasi tapak katalisis besi. Selain itu, superoksida dapat menuju ke endotelium dan bereaksi dengan nitrit oksida membentuk peroksinitrit. Reaksi ini akan mengurangi derajat vasoaktif nitrit oksida dan menurunkan respon vasodilator endotelium.¹⁹

Merokok sebagai faktor risiko *stroke* juga terlibat pada munculnya aterosklerosis. Munculnya aterosklerosis pada pembuluh darah perokok didahului oleh penurunan antioksidan vitamin C dan E. Penurunan antioksidan vitamin C dan E akan memicu peroksidasi lipid. Selain itu, pada perokok

juga terjadi penurunan *high density lipoprotein* (HDL) plasma. Penurunan HDL plasma tersebut disebabkan peran aldehid asap rokok sebagai penghambat aktivitas enzim LCAT (*lecitin cholesterol acyl transferase*). Asap rokok juga merusak endotel vaskular, memicu adhesi fagosit ke endotel, agregasi platelet, koagulasi darah, serta berperan sebagai vasokonstriktor.⁷

Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyakit multifaktorial dengan karakter berupa pengerasan dan penebalan dinding arteria. Area pada vaskular yang dipengaruhi aterosklerosis meliputi sel mononuklear, proliferasi sel otot polos, dan komponen matriks ekstraselular. Aterosklerosis biasa digambarkan sebagai penyakit inflamasi kronik dengan berbagai faktor risiko. Senyawa oksigen reaktif yang berlebih ternyata terlibat pada patogenesis aterosklerosis. Stres oksidatif akan memicu ekspresi protein kinase seperti adhesi kinase fokal dan molekul adhesi interselular seperti *intracellular adhesion molecule-1* (ICAM-1).¹⁰

Asal mula aterosklerosis bersifat tak tentu, akan tetapi terdapat teori yang menyatakan bahwa kejadian aterosklerosis didahului oleh kerusakan endotelium vaskular. Kerusakan pada endotelium akan diikuti masuknya monosit ke dinding vaskular dan berkembang menjadi makrofag. Monosit dan makrofag yang teraktivasi dapat memicu kerusakan sel di sekitarnya. Kerusakan sel tersebut diakibatkan oleh radikal superoksida, hidrogen peroksida, enzim hidrolitik serta radikal nitrit oksida yang disekresi makrofag dan monosit. Selain makrofag dan monosit, radikal superoksida dan nitrit oksida juga dihasilkan oleh sel endotel. Selanjutnya, radikal superoksida dan nitrit oksida yang diproduksi oleh makrofag/monosit dan endotel akan bereaksi membentuk radikal peroksinitrit.⁷

Selain kerusakan endothelium vaskular, hiperkolesterolemia merupakan faktor penting dalam patogenesis aterosklerosis. Kadar kolesterol yang tinggi disebabkan oleh kenaikan kadar *low density lipoprotein* (LDL). Dalam keadaan normal tempat-tempat predileksi sudah ada, namun apabila kadar LDL normal pembentukan ateroma tidak terjadi. LDL yang ada dalam peredaran darah ditangkap dan diendositosis oleh sel endotelium,

sedangkan LDL yang berhasil menerobos sub intima akan ditangkap dan di-endositososis oleh monosit yang telah berubah menjadi makrofag. Baik sel endotelium maupun makrofag memiliki reseptor LDL.²⁰

Keadaan menjadi sama sekali berubah apabila kadar LDL karena suatu sebab meningkat. Endositososis oleh sel-sel endotelium dan makrofag terhenti bila sel tersebut telah jenuh dengan kolesterol. Hal ini terjadi karena sel jaringan memiliki semacam "katup pengaman": bila sel tersebut telah jenuh dengan kolesterol maka dia akan berhenti memaparkan reseptor LDL pada permukaannya. Akibatnya, terjadi penumpukan LDL dalam ruang sub intima. LDL yang menumpuk akan mengalami oksidasi oleh senyawa oksidan, antara lain radikal superoksida yang disekresi oleh makrofag maupun sel otot polos.²⁰

