

Bogna Wierusz-Wysocka

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego, Szpital im. F. Raszei w Poznaniu

Związki patogenetyczne między mikro- i makroangiopatią cukrzycową

Część I. Mikroangiopatia cukrzycowa — co nowego?

Pathogenetic relationship between diabetic micro- and macroangiopathy
Part I. Microangiopathy: an update

STRESZCZENIE

W niniejszej pracy przedstawiono nowe poglądy dotyczące patogenetyki mikroangiopatii cukrzycowej. Omówiono wewnątrzkomórkowe mechanizmy biochemiczne indukowane hiperglikemią. Zwrócono uwagę na rolę komórek odpowiedzi zapalnej w inicjowaniu uszkodzeń mikrokrążenia. Na podstawie poznanych mechanizmów patogenetycznych zasympozjowano optymalne możliwości prewencji powikłań naczyniowych w cukrzycy. (*Diabet. Prakt.* 2009; 10, 4: 151–156)

Słowa kluczowe: cukrzyca, hiperglikemia, mikroangiopatia

ABSTRACT

Current opinions concerning pathogenesis of diabetic microangiopathy are presented. The special attention was concentrated on hyperglycemia-induced biochemical disturbances as well as on the inflam-

matory cells participation in microcirculation derangement. Using the known pathogenic mechanisms responsible for diabetic microangiopathy, the optimal procedures aiming at prevention of cardiovascular complications are suggested. (*Diabet. Prakt.* 2009; 10, 4: 151–156)

Key words: diabetes mellitus, hyperglycaemia, microangiopathy

Cukrzyca, którą zalicza się do chorób cywilizacyjnych, obecnie stanowi istotny problem społeczny dotyczący około 200 mln osób na świecie. W Polsce występuje ona u 1,5–2,0 mln osób. Liczba przypadków tej przewlekłej choroby wzrasta wraz z wiekiem i po 45. roku życia obejmuje ona ponad 11% populacji. Ponadto u około 5–7% osób otyłych występują wcześniejsze etapy zaburzeń gospodarki węglowodanowej, takie jak nieprawidłowa glikemia na czczo i/lub nieprawidłowa tolerancja glukozy, określane jako „stan przedcukrzycowy” [1]. Już w tym okresie, trwającym zazwyczaj około 10 lat, ponadfizjologiczne stężenia glukozy we krwi wywierają destrukcyjne działanie na ściany naczyń krwionośnych [2]. Szczególną rolę w tym zakresie przypisuje się hiperglikemii poposiłkowej, inicjującej rozwój i progresję przewlekłych powikłań naczyniowych, spośród których najbardziej swoista dla cukrzycy jest mikroangiopatia. Zaburzenia czynno-

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. Bogna Wierusz-Wysocka
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
Szpital im. F. Raszei, ul. Mickiewicza 2, 60–834 Poznań
tel./faks: (061) 847 45 79, e-mail: bww@pro.onet.pl
Diabetologia Praktyczna 2009, tom 10, 4, 151–156
Copyright © 2009 Via Medica
Nadesłano: 08.09.2009 Przyjęto do druku: 29.09.2009

ści i struktury ściany naczyniowej obejmują tętniczki (naczynia przedwłosowate), żyłki (naczynia pozawłosowate) oraz sieć naczyń włosowatych. Prowadzą one następnie w około 24% przypadków do utraty wzroku, a u około 40% chorych — do niewydolności nerek. Co prawda, dzięki postępowi, jaki osiągnięto w ostatnich latach w zakresie leczenia cukrzycy, zmniejsza się częstość występowania mikroangiopatii, jednak nie zahamowano całkowicie rozwoju innych, przewlekłych powikłań tej choroby [3, 4].

