

Técnicas diagnósticas en diabetes (II)

E. Dalli Peydró

Evaluación de la disfunción endotelial en pacientes con diabetes

Servicio de Cardiología. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

Correspondencia:

Ernesto Dalli Peydró. Servicio de Cardiología. C/ San Clemente 12
Hospital Arnau de Vilanova. 46015 Valencia
e-mail: er.nest@teleline.es

RESUMEN

El endotelio vascular controla la homeostasis del tono vascular, permeabilidad, coagulación, fibrinólisis, proliferación celular y la respuesta antiinflamatoria. En presencia de factores de riesgo cardiovascular aparece un cambio fenotípico en las células endoteliales hacia un perfil inflamatorio, situación que se conoce como disfunción endotelial. La diabetes mellitus, especialmente en el contexto del síndrome metabólico, origina disfunción endotelial con incremento de factores oxidantes, vasoconstrictores, proliferativos y procoagulantes. La disfunción endotelial guarda una estrecha relación con la presencia y evolución de la microalbuminuria en la diabetes mellitus y con la aparición de eventos cardiovasculares. La disfunción endotelial precede a las complicaciones de la aterotrombosis y se puede considerar un objetivo terapéutico para retrasar dichas complicaciones. En este artículo se revisa la fisiopatología de la disfunción endotelial, con especial atención a su relación con la diabetes mellitus, la metodología diagnóstica y las posibles vías de actuación terapéutica.

Palabras Clave: Disfunción endotelial; Diabetes; Estrés oxidativo; Aterotrombosis; Vasodilatación.

ABSTRACT

The vascular endothelium controls vascular tone homeostasis, permeability, coagulation, fibrinolysis, cellular proliferation and anti-inflammatory response. In the presence of cardiovascular risk factors, a phenotypic change, known as endothelial dysfunction, appears in endothelial cells, which leads to an inflammatory profile. Diabetes disease, especially in the context of the metabolic syndrome, causes endothelial dysfunction which is associated with an increase of oxidant, vasoconstrictor, proliferative and procoagulant factors. Endothelial dysfunction has a closed relationship with the development and progression of microalbuminuria and other vascular events in patients with diabetes mellitus. Furthermore, endothelial dysfunction occurs before atherothrombotic complications are present and might be considered as a therapeutic target to prevention/retardation of these complications. In this work, we review the physiopathology of endothelial dysfunction, especially in association with diabetes mellitus, diagnostic methodology and different ways for therapeutic action.

Key Words: Endothelial dysfunction; Diabetes; Oxidative stress; Atherothrombosis; Vasodilation.

Recibido: 24 de Octubre de 2005 / Aceptado: 2 de Noviembre de 2005

Acrónimos: AGE, productos de glicosilación avanzada; DMF, dilatación mediada por flujo; EDHF, factor hiperpolarizante derivado del endotelio; EGF, factor de crecimiento epidérmico; ICAM-1, molécula de adhesión intercelular-1; IGF-1, factor de crecimiento similar a insulina-1; MCP-1, proteína quimiotáctica para monocitos; NEFAs, ácidos grasos no esterificados; NO, óxido nítrico; PAF, factor activador plaquetario; PAI-1, inhibidor del activador del plasminógeno-1; PGI₂, prostaciclina; TGF-β₁, factor transformador de crecimiento β₁; TNFα, factor de necrosis tumoral α; VCAM-1, molécula de adhesión celular vascular-1; VEGF, factor de crecimiento vascular endotelial.

INTRODUCCIÓN

El endotelio forma una monocapa celular que recubre la superficie interior de los vasos sanguíneos. Constituye el 1% de la masa corporal con una superficie de unos 5.000 m²¹. El endotelio es un órgano endocrino, paracrino y autocrino cuya alteración representa el evento crítico inicial de la aterosclerosis. Las células endoteliales pueden sintetizar sustancias con efectos antagónicos, de forma que existe un equilibrio que garantiza un adecuado tono muscular y un estado anticoagulante, antiagregante plaquetario, fibrinolítico y antiinflamatorio en circunstancias de salud².

Si las condiciones a las que son sometidas las células endoteliales se modifican, por hiperlipemia, estrés oxidativo, hipertensión, diabetes mellitus o tóxicos ambientales, estas células variarán su fenotipo hacia un estado proinflamatorio, lo cual implica una menor disponibilidad local de óxido nítrico (NO), mayor síntesis de moléculas de adhesión que atraerán leucocitos y plaquetas, incremento de permeabilidad y síntesis de citocinas, que favorecerán la proliferación y migración de células musculares lisas y fibroblastos. Este conjunto de cambios reciben el nombre de disfunción endotelial.

La disfunción endotelial se relaciona con el riesgo cardiovascular de un sujeto determinado, lo cual sugiere que los estudios de función endotelial podrían utilizarse en la valoración de nuevas estrategias para el tratamiento de la aterosclerosis. En este artículo se repasará la fisiopatología de la función endotelial, los métodos de evaluación y los tratamientos para revertir la disfunción endotelial, con particular atención a los aspectos relacionados con la diabetes mellitus.

ORGANIZACIÓN DEL ENDOTELIO VASCULAR

Cada célula endotelial tiene una superficie luminal y una superficie hacia el espacio subendotelial con diferentes proteínas de membrana. Asimismo, entre las células endoteliales se establecen unos puentes de unión que regulan la permeabilidad. Su estructura y función pueden variar en función del territorio vascular considerado. Esta heterogeneidad tiene repercusiones en la estructura del citoesqueleto, uniones intercelulares, matriz de fibronectina y expresión de moléculas de adhesión³. El aspecto de las células depende de las fuerzas de cizallamiento y está regulada por proteínas contráctiles, similares a las encontradas en el músculo liso, que se continúan con las conexiones intercelulares⁴.