Modifikasi oksidatif LDL merupakan faktor yang paling mendasar dalam memicu aterosklerosis. LDL teroksidasi secara cepat akan diambil oleh makrofag, menyebabkan penumpukan lipid dan pembentukan sel busa (*foam cell*) yang bersifat kemotaktik bagi monosit dan limfosit T. Kondisi ini akan meningkatkan produksi sitokin inflamasi dan faktor pertumbuhan, mendukung aktivasi prokoagulan, dan mengganggu respon vasomotor. Temuan tentang adanya kaitan yang kuat antara pengukuran oksidasi lipoprotein dan percepatan penebalan dinding arteria karotis pada pria usia pertengahan memberi bukti langsung pentingnya oksidasi lipoprotein pada aterogenesis.²¹

Beberapa penelitian juga membuktikan bahwa penghambatan aterosklerosis di laboratorium hewan coba dapat diperankan oleh antioksidan, di antaranya probukol, butyl hidroksitoluen, dan vitamin E. Temuan ini meyakinkan bahwa stres oksidatif berperan dalam perkembangan aterosklerosis.²²

Diabetes melitus

Pada penelitian Framingham, selama 20 tahun pertama penelitian didapatkan sekitar 8% pria dan 6% wanita terdiagnosis menderita diabetes melitus. Setelah dilakukan pengamatan lanjutan pada subyek tersebut ditemukan insidensi *stroke* terjadi dua kali lipat pada diabetesi pria dan tiga kali lipat pada diabetesi wanita. Pada penelitian di India

kejadian *stroke* pada diabetesi tipe 2 didapatkan sebesar 1,12%.²³ Selain itu, dari seluruh komplikasi diabetes melitus insidensi *stroke* sebesar 4,2%.²⁴

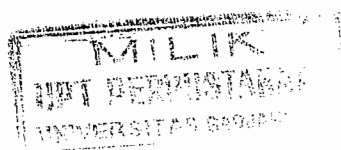
Pada diabetes melitus terdapat tiga mekanisme peningkatan stres oksidatif dan nitrosatif, yakni glikasi nonenzimatik pada protein, jalur poliol sorbitol (aldose reduktase), dan autooksidasi glukosa.

Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Sifat toksik tersebut disebabkan oleh kemampuan kimiawi gugus karbonil aldehid yang dimilikinya. Meskipun sebagian besar keberadaan gula pereduksi dalam larutan sebagai struktur cincin nonaldehid, glukosa dalam bentuk rantai lurus merupakan aldehid.²⁵ Aldehid merupakan senyawa yang mampu berikatan secara kovalen sehingga terjadi modifikasi protein.²⁶

Selain glukosa, semua jenis gula pereduksi juga mampu menyelenggarakan reaksi glikasi pada bermacam protein. Reaksi ini memiliki kemaknaan patologis yang besar.²⁷ Reaksi secara nonenzimatik glukosa darah dengan protein di dalam tubuh akan berlanjut sebagai reaksi *browning* dan oksidasi. Reaksi tersebut selanjutnya dapat menyebabkan akumulasi modifikasi kimia protein jaringan.²⁸ Secara keseluruhan perubahan kimia ini dikenal sebagai reaksi Maillard.²⁹

Reaksi Maillard dapat terjadi pada kondisi penuaan fisiologis *in vivo* sebaik kondisi *in vitro* serta meningkat pada keadaan hiperglikemia. Di samping itu, reaksi tersebut juga berkaitan dengan komplikasi kronik diabetes melitus.³⁰ Reaksi ini secara umum terdiri atas empat tahap, yaitu:^{30,31,32}

1. Kondensasi non-enzimatik gula pereduksi, aldehid atau ketosa dengan gugus amino bebas dari protein atau asam nukleat sehingga membentuk glikosilamin. Reaksi ini dikenal sebagai fase 1 serta secara alamiah bersifat reversibel dan terjadi dalam beberapa jam (kurang dari 24 jam).
2. Pada fase 2 terjadi penataan ulang glikosilamin menjadi produk Amadori. Reaksi ini terjadi akibat kadar glukosa yang masih tinggi dalam waktu lebih dari 24 jam. Produk Amadori tersebut bersifat toksik bagi jaringan namun masih reversibel. Kadar produk Amadori pada sejumlah protein meningkat sebanding dengan derajat hiperglikemia pada diabetes melitus.