Hiperglikemia a mikrokrążenie

W skład mikrokrążenia wchodzi tętniczki przedwłosowate, sieć naczyń włosowatych i żyłki pozawłosowate. Naczynia te różnią się od naczyń o większym kalibrze brakiem typowej dla tętnic budowy warstwowej. Ściana naczyń mikrokrążenia składa się ze śródbłonna, błony podstawnej, pojedynczych komórek mięśni gładkich i pericytów. Pericyty, pełniące w małych naczyniach funkcję komórek odżywczych, są bardzo wrażliwe na wszelkie zmiany hemodynamiczne. Niekorzystny wpływ na komórki śródbłonna wywiera przede wszystkim hiperglikemia. Obecny w tych komórkach układ białek transportujących glukozę (GLUT 2) powoduje, że jej transport do wnętrza komórki nie podlega ujemnej regulacji zwrotnej [5]. Dlatego też nawet niewielkie, ponadfizjologiczne stężenia glukozy we krwi są bezpośrednio odpowiedzialne za nasilenie jej wewnątrzkomórkowego metabolizmu, z zaburzeniem czynności mitochondriów. W podobny sposób jak nasilona przemiana glukozy torem glikolizy, również zwiększone stężenie wolnych kwasów tłuszczowych zaburza przemiany w obrębie mitochondriów, prowadząc do rozwoju tak zwanego „stresu metabolicznego”. W tych warunkach zostają uruchomione dodatkowe, alternatywne szlaki metaboliczne, takie jak szlak glikacji białek, tor heksozaminowy czy polioliowy. Wszystkie te tory przemian glukozy, łącznie ze szlakiem glikolizy, w warunkach hiperglikemii prowadzą do zmniejszenia stosunku utlenionego do zredukowanego dwunukleotydu nikotynamidoadeninowego ($NAD^+ : NADH$), wywołując stan określany jako „metaboliczna hipoksja” lub „pseudohipoksja” [6]. Warunkuje on z kolei nasiloną produkcję wolnych rodników tlenowych i rozwój „stresu oksydacyjnego”. Pośredniczy także w zwiększonej syntezie diacylglicerolu i aktywacji kinazy białkowej C (PKC, *protein kinase C*) — kluczowego enzymu przekaźnikowego [7]. Aktywacja szlaku polioliowego prowadzi do indukowanego sorbitolem „stresu osmotycznego”, do spadku aktywności Na^+ / K^+ ATP-azy z zaburzeniami transportu jonów oraz do

zmniejszenia stosunku $NADPH : NADP$. Biologiczną konsekwencją tych zaburzeń jest między innymi zmniejszona wydolność antyoksydacyjna układu glutationu, jednego z najważniejszych układów antyutleniających w organizmie. Z kolei stres oksydacyjny oraz aktywacja niektórych izoform PKC prowadzi do zmniejszenia biodostępności tlenku azotu (NO , *nitric oxide*) i zwiększenia uwalniania naczyniokurczącej endoteliny 1. Zachwianie równowagi między produkowanymi w obrębie ściany naczynia czynnikami wazokonstrykcyjnymi i wazorelaksacyjnymi powoduje ograniczenie przepływu krwi w obrębie mikrokrążenia, prowadząc do niedotlenienia. Aktywacja PKC odpowiada także pośrednio za stymulację MAP-kinazy (*mitogen-activated protein kinase*), odgrywającej istotną rolę między innymi w procesach proliferacji komórek. Jednocześnie PKC wpływa na uwalnianie śródbłonkowo-naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), odpowiedzialnego za nasiloną przepuszczalność ściany naczyniowej i tworzenie nowych naczyń mikrokrążenia (angiogeneza). Zwiększona przepuszczalność naczyń odpowiada między innymi za tworzenie wysięków wysokobiałkowych w siatkówce oka, co prowadzi do odpowiedzi zapalnej z towarzyszącym tworzeniem nowych kapilar. Podobne zmiany zachodzące w ścianie dużych naczyń tętniczych są odpowiedzialne za niestabilność blaszki miażdżycowej. Ostatnio sugeruje się także, że aktywacja PKC, indukując ekspresję tkankowego czynnika wzrostu β ($TGF-\beta$, *tissue growth factor-\beta*), fibronektyny i kolagenu IV, wpływa również na zwiększenie produkcji macierzy pozakomórkowej. Ponadto jest ona odpowiedzialna za nasilenie ekspresji prozkrzepowego inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor*) oraz prozapalnego jądrowego czynnika transkrypcyjnego κB (NFkB, *nuclear factor kB*) [8]. Zwiększona ekspresja czynnika NFkB inicjuje w obrębie ściany naczyniowej kaskadę następujących po sobie typowych zjawisk dla przewlekłej reakcji zapalnej [9–11].