FUNCIONES DEL ENDOTELIO

Regulación de la permeabilidad vascular

La barrera endotelial está constituida por las propias células y los mecanismos de unión intercelular, los cuales intervienen en la integridad de la estructura endotelial y en el control de la migración, crecimiento y diferenciación celulares⁵. La permeabilidad endotelial puede incrementarse por trombina o histamina, permitiendo el paso de macromoléculas (transporte paracelular). También existe paso de moléculas a través de formación de vesículas y endocitosis⁶. Numerosos nutrientes, incluyendo algunos ácidos grasos como el ácido linoleico, alteran la integridad endotelial⁷. El aumento de niveles de NO pueden incrementar la permeabilidad inducida por el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)⁸ o factor de necrosis tumoral α (TNF α)⁹. Otras moléculas que aumentan la permeabilidad son la angiotensina II¹⁰ o la interleucina 1 β ¹¹.

Regulación del tono vasomotor

El endotelio mantiene el tono vascular a través del equilibrio entre sustancias vasodilatadoras como NO, prostaciclina (PGI₂) y factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDHF) y sustancias vasoconstrictoras como angiotensina II, endotelina-1, aniones superóxido y tromboxano A₂. Cuando el equilibrio se rompe, por estrés oxidativo fundamentalmente, la balanza se inclina hacia una vasodilatación disminuida.

Regulación de la hemostasia y la trombosis

Las células endoteliales ejercen acciones antiagregantes a través de la síntesis de NO y PGI₂, anticoagulantes por medio de antitrombina III, proteína S, e inhibidor del factor tisular, y fibrinolíticas, a través del activador tisular del plasminógeno (t-PA). Pero también, tras su activación, son capaces de desarrollar un estado protrombótico sintetizando cofactores de adhesión para plaquetas como el factor de von Willebrand, fibronectina, trombospondina y factores de la coagulación como el factor V¹². Pueden ser activadas por LDL oxidadas, citocinas o TNF- α , expresando factor tisular que interacciona con el factor VIIa para formar trombina¹³. Las LDL oxidadas disminuyen también la actividad del inhibidor del factor tisular¹⁴.

Interacción con las células sanguíneas

Los leucocitos interactúan con las células endoteliales a través de sustancias quimiotácticas y moléculas de adhe-

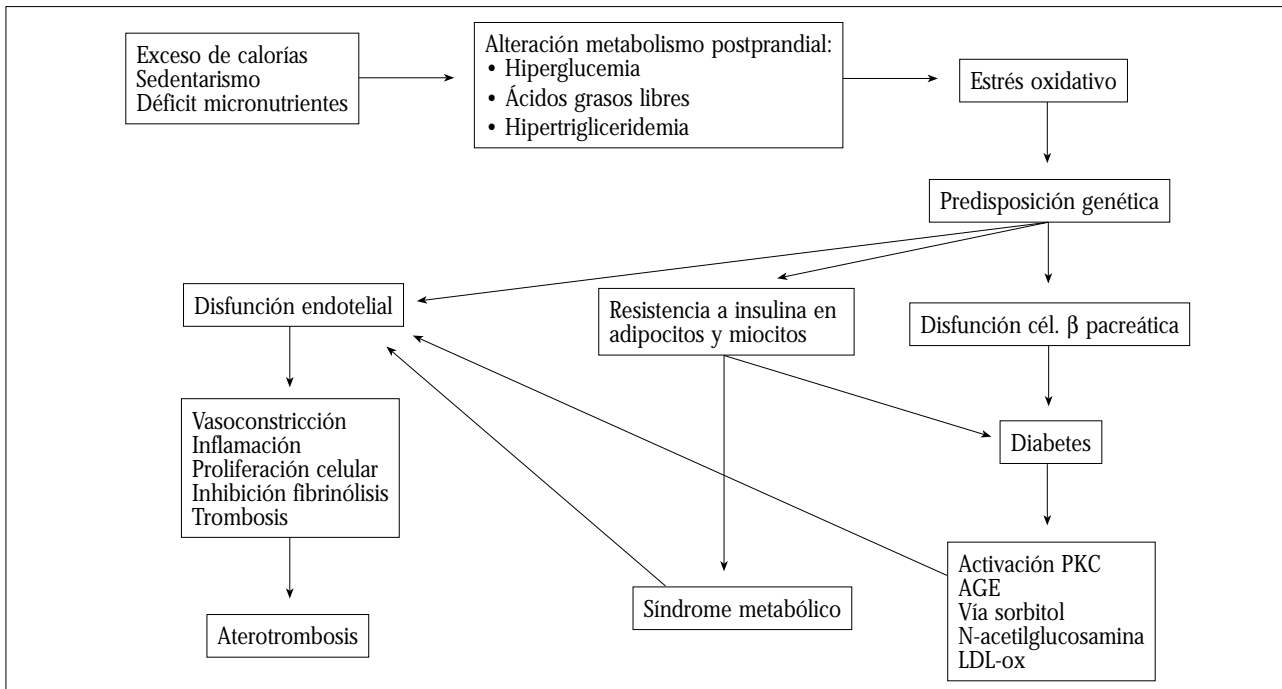


Figura 1. Esquema de las interacciones entre estrés oxidativo, disfunción endotelial y diabetes, que pueden conducir al desarrollo y complicaciones de la aterotrombosis.

sión celular expresadas por el propio endotelio. Entre las primeras se encuentra el factor activador plaquetario (PAF), interleucina 8 o la proteína quimiotáctica para monocitos (MCP-1,) que facilitan la migración de monocitos y linfocitos al interior del vaso¹⁵. Las moléculas de adhesión: selectinas, integrinas y miembros de la familia de inmunoglobulinas, median desde el contacto hasta la migración de los leucocitos a través del endotelio¹⁶. La molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular -1 (ICAM-1), pertenecientes a la familia de las inmunoglobulinas, al igual que las selectinas, pueden regularse al alza por citocinas inflamatorias presentes en zonas donde se acumula LDL oxidada¹⁷. Las células endoteliales elaboran también un amplio espectro de citocinas¹⁸, aunque su fuente principal en la pared vascular son los monocitos activados y macrófagos¹⁹.