3. Selanjutnya, penataan ulang dan dehidrasi berganda produk Amadori menjadi amino atau senyawa karbonil reaktivitas tinggi seperti 3-deoxyglucosane.
4. Reaksi antara senyawa karbonil dengan gugus amino lain dilanjutkan proses penataan ulang membentuk beragam *advance glycosylation ends products* (AGE-products/AGEs) sebagai petunjuk *cross linking* dan *browning* pada protein.

AGEs merupakan salah satu produk sebagai penanda modifikasi protein akibat reaksi gula pereduksi terhadap asam amino.³³ Akumulasi AGEs di berbagai jaringan merupakan sumber utama radikal bebas sehingga mampu berperan dalam peningkatan stres oksidatif, serta terkait dengan patogenesis komplikasi diabetes.¹⁰ Pada diabetes akumulasi AGEs secara umum mempercepat terjadinya aterosklerosis. Pengikatan AGEs pada reseptor makrofag spesifik (RAGE) mengakibatkan sintesis sitokin dan faktor pertumbuhan serta peningkatan stres oksidatif.³⁴

SIMPULAN

Stroke merupakan salah satu penyakit neurodegeneratif sebagai akibat gangguan peredaran darah otak. Beberapa faktor risiko *stroke* ternyata berkaitan dengan stres oksidatif dan nitrosatif. Kondisi stres oksidatif dan nitrosatif akan mengarah pada munculnya aterosklerosis meskipun aterosklerosis juga termasuk faktor risiko *stroke*.