W warunkach hiperglikemii, w komórkach śródbłonna dochodzi także do nasilonej nieenzymatycznej glikozylacji (glikacji) białek. Reakcja ta polega na łączeniu się grup karbonylowych cukrów z grupami aminowymi białek. Prowadzi ona początkowo do tworzenia wczesnych produktów glikacji (ketoamin), a następnie do formowania nieodwracalnych pośrednich i końcowych produktów glikacji białek (AGEs, *advanced glycation endproducts*). Proces ten zmienia budowę oraz funkcję białek strukturalnych, receptorowych, transportowych i enzymatycznych. Ostatnio wykazano, że glikacja białek

mitochondrialnego łańcucha oddechowego zmienia długotrwale czynność tych komórek, prowadząc do zjawiska określanego mianem „pamięci hiperglikemii” [12, 13]. Zjawisku glikacji towarzyszy autooksydacja glukozy (enolizacja) katalizowana przez metale przejściowe (Fe, Cu). W przebiegu tej reakcji także powstają toksyczne pochodne tlenu, odpowiedzialne za rozwój i nasilenie stresu oksydacyjnego. Ponadto AGEs, łącząc się z białkami osocza lub macierzy pozakomórkowej, przyczyniają się do nieprawidłowej interakcji między składowymi błony podstawnej lub pomiędzy nimi a receptorami prezentowanymi na powierzchni komórek śródbłonna. Końcowe produkty glikacji białek poprzez swoiste receptory (RAGE, *receptors for AGE*) aktywują nie tylko komórki śródbłonna, lecz również monocyty, makrofagi oraz komórki mezangium. W tych warunkach komórki odpowiedzi zapalnej uwalniają prozapalne cytokiny [interleukina-1, czynnik wzrostu guza α (TNF, *tumor necrosis factor α*)], toksyczne pochodne tlenu oraz czynniki wzrostu odpowiedzialne za rozwój procesu zapalnego z nasiloną chemotaksją i proliferacją komórek mięśni gładkich oraz makrofagów [14, 15].

W warunkach hiperglikemii dochodzi również do aktywacji szlaku heksozaminowego w komórkach śródbłonna. Przy nasilonej glikolizie ten szlak przekazywania sygnału za pośrednictwem fruktozo-6-fosforanu jest odpowiedzialny za gromadzenie urydynodwufosfo-N-acetyloglukozaminy (UDP-GlcNAc), a zwłaszcza jej tlenowych pochodnych. Może się ona kowalentnie łączyć z seryną oraz treoniną białek cytozolu i jądra komórkowego, tworząc nowy system przekaźników. W ten sposób w komórkach dochodzi do trwałych zmian struktury molekularnej. W efekcie przemiana heksozaminowa, modyfikując czynniki transkrypcyjne, białka jądrowe, strukturalne i białka cytozolu, wpływa na ekspresję genów, wzrost oraz podział komórek, aktywność enzymów i strukturę cytoszkieletu [8]. Aktywacja szlaku heksozaminowego nie tylko zaburza funkcję komórek śródbłonna, lecz przede wszystkim przyczynia się do zmian czynnościowych komórek mięśni gładkich ściany naczyniowej. Na tej drodze dochodzi zarówno do nasilonej sekrecji czynników wzrostu (TGF α , TGF- β_1), prozapalnych cytokin (PAI-1), jak i do nasilonej produkcji białek macierzy pozakomórkowej [9].