Disfunción endotelial y diabetes

La diabetes tipo 2 está aumentando rápidamente en el mundo²⁰. Su impacto en la morbimortalidad cardiovascular implica que pueda ser considerada actualmente como una enfermedad cardiovascular²¹. El riesgo cardiovascular asociado a la diabetes comienza años antes de su diagnóstico²². Se postula que, tanto la diabetes como la aterotrombosis, tienen un nexo etiopatogénico común²³ que se iniciaría por

incremento del estrés oxidativo intracelular, seguido de activación de células inflamatorias²⁴. Dichos cambios producirían disfunción de las células β del páncreas y resistencia a la insulina en individuos más predispuestos genéticamente y, de forma paralela, el estrés oxidativo generará disfunción endotelial sistémica²⁵.

Se ha observado que la disfunción de las células β ocurre tras exposición a niveles elevados de glucemia y ácidos grasos libres, especialmente en fase postprandial²⁶. Recientemente se ha demostrado que concentraciones elevadas de glucosa aumentan los radicales libres intramitocondriales, disminuyendo la primera fase de la secreción de insulina, al menos en parte, a través de la supresión de actividad del enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa²⁷. Los ácidos grasos libres aumentan asimismo, la generación de radicales libres y, junto a niveles elevados de glucosa, producen a largo plazo daño pancreático²⁸. Las células β son muy sensibles al estrés oxidativo por su bajo contenido en enzimas antioxidantes²⁹. El estrés oxidativo modifica directamente el fenotipo en las células endoteliales incrementando la expresión génica de citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión, introduciendo el concepto etiopatogénico de inflamación crónica de bajo grado³⁰, la cual también contribuye al mecanismo patogénico de resistencia a la insulina y aparición de la diabetes mellitus tipo 2³¹ (Figura 1).

La microalbuminuria podría considerarse un equivalente de disfunción endotelial sistémica y se relaciona con la inflamación crónica de bajo grado, independientemente de la presencia o ausencia de diabetes³². En la diabetes mellitus tipo 1 se podría decir que la disfunción endotelial precede a la aparición de microalbuminuria aunque existen estudios contradictorios³³⁻³⁶. En los sujetos con diabetes mellitus tipo 2 existe una relación directa y progresiva entre disfunción endotelial, inflamación y excreción urinaria de albúmina³².

La hiperglucemia intracelular puede ocasionar disfunción endotelial a través de varios mecanismos: en primer lugar, por incremento de la síntesis de sorbitol y fructosa por acción de la aldosa reductasa y sorbitol deshidrogenasa, procesos acompañados de oxidación de NADPH a NADP⁺ y reducción de NAD⁺ a NADH³⁷. Se produce también alteración de las vías de señalización intracelular, como activación de la proteína cinasa C y sus múltiples consecuencias: síntesis de VEGF, disminución de la actividad de la sintetasa de NO o aumento de endotelina-1³⁸, e inhibición de la fosforilación de la proteína cinasa akt, y con ello disminución de la disponibilidad de NO³⁹. En tercer lugar, se produce aumento de hexosamina-6-fosfato y, secundariamente, N-acetilglucosamina, con el consiguiente aumento de actividad del factor de transcripción SP-1, que aumenta la expresión del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y factor transformador de crecimiento β_1 (TGF- β_1)⁴⁰.

Por último, la glicación no enzimática de proteínas, con formación de productos de glicosilación avanzada (AGE). Los AGE pueden ser reconocidos por receptores específicos en diferentes células, incluyendo macrófagos y células endoteliales y, a través de la vía de señalización intracelular del factor de transcripción NF- κ B, este proceso aumenta la expresión de trombomodulina, factor tisular, ICAM-1 y citocinas⁴¹. La sobreproducción de anión superóxido en mitocondrias es debida a la propia hiperglucemia intracelular y fundamental para la activación de las cuatro vías mencionadas⁴². Así pues, el estrés oxidativo estaría en la génesis de la disfunción inicial pancreática, y la hiperglucemia generaría más estrés oxidativo, como se demuestra por niveles aumentados de hidroperóxidos lipídicos⁴³ y excreción aumentada de 8-iso-PGF_{2 α} ⁴⁴ en pacientes con diabetes mellitus.

Los factores de crecimiento que se han relacionado con la evolución y complicaciones de la diabetes mellitus son TGF- β , factor de crecimiento similar a insulina-1 (IGF-1) y factor de crecimiento endotelial (EGF), que juegan un

TABLA I. Parámetros para la estimación de la función endotelial en pacientes diabéticos

Vasodilatación dependiente de endotelio

Dilatación mediada por flujo en la arteria humeral
Pletismografía de oclusión venosa

Moléculas circulantes derivadas del endotelio

t-PA y PAI-1
Trombomodulina
Factor de von Willebrand
VCAM-1
ICAM-1
E-selectina
Fibronectina y fragmentos de colágeno tipo IV

Microalbuminuria

papel importante en la aparición de nefropatía⁴⁵. El TNF- α interviene en la aparición de resistencia a la insulina y disfunción endotelial y el VEGF interviene en la retinopatía⁴⁶. Recientemente se han publicado revisiones sobre la disfunción endotelial relacionada con la diabetes⁴⁷ y el papel de las moléculas de adhesión en el síndrome metabólico⁴⁸.

En el síndrome metabólico otros mecanismos agravan la disfunción endotelial. La hipertensión agrava la microangiopatía⁴⁹ y a nivel renal se asocia a una menor disponibilidad de NO, favoreciendo una vasoconstricción glomerular, descenso de filtración y proteinuria⁵⁰. La dislipemia del paciente diabético se caracteriza por HDL bajo, triglicéridos aumentados y LDL pequeñas y densas, más aterogénicas. Especialmente en fase postprandial aumentan los quilomicrones y VLDL, más susceptibles a la oxidación, con la consiguiente disfunción endotelial postprandial⁵¹. La obesidad incrementa los niveles de TNF- α y ácidos grasos no esterificados (NEFAs) que pueden causar resistencia a la insulina en las células endoteliales⁵². Los niveles disminuidos de adiponectina se han relacionado con disfunción endotelial y peor pronóstico en sujetos diabéticos⁵³.

