

Bogna Wierusz-Wysocka

Oddział Chorób Wewnętrznych Szpitala im. F. Raszei w Poznaniu
Pracownia Edukacji Diabetologicznej Akademii Medycznej w Poznaniu

Powikłania naczyniowe a stres oksydacyjny w cukrzycy

Diabetic vascular complication and oxidative stress

Pomimo znacznych postępów w leczeniu cukrzycy nadal przewlekłe powikłania tego schorzenia stanowią istotny problem kliniczny. Ponad 50% pacjentów umiera przedwcześnie z powodu chorób układu krążenia [1]. Dotyczy to przede wszystkim chorych na cukrzycę typu 2, u których choroba niedokrwienna serca jest najczęstszą przyczyną zgonów [2]. Również inne, związane z procesem miażdżycowym, zespoły chorobowe występują w tej grupie osób znacznie częściej niż w pozostałej populacji. U chorych na cukrzycę typu 2 3-krotnie wzrasta ryzyko udaru mózgu i aż 7-krotnie konieczność amputacji kończyn dolnych z powodu miażdżycy tętnic [3]. Cukrzyca typu 1 prowadzi nadal do utraty wzroku lub niewydolności nerek.

Nie budzi już dzisiaj wątpliwości fakt, że zasadniczą przyczyną rozwoju powikłań cukrzycy jest hiperglikemia. Udowodniły to w sposób bezsporny badania DCCT (*Diabetes Control and Complications Trials*) przeprowadzone u chorych na cukrzycę typu 1 [3]. Wykazały one jednoznacznie, że utrzymywanie glikemii w pobliżu wartości fizjologicznych w istotny sposób ogranicza występowanie i progresję typowych dla cukrzycy powikłań o charakterze mikroangiopatii. Podobnych informacji dostarczyły również badania Kumamoto [4]. Korzystne rezultaty w tym zakresie utrzymywały się także w okresie 6,5 roku po zakończeniu badań DCCT, pomimo wyraźnego pogorszenia stanu kontroli metabolicznej cukrzycy

(DCCT/EDIC, *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications*) [5].

U chorych na cukrzycę stan dobrego wyrównania metabolicznego nie zabezpiecza jednak w pełni przed rozwojem powikłań o charakterze makroangiopatii (przedwczesnej miażdżycy). Fakt ten ujawniły najpierw badania DCCT, a następnie potwierdziły wieloletnie obserwacje w ramach UKPDS (*United Kingdom Prospective Diabetes Study*) [3, 6]. Z kolei liczne doniesienia z piśmiennictwa wskazują jednak, że hiperglikemia jest niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy [2, 3].

Badania Hanefeldta i wsp. (*Diabetes Intervention Study*) w 1996 roku po raz pierwszy ujawniły szczególną rolę hiperglikemii poposiłkowej w rozwoju zmian miażdżycowych [7]. Spostrzeżenia te potwierdzono w badaniu DECODE [8]. Wykazano, że stężenie glukozy we krwi na czczo > 110 mg% (6,1 mmol/l) zwiększa ryzyko zachorowania i zgonów z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego o 38%, natomiast glikemia po posiłku > 140 mg% (7,8 mmol/l) zwiększa to ryzyko aż o 58%. Opublikowane ostatnio badania EPIC-Norfolk wykazały z kolei, że wzrost HbA_{1c} o 1% zwiększa ryzyko zgonów z powodu choroby niedokrwiennej serca o około 30% [9].