Stres oksydacyjny rozwijający się w następstwie aktywacji przemian glukozy w komórkach śródbłonna jest odpowiedzialny za modyfikację struktur wielu związków chemicznych, między innymi kwasów nukleinowych, lipidów i białek. Zaburzeniom równowagi oksydacyjno-redukcyjnej przypisuje się rów-

nież zasadniczą rolę w nasilonej apoptozie komórek śródbłonna, obserwowanej w warunkach hiperglikemii. Zjawisko to może być odpowiedzialne za nieprawidłową funkcję śródbłonna. Z badań Quagliari i wsp. wynika, że czynność komórek śródbłonna, pod wpływem dużych wahań glikemii we krwi (np. hiperglikemia poposiłkowa), ulega głębokim zaburzeniom, przyczyniając się między innymi do nasilonej ich apoptozy, czyli programowej śmierci [16]. Negatywny wpływ naprzemiennych stanów hiper- i hipoglikemii na czynność i strukturę ściany naczyniowej potwierdziły również ostatnie badania El-Osta i wsp. [17]. Przewlekła, stabilna hiperglikemia może odgrywać w tym zakresie zdecydowanie mniejszą rolę. Uważa się bowiem, że w następstwie długotrwale podwyższonych stężeń glukozy we krwi rozwijają się mechanizmy adaptacyjne, których nie są w stanie uruchomić nagłe wzrosty wartości glikemii we krwi.

Stres oksydacyjny, ujawniający się w następstwie zaburzeń gospodarki węglowodanowej, indukując dysfunkcję śródbłonna, ogranicza między innymi biodostępność NO w mechanizmie jego łączenia z anionami nadtlentkowymi (O_2^-) produkowanymi w nadmiarze. Reakcja ta nie tylko zwiększa intensywność stresu oksydacyjnego, lecz jest również odpowiedzialna za zaburzenie równowagi między czynnikami naczyniorozkurczowymi a naczynioskurczowymi. Ponadto sugeruje się, że O_2^- wywiera dodatkowo efekt naczyniokurczący przez tworzenie nadtlenu wodoru (H_2O_2) i rodnika hydroksylowego (OH^\cdot). Związki te stymulują w obrębie komórek śródbłonna produkcję prostanoidów o własnościach wazokonstrykcyjnych. Wzmoczone na tej drodze napięcie ściany naczyniowej pośredniczy w zwiększonej przepuszczalności śródbłonnów dla składników pokarmowych, hormonów i innych molekuł, a także dla monocytów i granulocytów. Ponadto zmniejszenie biodostępności NO jest odpowiedzialne za nasilenie adhezji leukocytów i płytek krwi do powierzchni śródbłonnów. Fizjologicznie tlenek azotu wykazuje również działanie antyproliferycyjne i przeciwzapalne. Współdziałając synergistycznie z PGI $_2$, hamuje także agregację płytek krwi [18, 19].

Śródbłonek mikrokrążenia jest przepuszczalny dla glukozy. Fizjologicznie jest ona utylizowana w ścianie naczyniowej przez komórki mięśni gładkich. System transportujący w nich glukozę (GLUT 4) podlega ujemnej regulacji zwrotnej, dlatego też w warunkach hiperglikemii zmniejsza się jej wykorzystywanie. W tych warunkach glukoza wchodzi w reakcję z białkami macierzy pozakomórkowej (glikacja), powodując zmiany ich własności. Na tej drodze podwyższone stężenia glukozy we krwi są

odpowiedzialne za pogrubienie ściany naczyniowej i utratę jej elastyczności (sztywność naczyń).

Hiperglikemia a komórki odpowiedzi zapalnej

Oprócz nasilonej wazokonstrykcji, przepływ krwi w obrębie mikrokrążenia dodatkowo jest zaburzony przez czopowanie naczyń o średnicy poniżej 1 μm (naczynia mikrokrążenia) przez granulocyty obojętnochłonne (PMN, *polymorphonuclear neutrophils*) (zjawisko leukoembolizacji). Komórki te, chociaż mają średnicę większą od małych naczyń krwionośnych, fizjologicznie charakteryzują się zdolnością do odkształcania. Dzięki tym własnościom jest możliwy ich swobodny pasaż poprzez mikrokrążenie. W warunkach hiperglikemii granulocyty tracą zdolność do odkształcania, między innymi w następstwie glikacji białek błony komórkowej, a tym samym — nie są zdolne do wędrówki przez tętniczki, żyłki i sieć naczyń kapilarnych [20].