Evaluación de la función endotelial

Existen diversas posibilidades para el estudio de la disfunción endotelial dado el espectro de alteraciones descritas. Podemos evaluar la función endotelial indirectamente a través de técnicas invasivas o no invasivas, así como a través de proteínas reguladas por el endotelio y, posiblemente, la microalbuminuria (Tabla I).

La menor disponibilidad local de NO y, por tanto, una vasodilatación disminuida, puede ser detectada mediante diferentes métodos. Inicialmente se estudió en arterias coronarias la vasomotricidad tras infusión de acetilcolina⁵⁴, o tras incremento de flujo sanguíneo secundario a infusión de papaverina⁵⁵. La infusión de acetilcolina producía una respuesta vasoconstrictora paradójica en sujetos con enfermedad coronaria por menor actividad de NO y predominio de sustancias vasoconstrictoras⁵⁴, pero también debida a estímulo directo de la síntesis de endotelina⁵⁶.

A nivel periférico, se emplea la pletismografía de oclusión venosa. Esta técnica requiere de un catéter intraarterial a través del que se inyectan sustancias como acetilcolina, que aumentan la liberación de NO⁵⁷. Se coloca un manguito que ocluye el retorno venoso en el brazo y otro en la muñeca que ocluye el flujo arterial; de esta forma, mediante anillos de mercurio distensibles colocados en el antebrazo, se miden los cambios del perímetro braquial secundarios a vasodilatación arterial y se comparan con medidas del brazo contralateral. Esta técnica tiene algún riesgo de lesiones nerviosas o vasculares y consume tiempo, por lo que no es aplicable a grandes grupos de población. Mediante esta técnica se ha demostrado disfunción endotelial en pacientes obesos con resistencia a la insulina⁵⁸. Tanto Heitzer y cols.⁵⁹, como Perticone y cols.⁶⁰, demostraron el valor pronóstico negativo de la disfunción endotelial mediante esta metodología.

Un método más accesible para estudiar la función arterial es el estudio de la dilatación de la arteria humeral media por hiperflujo (DMF). Tras compresión del brazo durante al menos 4 minutos y medio, la hiperemia reactiva, a través de los receptores sensibles al rozamiento, provoca liberación de NO y vasodilatación, cuantificable mediante ecografía de alta resolución. Esta técnica fue introducida por Celermajer y cols.⁶¹, en 1992. Se ha publicado de forma profusa su metodología y limitaciones⁶², así como estudios de correlación con la función endotelial coronaria y con la gravedad de las lesiones^{63,64}. Se ha descrito alteración de la DMF, no sólo en presencia de los factores de riesgo clásicos⁶⁵⁻⁶⁷, sino también en diversas situaciones⁶⁸⁻⁷³.

Existen 3 estudios en los que se ha demostrado que la disfunción endotelial, evaluada mediante DMF, tiene valor pronóstico independiente. Neunteufl y cols.⁷⁴, estudiaron 73 pacientes con dolor torácico sometidos a coronariografía. Tras 5 años de seguimiento, el 50% de pacientes con DMF < 10%, presentaron episodios coronarios (ACTP, *bypass*, IAM no fatal, comparado con el 15% de pacientes con DMF > 10%. Gokce

y cols.⁷⁵, observaron tras un seguimiento de 1,2 años a 199 pacientes intervenidos quirúrgicamente por enfermedad arterial periférica y observaron que la DMF era un potente predictor independiente de eventos vasculares (muerte cardiovascular, infarto de miocardio, angina inestable, accidente cerebrovascular). Modena y cols.⁷⁶, investigaron la DMF en mujeres posmenopáusicas hipertensas y observaron que, tras tratamiento antihipertensivo, si no mejoraba la DMF existía un riesgo cardiovascular aumentado en los 5 años siguientes.

Aunque estrictamente no son técnicas para el estudio de la función endotelial, ya que miden un grado más avanzado de afectación arterial, merece comentar algún aspecto del estudio del grado de rigidez arterial o el grosor íntima-media carotídeo. La determinación de la rigidez y la distensibilidad arterial, a través del estudio de la onda de pulso o tonometría vascular, es no invasiva y, en parte, dependiente de endotelio, aunque también intervienen otros factores relacionados con el grado de fibrosis o calcificación vascular. Estos cambios han mostrado en estudios prospectivos valor pronóstico para la aparición de eventos isquémicos vasculares⁷⁷ y se encuentran alterados en pacientes con diabetes mellitus⁷⁸. La rigidez arterial predice eventos cardiovasculares en sujetos con diabetes mellitus⁷⁹. Sus valores guardan relación con el grosor íntima-media⁸⁰ y la función endotelial⁸¹. El grosor íntima-media carotídeo estudiado mediante ecografía es una medida indirecta de la función endotelial y probablemente es el método más eficaz para predecir complicaciones de aterotrombosis. El control glucémico se ha relacionado recientemente con el grosor íntima-media en el estudio ARIC⁸⁴. Se ha descrito un efecto de la hiperinsulinemia sobre el crecimiento de las células musculares lisas y la matriz extracelular^{82,83}.

La función endotelial puede también monitorizarse a través de los niveles plasmáticos de proteínas reguladoras sintetizadas por el endotelio. Diversos estudios prospectivos muestran correlación entre alteración de la vasodilatación dependiente de endotelio y elevación de dichas proteínas o, también, con microalbuminuria^{24,85}. Como limitación de esta aproximación diagnóstica, hay que asumir el papel menor de otras células como fuente de síntesis de estas proteínas, que la síntesis es más importante que su aclaramiento, o que todo el endotelio tiene igual capacidad de síntesis, cuando se sabe que el endotelio de la microvasculatura es más extenso que el de arterias más grandes y es la principal fuente de estas moléculas.