Stres oksydacyjny

Nie poznano jeszcze do końca wszystkich mechanizmów łączących hiperglikemię z zaburzeniami funkcji i struktury ściany naczyniowej. Z badań eksperymentalnych wynika, że pod wpływem stężonych roztworów glukozy zmieniają się właściwości wielu komórek, a zwłaszcza komórek śródbłonna i niektórych elementów morfotycznych krwi (granulocyty obojętnochłonne, monocyty, płytki krwi). W odróż-

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. med. Bogna Wierusz-Wysocka
Oddział Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Szpitala im. F. Raszei
60-834 Poznań, ul. Mickiewicza 2
tel./fax: (0 61) 847 45 79

Diabetologia Praktyczna 2001, tom 2, supl. C, 11-15
Copyright ©2001 Via Medica

nieniu od innych komórek ustroju zawierają one białko transportujące glukozę GLUT 1. Aktywność GLUT 1, w przeciwieństwie do GLUT 2 i GLUT 4, nie podlega zjawisku *down regulation* pod wpływem zmian stężenia glukozy. W rezultacie wszelkie wahania stężenia glukozy we krwi prowadzą równolegle do zaburzeń jej wewnątrzkomórkowego transportu i metabolizmu [10].

W obrębie komórek przemiana glukozy zachodzi przy udziale kilku szlaków metabolicznych (tor glikolityczny, pentozowy, heksozaminowy, poliolowy). W warunkach hiperglikemii nasileniu metabolizmu glukozy w komórkach śródbłonna, granulocytach, monocytach i płytkach krwi towarzyszy zwiększona produkcja wolnych rodników tlenowych. Fizjologicznie miejscem powstawania niewielkich ilości reaktywnych form tlenu jest łańcuch oddechowy mitochondriów. Nie mogą one jednak ujawniać swojego destrukcyjnego działania, ponieważ są natychmiast inaktywowane przez biologiczne układy przeciwutleniaczy. Jak wykazały ostatnio badania Nishikawy i wsp., wzrost aktywności glikolitycznej w warunkach hiperglikemii, niezależnie od dominującego w danym rodzaju komórek toru przemian, prowadzi do zwiększonej syntezy pirogronianów [11]. Są one transportowane do mitochondriów i ulegają dalszej przemianie w cyklu kwasów trójkarboksylowych (cykl Krebsa). W rezultacie dochodzi do nasilonego tworzenia dwunukleotydów NADH i FADH₂, głównych nośników energii dla produkcji ATP. W trakcie intensywnego transportu elektronów, pewna ich część opuszcza główny łańcuch reakcji, dając początek tworzeniu anionów nadtlenkowych (O₂⁻) — kluczowego związku z grupy wolnych rodników tlenowych. Ucieczka elektronów jest w pewnym sensie wyrazem fizjologicznej niedoskonałości mechanizmów łańcucha transportu elektronów. Nasilona w warunkach hiperglikemii produkcja wolnych rodników prowadzi więc do wewnątrzkomórkowych zaburzeń równowagi oksydacyjno-redukcyjnej określanej mianem stresu oksydacyjnego [12].

W warunkach hiperglikemii, w komórkach śródbłonna nasila się metabolizm glukozy szlakiem poliolowym [13]. W wyniku aktywacji tego toru przemian dochodzi do obniżenia stosunku NADPH/NADP⁺ oraz wzrostu stosunku NADH/NAD⁺. Zaburzenia oksydacji NADH do NAD⁺, określane jako hiperglikemiczna pseudohipoksja, także są odpowiedzialne za wzrost produkcji reaktywnych form tlenu [14]. Zmniejszenie wewnątrzkomórkowej zawartości NADPH redukuje z kolei jego dostępność dla wielu szlaków metabolicznych, w tym również dla układu

glutationu, stanowiącego jeden z podstawowych systemów antyoksydacyjnych [15]. Zwiększona produkcja toksycznych pochodnych tlenu, przy równocześnie zmniejszonej sprawności układów przeciwutleniających, dodatkowo potęguje zjawisko stresu oksydacyjnego.

Nasilenie metabolizmu glukozy szlakiem poliolowym prowadzi również do zwiększonej syntezy diacylglicerolu (DAG). Odpowiedzią na każdy wzrost wewnątrzkomórkowego DAG jest aktywacja i translokacja kinazy białkowej C. Enzym ten odgrywa kluczową rolę w przekazywaniu sygnałów i jest odpowiedzialny za pojawienie się na powierzchni komórek receptorów, enzymów, białek kurczliwych, czynników transkrypcyjnych, a także innych kinaz. Ujawniający się w tych warunkach stan aktywacji komórek, z nasileniem przemian między innymi kwasu arachidonowego i syntezy tlenu azotu potęguje jeszcze istniejące zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej [16].