KEPUSTAKAAN

1. Aliah A, Kuswara FF, Limoa A, Wuysang G. Gambaran umum tentang Gangguan Peredaran darah Otak (GPDO) Dalam: Kapita Selekt Neurologi. Editor Harsono. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 2000:81-102.
2. Suroto. Kadar sitokin pro-inflamatorik dan jumlah neutrofil pada *stroke* iskemik akut. Berkala Ilmu Kedokteran 2002; 34:77-82.
3. Dalal PM. Ischemic *stroke*: management in first six hours. Neurol. India. 2001; 49:104-15.
4. Quilliam BJ, Lapane KL. Clinical correlates and drug treatment of residents with *stroke* in long-term care. *Stroke* 2001; 32:1385-93.
5. Misbach J. *Stroke* morbidity in Bogor area and surrounding: a prospective observational study. Maj. Kedokt. Indon. 2001; 51(19):328-31.
6. Makmur T, Anwar Y, Nasution D. Gambaran *stroke* berulang di RS. H. Adam Malik Medan. Nusantara 2002; 35:1-5.
7. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radical in biology and medicine. 3rd edition. New York: Oxford University Press. 1999.
8. Cherubini A, Polidori C, Benedetti C, Ercolani S, Senin U, Mecocci P. Association between ischemic *stroke* and increased oxidative stres. SVCC 2002.
9. Klatt P, Lamas S. Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stres. Eur. J. Biochem. 2000; 267:4928-44.
10. Droge W. Free radical in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 2002. 82:47-95.
11. Hie OL. Antioksidan alamiah: salah satu upaya meningkatkan kualitas hidup lansia. Disampaikan pada Kursus Penyegar dan Pelatihan Radikal Bebas: Dasar, Aplikasi dan Pemanfaatan Bahan Alam, Jakarta, 16 April, 2001.
12. Miller S, Walker SW, Arthur JR, Nicol F, Pickard K, Lewin MH. Selenite protects human endothelial cells from oxidative damage and induces thioredoxin reductase. Clin. Sci. 2001; 100:543-50.
13. Bronner L, Kanter DS, Manson JE. Primary prevention of *stroke*. N Engl J Med 1995; 23:1392-400.
14. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Matsuura H, Oshima T, Chayama K. Endothelial function and oxidative stres in renovascular hypertension. N Eng J Med 2003; 346:1954-62.
15. Iswadi S. Merokok sebagai faktor risiko *stroke*. J. Ked YARS1. 2003; 11(2):111-14.
16. Zhang X, Shu XO, Yang G. Association of passive smoking by husbands with prevalence of *stroke* among Chinese women smokers. Am. J. Epid. 2005; 161(3):213-18.
17. Priatno LJ, Suhardjo, Gunawan W. Kadar selenium dalam lensa katarak pada perokok dan bukan perokok. Fatmawati J Health Sci 2001; 3(9):338-43.
18. Morrow JD, Frei B, Longmire AW. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F₂-isoprostanes) in smokers. N Eng J Med 1995; 332:1198-203.
19. Heitzer T, Yla-Herttuala S, Luoma J, Kurz S, Munzel T, Just H, *et al*. Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia: role of oxidized LDL. *Circulation* 1996; 93:1346-53.
20. Suryohudoyo P. Kapita Selekt Ilmu Kedokteran Molekuler. Jakarta: Penerbit Sagung Seto. 2000.
21. Gale CR, Ashurts HE, Powers HJ, Martyn CN. Antioxidant vitamin status and carotid atherosclerosis in the elderly. Am J Clin Nutr 2001; 74:402-8.
22. Kushi LH, Folsom AR, Prines RJ, Mink PJ, Wu Y, Bostick RM. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. N Eng J Med 1996; 334:1156-62.
23. Dalal PM, Parab PV. Cerebrovascular disease in type 2 diabetes mellitus. Neurol. India. 2001; 50:380-385.
24. Muthalib. Komplikasi kronik diabetes mellitus. Medika 2000; 1:1-7.

25. Rahbani-Nobar ME, Rahimi-Pour A, Rahbani-Nobar M, Adi-Beig F, Mirhashemi SM. Total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathion peroxidase in diabetic patients. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences* 1999; 12(4):109-14.
26. Matsuoka T, Kajimoto Y, Watada H. Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. *J. Clin. Invest.* 1997; 99(1):144-50.
27. Facchini FS, Humphreys MH, DoNascimento C, Abbasi F, Reaven GM. Relation between insulin resistance and plasma concentrations of lipid hydroperoxides, carotenoids, and tocopherols. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:776-9.
28. O'Connell BS. Select vitamins and minerals in the management of diabetes. *Diabetes Spectrum* 2001; 14(3):133-48.
29. Barbagallo M, Dominguez LJ, Tagliamonte MR, Resnick LM, Paolisso G. Effects of vitamin E and glutathione on glucose metabolism role of magnesium. *Hypertension* 1999; 34:1002-6.
30. Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J. Nutr.* 2002; 132:897-900.
31. Oldfield MD, Bach LA, Forbes JM. Advanced glycation end products cause epithelial-myofibroblast trans-differentiation via the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *J. Clin. Invest.* 2001; 108:1853-63.
32. Soesilowati S. Diabetic neuropathy: pathogenesis and treatment. *Acta Med Indones* 2003; 35(1):27-34.
33. Niwa T, Katsuzaki T, Miyazaki S. Immunohistochemical detection of imidazolone, a novel advanced glycation end product, in kidney and aortas of diabetic patients. *J. Clin. Invest.* 1997; 99(6):1272-80.
34. Beckett AH, Kalsi VS. Compelling need for supplementation: "How specific nutrients help retard the complications of diabetes melitus. Disampaikan pada Symposium "Compelling Need For Nutrient Therapy in The Treatment of Diabetes Mellitus and The Associated Complications, Surabaya, 8 February, 2003.