Dentro de los factores protrombóticos o inhibidores de la fibrinólisis derivados del endotelio, se ha observado que

los niveles de PAI-1 están aumentados en sujetos diabéticos y con resistencia a la insulina⁸⁶, especialmente en relación al síndrome metabólico⁸⁷, contribuyendo al incremento de riesgo cardiovascular⁸⁸. Otros factores asociados a la disfunción endotelial y que incrementan el riesgo de eventos tromboticos son la trombomodulina y el factor de von Willebrand, que pueden medirse fácilmente en plasma. El factor de von Willebrand ha sido empleado en estudios prospectivos, relacionándose con un mayor riesgo de microalbuminuria y complicaciones en órganos diana, como retinopatía diabética, neuropatía, eventos cardiovasculares y muerte^{89,90}. La trombomodulina es producida por las células endoteliales disminuyendo la actividad anticoagulante. En un estudio de Aso y cols.⁹¹, los niveles trombomodulina correlacionaron con el grado de resistencia a insulina (índice HOMA-IR) en mayor grado que el factor de von Willebrand.

Las moléculas de adhesión son expresadas fundamentalmente por el endotelio activado, y juegan un importante papel en el inicio de la aterotrombosis⁹². La resistencia a insulina se asocia a incremento de VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina⁹³. Los niveles de dichas moléculas en plasma correlacionan con la presencia en la membrana de las células endoteliales y pueden medirse fácilmente^{94,95}. En la diabetes establecida ejercen un papel importante en la evolución del daño vascular. En el estudio Hoorn, los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y valores elevados de sVCAM-1 y sICAM-1 presentaron un riesgo más elevado de muerte cardiovascular⁸⁵. En otro estudio a 10 años, los niveles elevados de sVCAM-1 y E-selectina también se asociaron con mayor mortalidad de los sujetos diabéticos²⁴.

Aunque los mecanismos exactos que dan lugar a microalbuminuria y disfunción endotelial no son del todo conocidos, el nexo etiopatogénico común permite la evaluación de este parámetro como indicador de disfunción endotelial. La albuminuria es un factor pronóstico independiente que predice mortalidad, tanto en sujetos diabéticos como no diabéticos⁹⁶, guarda relación con la resistencia a la insulina⁹⁷ y puede predecir el desarrollo de diabetes mellitus⁹⁸. Comparado con los sujetos diabéticos sin microalbuminuria, su presencia identifica a aquellos sujetos con mayor resistencia a la insulina, menor dilatación mediada por flujo y

valores más elevados de PAI-1, factor de von Willebrand y ácidos grasos libres en plasma⁹⁹.

ASPECTOS TERAPÉUTICOS

Existen diversos tratamientos que mejoran tanto el riesgo cardiovascular como la función endotelial e, incluso, retardan la aparición de la diabetes. Sin embargo, aunque parece lógico, ningún estudio ha testado la hipótesis de que la mejoría de la función endotelial reduzca el riesgo cardiovascular a largo plazo.

Las estrategias terapéuticas que disminuyen el riesgo cardiovascular y la disfunción endotelial en la diabetes comparten un común denominador: mejoran el estrés oxidativo intracelular²⁵. Hay que mencionar medidas no farmacológicas como el ejercicio físico¹⁰⁰ e intervenciones dietéticas^{101,102}, en especial dietas de tipo vegetariano integral^{103,104}, en contraposición a aportes exógenos de vitaminas que no aportan beneficio^{105,106}. Ello es debido a una mejor protección antioxidante intracelular y antiinflamatoria¹⁰⁷⁻¹¹¹. Dentro del arsenal terapéutico se incluyen fármacos para el control de la diabetes como la propia insulina¹¹², metformina¹¹³, glitazonas¹¹⁴⁻¹¹⁶, acarbosa¹¹⁷, glinidas^{118,119}, y fármacos sin efecto sobre la glucemia, empleados para el control de otros factores de riesgo asociados, como calcioantagonistas¹²⁰, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)¹²¹, inhibidores del receptor de angiotensina¹²² y estatinas¹²³.