Granulocyty obojętnochłonne mogą odgrywać podstawową rolę w rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej. Zaliczane do komórek odpowiedzi zapalnej, stanowią pierwszą linię obrony w stosunku do obcych czynników dla organizmu. W stanie spoczynku krążą we krwi przez kilka godzin, w gotowości do przejścia w stan pobudzenia. Ze względu na krótki okres ich życia nie znajdowano dotychczas tych komórek w przestrzeni otaczającej *vasa vasorum* czy też w blaszce miażdżycowej. Dopiero postęp technik badawczych pozwolił Dorweilerowi i wsp. ujawnić w warunkach eksperymentalnych nasiloną pod wpływem LDL adhezję PMN do komórek śródbłonna, ich transmigrację przez ścianę naczyń mikrokrążenia oraz ich głęboką infiltrację do warstwy podśródbłonkowej. Zjawiska te były skojarzone ze zwiększoną produkcją interleukiny 8 (IL-8) przez komórki mięśni gładkich, z uwalnianiem enzymów proteolitycznych z ziarnistości PMN i nasiloną apoptozą komórek śródbłonna [21]. Potwierdziły one wcześniejsze sugestie o nasilonej aktywacji PMN z towarzyszącą produkcją IL-8 w warunkach hiperglikemii [22]. W badaniach Naruko i wsp. ujawniono nieco wcześniej obecność PMN w blaszce miażdżycowej, potwierdzając tym samym zdolność tych komórek do wychodzenia poza łożysko naczyniowe, w kierunku działania czynników pozapalnych [23]. W odpowiedzi na właściwy bodziec PMN nie tylko wędrują, lecz również zmieniają swoje własności reologiczne, przystosowując się do ukierunkowanego ruchu (chemotaksji) oraz do interakcji z innymi komórkami.

Hiperglikemia w sposób bezpośredni i pośredni jest odpowiedzialna za aktywację granulocytów obojętnochłonnych, a tym samym — za zmianę ich czynności [24]. W następstwie pobudzenia komórki te przywierają do śródbłonna (adhezja) oraz wzajemnie do siebie (agregacja), zapoczątkowując kaskadę zjawisk typowych dla reakcji zapalnej. Czynniki determinującymi przyleganie komórek do śródbłonna oraz wzajemnie do siebie są cząsteczki adhezyjne. Na powierzchni aktywowanych PMN ujawniają się molekuly powierzchniowe CD11/CD18 oraz selektyna L [25]. U chorych na cukrzycę w warunkach hiperglikemii zanotowano ich zwiększoną ekspresję na powierzchni komórek oraz wzrost stężenia rozpuszczalnej selektyny L w surowicy [26]. W interakcji leukocytów z komórkami śródbłonna biorą również udział komplementarne dla molekul leukocytarnych cząsteczki adhezyjne zlokalizowane na śródbłonnku. Ligandami dla CD11 są międzykomórkowe cząsteczki adhezyjne 1 i 2 (ICAM, *intercellular adhesion molecule*), a dla selektyny L — śródbłonkowe selektyny E i P, których ekspresja i/lub stężenie wzrasta u chorych na cukrzycę [27, 28]. Oprócz ekspresji swoistych molekul adhezyjnych, wyrazem aktywacji krążących PMN u chorych na cukrzycę jest także wzrost produkcji O_2^- i H_2O_2 [29, 30]. W tej grupie pacjentów stwierdzono ponadto podwyższone stężenie metabolitów. U chorych na cukrzycę stwierdzano ponadto zwiększone stężenie metabolitów tlenku azotu (NO) w osoczu [31]. Jedną z przyczyn tego zjawiska wydaje się być nasiloną produkcją NO przez pobudzone granulocyty obojętnochłonne. Ich aktywacja przyczynia się do uwalniania dalszej ilości prozapalnych cytokin i podtrzymywania procesu zapalnego [32, 33]. Limfocyty T pojawiają się tam zdecydowanie później, a ich rolą jest ograniczanie zapalenia. Zachodząca w tych warunkach przebudowa ściany naczyniowej, prowadząca do utraty jej sprężystości i elastyczności, pogarsza przepływ w mikrokrążeniu, wywołując hipoksję otaczających tkanek.