Jednym z najważniejszych źródeł wolnych rodników tlenowych w ustroju są komórki fagocytujaące (monocyty, a zwłaszcza granulocyty obojętne) [17]. Już w warunkach fizjologicznych w obrębie tych komórek powstają znaczne ilości toksycznych pochodnych tlenu. Stanowią one bowiem podstawowy element mechanizmów bakterioobójczych. Produkcja wolnych rodników tlenowych wiąże się ściśle z metabolizmem glukozy torem pentozowym (HMPS). W warunkach hiperglikemii, w czasie której nasilają się przemiany tym szlakiem metabolicznym, obserwuje się dalszą intensyfikację stresu oksydacyjnego [18].

Sugeruje się ostatnio, że w rozwoju stresu oksydacyjnego bierze udział również aktywacja przemian glukozy szlakiem heksozaminowym, prowadzącym do tworzenia glukozaminoglikanów. Ten tor metaboliczny odgrywa szczególną rolę w komórkach mięśni gładkich ściany naczyniowej [19].

W warunkach hiperglikemii nasila się także nieenzymatyczna glikozylacja białek (glikacja) z towarzyszącą oksydacją glukozy. Tworzone w tej reakcji wolne rodniki tlenowe potęgują jeszcze zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej. Na nasilenie stresu oksydacyjnego w sposób istotny wpływa również glikacja (inaktywacja) dysmutazy nadtlenkowej — niezwykle aktywnego biologicznie zmiatacza wolnych rodników [20].

Z badań Cerriello i wsp. wynika, że szczególną rolę w wytwarzaniu stresu oksydacyjnego odgrywa hiperglikemia poposiłkowa [21]. Nawet krótkotrwała aktywacja szlaków metabolicznych, w następstwie

zwiększonej dostępności glukozy, może prowadzić do długotrwałych uszkodzeń funkcji i struktury komórki. Zjawisko to Brownlee i wsp. określili jako „pamięć hiperglikemii”. Może ono tłumaczyć rozwój przewlekłych powikłań cukrzycy, nawet w warunkach prawidłowej kontroli metabolicznej schorzenia [22].

Ostatnio sugeruje się, że stres oksydacyjny stanowi zasadniczy czynnik łączący hiperglikemię z nasiloną glikacją białek, aktywacją kinazy białkowej C, tworzeniem glikozaminoglikanów i aktywacją jądrowego czynnika transkrypcyjnego (NFκB) odpowiedzialnego między innymi za rozwój odczynu zapalnego. Wszystkie te zaburzenia prowadzą do modyfikacji funkcji komórek ściany naczyniowej, ze zmianą ich własności autokrynych i parakrynych. Nasila się produkcja czynników wzrostu, kolagenu, fibronektyny oraz endoteliny 1 (ET-1). Wzrasta ekspresja molekuł adhezyjnych, a także genów dla angiotenzyny II czy reduktazy aldozy. Zwiększa się też synteza inhibitora aktywatora plazminogenu — PAI-1. Nie do końca wyjaśnione są zmiany w zakresie produkcji tlenku azotu (NO). Wiadomo, że z jednej strony dochodzi do upośledzenia zależnej od NO wazodylatacji naczyń, z drugiej natomiast obserwuje się nasilenie przemian tlenku azotu do peroksynitrytu — związku o silnych właściwościach wolnego rodnika [23].