CONSIDERACIONES PRÁCTICAS

- La diabetes y la aterotrombosis parecen tener un nexo etiopatogénico común, que se iniciaría por el incremento del estrés oxidativo intracelular seguido de activación de células inflamatorias.
- En particular, las células β son muy sensibles al estrés oxidativo por su bajo contenido en enzimas antioxidantes.
- La microalbuminuria puede considerarse un equivalente de disfunción endotelial sistémica y está relacionada con la inflamación crónica de bajo grado.
- Las estrategias terapéuticas dirigidas a la mejora del estrés oxidativo intracelular pueden disminuir el riesgo cardiovascular y la disfunción endotelial asociada a la diabetes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Krogh A. The anatomy and physiology of capillaries. New Haven, CT: Yale University Press 1929: 22.
2. Kharbanda RK, Deanfield JE. Functions of the healthy endothelium. *Coronary Artery Disease* 2001; 12: 485-491.
3. Fishman AP. Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities. *Ann NY Acad Sci* 1982; 401: 1-8.
4. Aird WC, Rosemberg RD. Vascular biology of vascular diversity. En: Born GVR, Schwartz CJ, eds. *Vascular endothelium: physiology, pathology and therapeutic options*. Stuttgart: Schattauer 1997: 97-106.
5. Dejana E, Valiron O, Navarro P, et al. Intercellular junctions in the endothelium and the control of vascular permeability. *Ann NY Acad Sci* 1997; 811: 36-43.
6. Lum L, Malik AB. Mechanism of increased endothelial permeability. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74: 787-800.
7. Toborek M, Barger SW, Matson MP, et al. Linoleic acid and TNF α cross-amplify oxidative injury and dysfunction of endothelial cells. *J Lipid Res* 1996; 37: 123-135.
8. Murohara T, Horowitz JR, Silver M, et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation* 1998; 98: 99-107.
9. Worrall NK, Chang K, LeJeune WS, et al. TNF α causes reversible in vivo systemic vascular barrier dysfunction via NO-dependent and independent mechanisms. *Am J Physiol* 1997; 273: 2565-2574.
10. Williams B, Baker AQ, Gallacher B, et al. Angiotensin II increases vascular permeability factor gene expression by human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995; 125: 913-917.
11. Marcus BC, Wyble CW, Hynes KL, et al. Cytokine-induced increases in endothelial permeability occur after adhesion molecule expression. *Surgery* 1996; 120: 411-416.
12. Lahera V, De las Heras N, Vázquez-Cruz B, et al. Endotelio vascular: factores y funciones. Disfunción endotelial. En: *Lesión endotelial en la patología vascular*. Madrid: Ed. V Lahera, SCM, 2001. p. 13-30.
13. Bevilacqua MP, Pober JS, Wheeler ME, et al. Interleukin 1 (IL-1) activation of vascular endothelium: effects on procoagulant activity and leukocyte adhesion. *Am J Pathol* 1985; 121: 394-403.
14. Sato N, Kokame K, Miyata T, et al. Lysophosphatidylcholine decreases the synthesis of tissue factor pathway inhibitor in human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Haemost* 1998; 79: 217-221.
15. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms: oxidation, inflammation and genetics. *Circulation* 1995; 91: 2488-2496.
16. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 170: 191-203.
17. Dart AM, Chin-Dusting JPF. Lipids and the endothelium. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 3308-3322.
18. Nilsen EM, Johansen FE, Jahnsen FL, Lundin KE, Scholz T, Brandtzaeg P, et al. Cytokine profiles of cultured microvascular endothelial cells from the human intestine. *Gut* 1998; 42: 635-642.
19. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor and regulation of metabolism in infection: role of systemic versus tissue levels. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 233-239.
20. Amos A, McCarthy B, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14: S1-S85.
21. Expert panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
22. Hu FB, Stampfer MJ, Haffner SM, Solomon CG, Willet WC, Manson JE. Elevated risk of cardiovascular disease prior to clinical diagnosis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 1129-1134.
23. Stern MP. Diabetes and cardiovascular disease. The "common soil" hypothesis. *Diabetes* 1995; 44: 369-374.
24. Stehouver CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, an chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes* 2002; 51: 1157-1165.
25. Ceriello A, Motz E. Is Oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 816-823.
26. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentration of α -lipoic acid. *Diabetes* 2001; 50: 404-410.
27. Sakai K, Matsumoto, Nishikawa T, Suefuji M, Nakamaru K, Hiroshima Y, et al. Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic beta-cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300: 216-222.
28. El-Assad W, Buteau J, Peyot ML, Nolan C, Roduit R, Hardy S, et al. Saturated fatty acids synergizes with elevated glucose to cause pancreatic beta-cell death. *Endocrinology* 2003; 144: 4154-4163.
29. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in β -cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 2003; 52: 581-587.
30. Roebuck KA. Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB. *Int J Mol Med* 1999; 4: 223-230.
31. Hu FB, Stampfer MJ. Is type 2 diabetes mellitus a vascular condition? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1715-1716.
32. Stehouver CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, an chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes* 2002; 51: 1157-1165.
33. Vervoort G, Lutterman JA, Smits P, Berden JH, Wetzels JF. Transcapillary escape rate of albumin is increased and relates to haemodynamic changes in normo-albuminuric type I diabetic patients. *J Hypertens* 1999; 17: 1911-1916.
34. Schalkwijk CG, Poland DC, van Dick W, et al. Plasma concentration of C-reactive protein is increased in type I diabetic patients without clinical macroangiopathy and correlates with makers of endothelial dysfunction: evidence for chronic inflammation. *Diabetologia* 1999; 42: 351-357.
35. O'Byrne S, Forte P, Roberts LJ, et al. Nitric oxide sintesis and isoprostane production in subjects with type I diabetes and normal urinary albumin excretion. *Diabetes* 2000; 49: 857-862.
36. Huvers FC, De Leeuw PW, Houben AJ, et al. Endothelium-dependent vasodilatation, plasma markers of endotelial function, and