Hiperglikemia a mikroangiopatia

Molekularne zmiany biologii komórek ściany naczyń mikrokrążenia, rozwijające się w następstwie ponadfizjologicznych stężeń glukozy we krwi, z jednej strony warunkują zmianę ich czynności, z drugiej natomiast są odpowiedzialne za wspomniane wcześniej zjawisko tak zwanej „pamięci hiperglikemii” [34]. Pośrednio indukowane hiperglikemią uszkodzenia DNA przyczyniają się do utrzymywania się zmian wewnątrzkomórkowej struktury molekularnej nawet kilka lat. Zjawisko to może stanowić

wyjaśnienie obserwacji klinicznych ujawniających, że do rozwoju naczyniowych powikłań cukrzycy dochodzi nawet u osób z aktualnie dobrą kontrolą metaboliczną. Zrozumiałe stają się też wyniki badań klinicznych wykazujących w tych warunkach bardzo powolne cofanie się zmian o charakterze mikroangiopatii. Wiadomo jednak, że w niewielkiej grupie osób powikłania cukrzycy się nie rozwijają mimo długiego okresu trwania niewyrównanej metabolicznie choroby. Sugeruje to zarówno wpływ dużych wahań glikemii, niezmiennających w istotny sposób wartości HbA_{1c} na przyspieszony rozwój powikłań naczyniowych, jak i podkreśla znaczenie genetycznie uwarunkowanej sprawności endogennych układów antyoksydacyjnych w tym zakresie. Hipotezę tę potwierdzają wyniki badań własnych, a także innych autorów ujawniające, że wysokie wartości stężenia cholesterolu frakcji HDL (> 65,0 mg/dl) ograniczają rozwój mikroangiopatii, nawet u osób z długotrwałym przebiegiem choroby [36].

Aktualna wiedza na temat mechanizmów patogenetycznych mikroangiopatii cukrzycowej nie jest jeszcze kompletna. Obecnie wiadomo już jednak, że dla prewencji zmian naczyniowych konieczne jest nie tylko dobre wyrównanie metaboliczne cukrzycy, lecz również jej skuteczne leczenie od samego początku rozpoznania.