Wzrost ekspresji genu śródbłonkowo-naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF) warunkuje zwiększoną przepuszczalność naczyń i nasiloną angiogenezę. Aktywacja czynnika transkrypcyjnego NFκB przez stres oksydacyjny prowadzi do nasilonej produkcji cytokin, zwiększonej ekspresji molekuł adhezyjnych i nasilonej apoptozy komórek. Powoduje to tworzenie się w obrębie ściany naczyniowej nieswoistego odczynu zapalnego, którego patogenetyczną rolę w uszkodzaniu ściany naczyniowej, zwłaszcza o charakterze zmian miażdżycowych, już praktycznie udowodniono. Zwiększona synteza ET-1 odpowiada między innymi za wazokonstrykcję naczyń, a PAI-1 prowadzi do zaburzeń równowagi w zakresie układów krzepnięcia i fibrynolizy. Ponadto stres oksydacyjny powoduje efekt cytotoksyczny. Może on prowadzić do zmian strukturalnych DNA, a tym samym zaburzać proliferację i regenerację śródbłonka. W warunkach stresu oksydacyjnego uszkodzeniu ulegają mitochondria. Zwiększa się ilość wolnego Ca^{+2} w cytozolu, wywołując stan aktywacji komórek. Utlenianie grup SH białek pod wpływem stresu oksydacyjnego powoduje unieczynnianie wielu enzymów. Toksyczne pochodne tlenu, utleniając kwasy tłuszczowe,

prowadzą do powstawania nadtlenków lipidów, również wykazujących własności wolnych rodników [24].

Stres lipemiczny i *shear stress*

Peroksydacja lipidów błon komórkowych zmienia ich własności czynnościowe, antygenowe, a także modyfikuje ekspresję receptorów. Zwiększona w warunkach hiperglikemii przepuszczalność śródbłonka umożliwia przechodzenie peroksydowanych lipidów poza łożysko naczyniowe. Dzięki własnościom chemotaktycznym dla makrofagów, zmodyfikowane LDL mobilizują te komórki do gromadzenia się w ścianie naczyniowej. Makrofagi, pochłaniając zmienione pod wpływem wolnych rodników i/lub nieenzymatycznej glikacji cząsteczki LDL, przekształcają się w komórki piankowate, dając początek blaszce miażdżycowej [25].

Oprócz hiperglikemii, u chorych na cukrzycę typu 2 występuje zazwyczaj jeszcze wiele innych czynników ryzyka miażdżycy. Zaburzenia gospodarki lipidowej, ze wzrostem osoczkowego stężenia cholesterolu frakcji LDL oraz triglicerydów, mogą potęgować wykładniki stresu oksydacyjnego poprzez peroksydację lipidów [26]. Zachodzące wówczas w ustroju zjawiska określa się ostatnio mianem stresu lipemicznego. U chorych na cukrzycę typu 2 stwierdzano szczególne nasilenie zaburzenia metabolizmu lipidów w okresie poposiłkowym [26]. Niezwykle częstym objawem towarzyszącym cukrzycy typu 2 jest nadciśnienie tętnicze, biorące udział w powstawaniu zaburzeń czynności i struktury ściany naczyniowej. Nasilone w warunkach podwyższonego ciśnienia tętniczego tarcie przepływającej krwi o powierzchnię śródbłonka znane jest pod pojęciem *shear stress*.

Stres karbonylowy

W ostatnim czasie sugeruje się również rolę stresu karbonylowego w rozwoju cukrzycowych powikłań naczyniowych, a zwłaszcza makroangiopatii [27]. Rozwija się on w następstwie gromadzenia w ustroju karbonylowych prekursorów końcowych produktów nasilonej glikacji (AGE). Mogą się one tworzyć na każdym etapie złożonych reakcji glikacji w wyniku beztlenowej, a zwłaszcza tlenowej (poprzez działanie rodników tlenowych) modyfikacji cząsteczek węglowodanów, lipidów i białek [28]. Dostarczane są również do ustroju z produktami żywieniowymi poddawanych obróbce cieplnej. Także tytoń jest źródłem karbonylowych prekursorów AGE. Nagromadzenie ich w ustroju nasila tworzenie końcowych