- adrenergic vasoconstrictor responses in type I diabetes under near-normoglycemic conditions. *Diabetes* 1999; 48: 1300-1307.
37. Gabbay KH. Hyperglycemia, polyol metabolism and complications of diabetes mellitus. *Annu Rev Med* 1975; 26: 521-536.
 38. Way KJ, Katai N, King GL. Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Med* 2001; 18: 945-949.
 39. Okon EB, Chung AWY, Rauniyar P, Padilla E, Tejerina T, McManus BM, et al. Compromised arteria function in human type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2005; 54: 2415-2423.
 40. Du XL, Edelstein D, Rossetti L, et al. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor -1 expression by increasing Sp1 glycosilation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1222-1226.
 41. Stern DM, Yan SD, Yan SF, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and the complications of diabetes. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 1-15.
 42. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-820.
 43. Marra G, Cotroneo P, Pitocco D, et al. Early increase of oxidative stress and educed antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender difference. *Diabetes Care* 2002; 25: 370-375.
 44. Davi G, Ciabattoni G, Consoli A, et al. In vivo formation o 8-isoprostaglandin F2 α and platelet activation in diabetes mellitus: effects on improved metabolic control and vitamine E supplementation. *Circulation* 1999; 99: 224-229.
 45. Ziyadeh FN. Mediators of diabetic renal disease: the case for TGF- β as the major mediator. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(suppl 1): S55-S57.
 46. Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2004; 350: 48-58.
 47. Schalkwijk CG, Stehouver DA. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endotelial dysfunction. *Clinical Sci* 2005; 109: 143-159.
 48. Schram MT, Stehouver CDA. Endothelial dysfunction, cellular adhesion molecules and metabolic syndrome. *Horm Metab Res* 2005; 37, (Suppl 1): 49-55.
 49. Stas SN, El Atat FA, Sowers JR. Patogenesis of hipertension in diabetes. *Rev Endocr Metab Disord* 2004; 5: 221-225.
 50. Leclercq B, Jaimes EA, Raji L. Nitric oxide synthase and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002; 11: 185-189.
 51. Lee IK, Kim HS, Bae JH. Endothelial dysfunction: its relationship with acute hyperglycaemia and hyperlipidemia. *Int J Clin Pract* 2002; (Suppl. 129): 59-64.
 52. De Jongh RT, Serne EH, Iggerman RG, De Vries G, Stehouver CD. Free fatty acid levels modulate microvascular function: relevance for obesity-associated insulin resistance, hypertension, and microangiopathy. *Diabetes* 2004; 53: 2873-2882.
 53. Costacou T, Zgibor JC, Evans RW, et al. The prospective association between adiponectin and coronary artery disease among individuals with type 1 diabetes. The Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia* 2004; 48: 41-48.
 54. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxal vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Eng J Med* 1986; 315: 1046-1051.
 55. Zeiher AM, Drexler H, Wollschalager H, Just H. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83: 391-401.
 56. Lerman A, Holmes DR, Bell MR, Garratt KN, Nishimura RA, Burnett JC. Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans. *Circulation* 1995; 92: 2426-2431.
 57. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, et al. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-234.
 58. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996; 97: 2601-2610.
 59. Heitzer T, Schlinzig T, Kron K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 2673-2678.
 60. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001; 104: 191-196.
 61. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-1115.
 62. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of the endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 257-265.
 63. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delange D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235-1241.
 64. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, Klaar U, Schwarzacher S, Glogar D, et al. Systemic endothelial disfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997; 129: 111-118.
 65. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent vasodilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1468-1474.
 66. Jensen-Urstad K, Johansson J, Jensen-Urstad M. Vascular function correlates with risk factors for cardiovascular disease in a healthy population of 35-year-old subjects. *J Intern Med* 1997; 241: 507-513.
 67. Hashimoto M, Kozaki K, Eto M, Akishita M, Ako J, Iijima K, et al. Association of coronary risk factors and endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery. *Hypertens Res* 2000; 23: 233-238.
 68. Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impairment of endothelium-dependent vasodilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein (a). *J Clin Invest* 1994; 93: 50-55.
 69. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, et al. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Eng J Med* 1996; 334: 150-154.
 70. Chao CHL, Kuo TL, Lee YT. Effects of methionine-induced hyperhomocysteinemia on endothelium-dependent vasodilation and oxidative status in healthy adults. *Circulation* 2000; 101: 485-490.
 71. Ubeda S, Matsuoka H, Miyazaki H, Usui M, Okuda S, Imaizumi T. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in long-term smokers. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 71-75.
 72. Balletshofer BM, Ritting K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S, et al. Endothelial dysfunction is detectable in young normo-

- tensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation* 2000; 101: 1780-1784.
73. Dalli E, Segarra L, Ruvira J, Esteban E, Cabrera A, Lliso R, et al. Dilatación de la arteria humeral mediada por flujo en varones sanos, con factores de riesgo e infarto agudo de miocardio. Importancia de la posición del manguito ocluser. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55: 928-935.
 74. Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R, Wolf G, Kostner K, Maurer G, et al. Late prognostic value of flow-mediated vasodilation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol* 2000; 86: 207-210.
 75. Gokce N, Keaney JF Jr, Hunter LM, et al. Predictive value of non-invasively-determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1769-1775.
 76. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 505-510.
 77. Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 554-566.
 78. Lehmann ED, Riley WA, Clarkson P, et al. Non-invasive assessment of cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Lancet* 1997; 350 (Suppl 1): S114-9.
 79. Franklin SS, Khan SA, Wong ND, et al. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1999; 100: 354-360.
 80. Taniwaki H, Kawagishi T, Emoto M, et al. Correlation between the intima-media thickness of the carotid artery and aortic pulse-wave velocity in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 1851-1857.
 81. Ravikumar R, Deepa R, Shantirani C, et al. Comparison of carotid intima-media thickness, arterial stiffness and brachial artery flow mediated dilatation in diabetic and nondiabetic subjects. The Chennai Urban Population Study. (CUPS-9) *Am J Cardiol* 2002; 90:702-707.
 82. Bokemark L, Wikstrand J, Wedel H, et al. Insulin, insulin propeptides and intima-media thickness in the carotid artery in 58 year-old clinically healthy men. The Atherosclerosis and Insulin Resistance study (AIR) *Diabet Med* 2002; 19: 144-151.
 83. Bonora E, Tessari R, Micciolo R, et al. Intimal-media thickness of the carotid artery in nondiabetic and NIDDM patients. Relationship with insulin resistance. *Diabetes Care* 1997; 20: 627-631.
 84. Selvin E, Coresh J, Golden SH, Boland LL, Brancati FL, Steefes MW. Glycemic control, atherosclerosis, and risk factors for cardiovascular disease in individuals with diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care* 2005; 28: 1965-1973.
 85. Jager A, van HinsbergVW, Kostense PJ, et al. Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule 1 are associated with risk of cardiovascular mortality in type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetes* 2000; 49: 485-491.
 86. Sobel BE, Woodcock-Mitchell J, Scheneider DJ, Holt RE, Marutsuka K, Gold H. Increased plasminogen activator inhibitor type I in coronary artery atherectomy specimens from type 2 diabetes compared with nondiabetic patients: a potential factor predisposing to thrombosis and its persistence. *Circulation* 1998; 97: 2213-2221.
 87. Calles-Escandón J, Mirza SA, Sobel BE, et al. Induction of hyperinsulinemia combined with hyperglycemia and hypertriglyceridemia increases plasminogen activator inhibitor 1 in blood in normal subjects. *Diabetes* 1998; 47: 290-293.
 88. Carr ME. Diabetes mellitus a hypercoagulable state. *Diabetes Complications* 2001; 15: 44-54.
 89. Verrotti A, Greco R, Basciani F, Morgese G, Chiarelli F. von Willebrand factor and its propeptide in children with diabetes. Relation between endothelial dysfunction and microalbuminuria. *Pediatr Res* 2003; 53: 382-386.
 90. Jager A, van HinsbergVW, Kostense PJ, et al. Von Willebrand Factor, C-reactive protein, and 5-year mortality in diabetic and non-diabetic subjects: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 3071-3078.
 91. Aso Y, Fujiwara Y, Tayama K, Takanashi K, Inukai T, Takemura Y. Relationship between plasma soluble thrombomodulin levels and insulin resistance syndrome in type 2 diabetes: a comparison with von Willebrand factor. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109: 210-216.
 92. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Eng J Med* 1999; 340: 115-126.
 93. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Ueki Y, Miyake S. Serum concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 and E-selectin are elevated in insulin-resistant patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1697-1698.
 94. Leeuwenberg JF, Smeets EF, Neefjes JJ, Schaffer MA, Cinek T, Jeunhomme TM, et al. E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells in vitro. *Immunology* 1992; 77: 543-549.
 95. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest*. 1995; 96: 1395-1403.
 96. Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death and heart failure in diabetics and nondiabetics individuals. *JAMA* 2001; 286: 421-426.
 97. Mikkonen I, Zaccaro DJ, Wagenknecht LE, et al. Microalbuminuria is associated with insulin resistance in nondiabetic subjects: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 1998; 47: 780-793.
 98. Mykkanen L, Haffner SM, Kuusisto J, et al. Microalbuminuria precedes the development of NIDDM. *Diabetes* 1994; 43: 552-557.
 99. Tu Y, Suo L, Wang C, Tang H. Insulin resistance and endothelial dysfunction in type 2 diabetes patients with or without microalbuminuria. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 65: 95-104.
 100. Gokce N, Vita JA, Bader DS, et al. Effect of exercise on upper and lower extremity endothelial function in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002; 90: 124-127.
 101. López-García E, Schulze MB, Fung TT, Meigs JB, Rifai N, Manson JE, et al. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial function. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1029-1035.
 102. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano P, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002; 105: 804-809.
 103. Golf LM, BellJD, So PW, Dornhorst A, Frost GS. Veganism and its relationship with insulin resistance and intramyocellular lipid. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59: 291-298.
 104. Valachovicova M, Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Babinska K. No evidence of insulin resistance in normal weight vegetarians. A case control study. *Eur J Nutr* 2005 (Epub ahead of print).
 105. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients: the

- Heart Outcomes Prevention Evaluation study investigators. *N Eng J Med* 2000; 342: 154-160.
106. MRC/BHF Heart Protection Study Group. MRC/BHF Heart Protection study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 23-33.
107. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 2005; 135: 969-972.
108. Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (Suppl): 475S-490S.
109. Lu SC, Wu WH, Lee CH, Chou HF, Lee HR, Huang PC. LDL of taiwanese vegetarian are less oxidizable than those of omnivores. *J Nutr* 2000; 130: 1591-1596.
110. Bazzano LA, Serdula MK, Liu S. Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease. *Current Atherosclerosis Reports* 2003; 5: 492-499.
111. Lin CH, Fang TC, Gueng MK. Vascular dilatory functions of ovo-lacto vegetarians compared with omnivores. *Atherosclerosis* 2001; 158: 247-251.
112. McSorley PT, Bell PM, Young S, Atkinson AB, Sheridan B, Fee JPH, et al. Endothelial function, insulin action and cardiovascular risk factors in young healthy adult offspring of parents with type 2 diabetes: effect of vitamin E in a randomized double-blind, controlled trial. *Diabet Med* 2005; 22: 703-710.
113. Vitale C, Mercurio G, Cornoldi A, Fini M, Volterrani M, Rosano GM. Metformin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *J Intern Med* 2005; 258: 250-256.
114. Pfützner A, Marx N, Lübken G, Langenfeld M, Walcher D, Konrad T, et al. Improvement of cardiovascular risk markers by pioglitazone is independent from glycemic control. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1925-1931.
115. Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance. *Diabet Med* 2004; 21: 1249-1252.
116. Hetzel J, Balletshofer B, Rittig K, Walcher D, Kratzer W, Hombach V, et al. Rapid effects of rosiglitazone treatment on endothelial function and inflammatory biomarkers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 1804-1809.
117. Hanefeld M, Chiasson JL, Koehler C, Henkel E, Schaper F, Temelkova-Kurktschiev T. Acarbose slows progression of intima-media thickness of the carotid arteries in subjects with impaired glucose tolerance. *Stroke* 2004; 35: 1073-1078.
118. Shimabukuro M, Higa N, Takasu N, Tagawa T, Ueda S. A single dose of nateglinide improves post-challenge glucose metabolism and endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2004; 21: 983-986.
119. Rizzo MR, Barbieri M, Grella R, Passariello N, Polisso G. Repaglinide has more beneficial effect on cardiovascular risk factors than glimepiride: data from meal-test study. *Diabetes Metab* 2005; 31: 255-260.
120. Mason RP, Marche P, Hintze TH. Novel vascular biology of third-generation L-type calcium channel antagonists: ancillary actions of amlodipine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 2155-2163.
121. Münzel T, Keaney JF Jr. Are ACE inhibitors a "magic bullet" against oxidative stress?. *Circulation* 2001; 104: 1571-1579.
122. Ceriello A, Motz E. Angiotensin-receptor blockers, type 2 diabetes and renoprotection. *N Eng J Med* 2002; 346: 705-707.
123. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1712-1719.