PIŚMIENNICTWO

1. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D., Knast B., Pisarczyk-Wiza D. Występowanie cukrzycy nieznannej w populacji czynnych zawodowo osób w środowisku miejskim. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2001; CVI: 815–821.
2. Beck-Nielsen H., Groop L.C. Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1714–1721.
3. Diabetes Control and Complications Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 977–986.
4. Turner R.C., Cull C.A., Frighi V., Holman R.R., UK Prospective Diabetes Study Group. Glycaemic control with diet, sulfonylurea, metformin or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *JAMA* 1999; 281: 2005–2012.
5. Gaudreault N., Scriven D.R., Moore E.D. Characterization of glucose transporters in the intact coronary artery endothelium in rats: GLUT-2 up-regulated by the long-term hyperglycaemia. *Diabetologia* 2004; 47: 2081–2088.
6. Brownlee M. Biochemistry molecular cell biology of diabetic complication. *Nature* 2001; 414: 813–820.
7. Nishikawa T., Edelstein D., Du X.-L. i wsp. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathway of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–790.
8. McClain D.A. Hexosamines as mediators of nutrient sensing and regulation in diabetes. *Diabet. Compl. J.* 2002; 16: 72–75.
9. Taguchi T., Brownlee M. The biochemical mechanisms of diabetes tissue damage. W: Pickup J.C., Williams G. (red.). *Textbook of diabetes. Selected chapters.* Blackwell Publ. Ltd., Oxford 2005; 47.1.
10. Zozulińska D., Wierusz-Wysocka B., Wysocki H., Majchrzak A., Wykrętowicz A. The influence of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) on superoxide anion and hydrogen peroxide production by polymorphonuclear neutrophils. *Diab. Res. Clin. Pract.* 1996; 33: 139–144.
11. Zozulińska D., Wierusz-Wysocka B. Type 2 diabetes mellitus as inflammatory disease. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2006; 74S: S12–S16.
12. Rosca M.G., Mustata T.G., Kinter M.T., Ozdemir A.M., Kern T.W., Szweida L.I. Glication of mitochondrial proteins from diabetic rat kidney is associated with excess superoxide formation. *Am. J. Physiol.* 2005; 289: 1420–1430.
13. Ihnat M.A., Thorpe J.E., Ceriello A. Hypothesis: the metabolic memory, the new challenge of diabetes. *Diabet. Med.* 2007; 24: 582–586.
14. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D. Wybrane mechanizmy patogenetyczne przewlekłych powikłań cukrzycy. I. Rola dysfunkcji śródbłonek. *Diabetol. Pol.* 2002; 7: 193–198.
15. Vlassara H. Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. *Diabetes* 1997; 46 (supl. 2): 19–24.
16. Quagliaro L., Piconi L., Assaloni R. i wsp. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. The role protein kinase C and NAD(P)H oxidase activation. *Diabetes* 2003; 52: 2795–2804.
17. El-Osta A., Brasacchio D., Yao D. i wsp. Transient high glucose cause persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. *J. Exp. Med.* 2008; 205: 2409–2417.
18. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D., Kempa M. i wsp. Ocena stężenia metabolitów tlenku azotu u chorych z typem 1 cukrzycy. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1998; 100: 139–143.
19. Chan N.N., Vallance P., Colhun H.M. Nitric oxide and vascular responses in type 1 diabetes. *Diabetologia* 2000; 43: 137.
20. Wierusz-Wysocka B., Wysocki H., Wykrętowicz A., Klimas R. The influence of increasing glucose concentrations on selected functions of polymorphonuclear neutrophils. *Acta Diabetol. Lat.* 1988; 25: 283–288.
21. Dorweiler B., Torzewski M., Dahm M., Kirkpatrick C.J., Lackner K.J., Vahl C.F. Subendothelial infiltration of neutrophil granulocytes and liberation of matrix-degrading enzymes in an experimental model of human neo-intima. *Thromb. Haemost.* 2008; 99: 373–381.
22. Zozulińska D., Majchrzak A., Sobieska M. i wsp. Serum interleukin-8 level is increased in diabetic patients. *Diabetologia* 1999; 42: 117–120.
23. Naruko T., Ueda H., Haze K. i wsp. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002; 106: 2894–2900.
24. Wierusz-Wysocka B., Wysocki H., Siekierka H., Wykrętowicz A., Klimas R. Evidence of polymorphonuclear neutrophils (PMN) activation in patients with diabetes mellitus. *J. Leuk. Biol.* 1987; 42: 519–523.
25. Larson R.S., Springer T.A. Structure and function of leukocyte integrins. *Immunol. Rev.* 1990; 114: 181–186.
26. Grykiel K., Zozulińska D., Kostrzewa A., Wiktorowicz K., Wierusz-Wysocka B. Ocena ekspresji receptorów powierzchniowych granulocytów obojętnochłonnych u chorych na cukrzycę typu 1. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2001; 105: 377–341.
27. Clausen P., Jacobsen P., Rossing K. i wsp. Plasma concentrations of VCAM and ICAM-1 are elevated in patients with type 1 diabetes mellitus with microalbuminuria and overt nephropathy. *Diab. Med.* 2000; 17: 644–649.
28. Ley K. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in the inflammatory process. *Cardiovasc. Res.* 1996; 32: 7–13.

29. Wierusz-Wysocka B., Wysocki H., Byks H. i wsp. Polymorphonuclear neutrophils adherence, superoxide anion production (O_2^-) and HbA1 level in diabetic patients. *Diab. Res. Clin. Pract.* 1993; 2: 109.
30. Casatella M.A. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. *Immunol. Today* 1995; 16: 21–29.
31. Araszkievicz A., Zozulińska D., Trepieńska M., Wierusz-Wysocka B. Inflammatory markers as risk factor for microangiopathy in type 1 diabetic patients on functional intensive insulin therapy from the onset of the disease. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2006; 74S: S34–S40.
32. Adams D.H., Shaw S. Leukocyte-endothelial interactions and regulation of leukocyte migration. *Lancet* 1994; 343: 831–838.
33. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nature Rev.* 2006; 6: 173–192.
34. Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetes complications. *Diabetes Care* 1992; 15: 1835–1843.
35. Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D., Araszkievicz A., Pisarczyk-Wiza D. Higher levels of HDL-cholesterol are associated with decreased likelihood of albuminuria in patients with long-standing type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 1176–1177.