produktów glikacji. Wiążąc się z białkami błony podstawnej, związki te prowadzą do jej pogrubienia, do stwardnienia kłębków nerkowych, a także do powstawania zmian miażdżycowych. AGE, związane z białkami macierzy pozakomórkowej, mają zdolność wychwytywania lipoprotein docierających do ściany naczyniowej w następstwie zwiększonej przepuszczalności śródbłonna [29]. Wiążąc się ze swoistym receptorem na makrofagach i komórkach śródbłonna, prowadzą również do nasilenia stresu oksydacyjnego [30]. Notowane w cukrzycy zaburzenia stosunku NADPH/NADP⁺, NADH/NAD⁺, a także upośledzenie antyoksydacyjnego działania układu glutationu ograniczają możliwości usuwania karbonylowych prekursorów AGE, a tym samym dodatkowo nasilają intensywność stresu karbonylowego [27].

Komentarz

Współistnienie w cukrzycy typu 2 wielu rodzajów zjawisk wywierających destrukcyjne działanie w obrębie ściany naczyniowej, musi w efekcie prowadzić do zaburzeń jej struktury i funkcji. Złożoność patogenetycznych czynników warunkujących rozwój makroangiopatii cukrzycowej wymusza więc konieczność podejmowania wielokierunkowej terapii, ograniczającej intensywność wszystkich mechanizmów stresowych.

Nadal poszukuje się dodatkowych możliwości ingerencji terapeutycznej w wewnątrzkomórkowe mechanizmy aktywowane cukrzycą typu 2. Rola witamin E, C, kwasu liponowego, czerwonego wina, a także innych zmiataczy wolnych rodników nie została jeszcze w pełni udokumentowana. Nie potwierdziło się klinicznie działanie aminoguaniny ograniczającej proces tworzenia AGE. Nie ma również przekonujących dowodów na skuteczność prewencyjnego działania środków przeciwzapalnych. W tej sytuacji coraz większe zainteresowanie u chorych na cukrzycę typu 2 budzi stosowanie gliklazylu — znanej już od dawna pochodnej sulfonylomocznika. Wykazano bowiem, że jest to związek o szerokim plejotropowym działaniu [31]. Poza własnościami hipoglikemizującymi charakteryzuje się dodatkowo działaniem antyoksydacyjnym, przeciwzapalnym i modulującym zaburzone czynności komórek śródbłonna.

Coraz lepsze poznawanie mechanizmów patogenetycznych przewlekłych powikłań cukrzycy pozwala wierzyć, że w niedalekiej przyszłości powstaną możliwości jeszcze skuteczniejszych działań prewencyjnych. Aktualnie jednak nadal wczesne wykrywanie cukrzycy i prawidłowa jej kontrola metaboliczna pozostają jedyną metodą hamowania rozwoju i progresji, zarówno mikro-, jak i makroangiopatii.

PIŚMIENNICTWO

- Zuanetti G., Latini R., Maggioni A.P., Sanloro L., Franzosi G.M.: Influence of diabetes on mortality in acute myocardial infarction: data from the GISSI-2 study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993; 22: 1788–1794.
- Jackoby R.M., Nesto R.W.: Acute myocardial infarction in the diabetic patients: pathophysiology, clinical course, and prognosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1992; 20: 736–744.
- The Diabetes Control and Complications Trials Research Group: The efficacy of intensive treatment of diabetes on development of complications of diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 32: 977–986.
- Shichiri M., Kishikawa H., Ohkubo Y., Wake N.: Long-term results of the Kumamoto Study on optimal diabetes control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2000; 23 (supl. 2): B21–B29.
- The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group: Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 381–389.
- UK Prospective Diabetes Study Group (UKPDS). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352: 837–853.
- Hanefeld M., Fisher S., Julius U., Schulze J., Schwanebeck U., Schmechel H., Zeigelasch H.J., Lindner J.: Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia* 1996; 39: 1577–1583.
- Decode Study Group European Diabetes Epidemiology Group: Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association criteria. *Lancet* 1999; 354: 617–6219.
- Khaw W.T., Wareham N., Luben R.: Glycated hemoglobin, diabetes and mortality in men in Norfolk cohort of European Prospective Investigation of Cancer and Nutrition (EPIC Norfolk). *BMJ* 2001; 322: 15–28.
- Kaiser N., Sasson S., Feener E.P. i wsp.: Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes* 1992; 42: 80–89.
- Nishikawa T., Edelstein D., Du X.L., Yamagishi S.L., Matsumura T., Kaneda Y., Yoreks M.A., Beebe D., Oates P.J., Hammes H.P., Giardino I., Brownlee M.: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–790.
- Baynes J.W.: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405–412.
- Lee Y., Chung S.K., Chung K.K.: Demonstration that poyol accumulation is responsible for diabetic cataract by the use of transgenic mice expressing the aldose reductase gene in the lens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 92: 2780–2784.
- Ashina T., Kishigami A., Nishio Y.: Impaired activation of glucose oxidation and NADPH supply in human endothelial cells exposed to H₂O₂ in high glucose medium. *Diabetes* 1995; 44: 520–526.
- Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G.: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257–266.
- Koya D., King G.L.: Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 1998; 47: 859–866.
- Klebanoff S.J.: Oxygen intermediates and the microbial event. W: Mononuclear Phagocytes. Functional Aspects. Wyd. R. Van Furth. Martin Nijhoff Publishers, The Hague, 1980; 1105.
- Wierusz-Wysocka B., Wysocki H., Siekierka H., Wykrętowicz A., Szczepanik A., Klimas R.: The evidence of polymorphonuclear

- neutrophils (PMN) activation in patients with insulin dependent diabetes mellitus. *J. Leuk. Biol.* 1987; 42: 519–523.
19. Kolm-Litty V., Tippmer S., Haring H.U., Schleiche E.: Glucosaminine induced translocation protein kinase C isoenzymes in mesangial cells. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 1998; 106: 377–383.
 20. Brownlee M.: Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Ann. Rev. Med.* 1995; 46: 223–234.
 21. Ceriello A.: The post-prandial state and cardiovascular disease: relevance to diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2000; 16: 125–132.
 22. Brownlee M.: Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1992; 15: 1835–1843.
 23. Di Mario U., Pugliese G.: 15th Golgi Lecture: from hyperglycemia to dysregulation of vascular remodelling in diabetes. *Diabetologia* 2001; 44: 674–692.
 24. Salahdeen A.K., Kanji V., Reckelhoff A.M., Schmidt A.M.: Pathogenesis of diabetic nephropathy: a radical approach. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997, 12, 664–668.
 25. Yla-Herttuala S.: Oxidized LDL and atherogenesis. *Anns. NY Acad. Sci.* 1999; 847: 134–137.
 26. Karamanos B.G., Thanopoulou A.C., Roussi-Penesi D.P.: Maximal postprandial triglyceride increase reflects postprandial hypertriglyceridemia and it is associated with insulin resistance syndrome. *Diab. Med.* 2001; 18: 32–39.
 27. Baynes J.W., Thorpe J.W.: Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective from an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48: 1–9.
 28. Singh R., Barden A., Bellin L.: Advanced glycation and products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129–146.
 29. Sobal G., Sinzinger H., Menzel E.J.: Binding of long term glycosylated low density lipoprotein and AGE-albumin by peripheral monocytes and endothelial cells. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 1990; 19: 267–281.
 30. Landner H.M., Tauras J.M., Ogiste J.S., Hori O., Moss R.A., Schmidt A.M.: Activation for the receptor for AGE triggers a p21 ras dependent mitogen activated protein kinase pathway regulated by oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 17810–17814.
 31. Vallejo S., Anguelo J., Peiro C., Sanchez-Ferrer A., Cercas E., Llergo J.L., Nevado J., Sanchez-Ferrer C.F., Rodriguez-Manas L.: Prevention of endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by gliclazide treatment. *J. Diab. Compl.* 2000; 14: 224–233.
 32. Renier G., Desfaits A.C., Serri O.: Effect of gliclazide on monocyte-endothelium interactions in diabetes. *J. Diab. Compl.* 2000; 14: 207–214.