

تأثیر اختلالات گلوکز ناشتا روی فاکتورهای عملکرد اندوتلیال و شاخص‌های بیوشیمیایی در بیماران مبتلا به سندرم متابولیک

دکتر یوسف رسمی*^۱، فریبا ولی پور^۲، دکتر محمدحسن خادم انصاری^۳، دکتر ندا ولیزاده^۴

تاریخ دریافت: 91/03/12 تاریخ پذیرش: 91/6/24

چکیده

پیش زمینه و هدف: اختلال عملکرد اندوتلیال مشخصه مراحل اولیه بیماری‌های قلبی و عروقی بوده. که در شرایط فشار خون بالا، اختلالات لیپیدی و مقاومت به انسولین مشخص می‌شود. مقاومت به انسولین از مشخصه‌های اختلالات متابولیکی و اختلال عملکرد اندوتلیال می‌باشد. در این مطالعه هدف بررسی تأثیر اختلالات گلوکز روی بیومارک‌های عملکرد اندوتلیال و شاخص‌های بیوشیمیایی در بیماران سندرم متابولیک می‌باشد.

مواد و روش کار: ۸۰ بیمار مبتلا به سندرم متابولیک (MS) طبق معیار Adult Treatment Panel III انتخاب شدند. همین افراد به دو گروه، بیماران MS دارای قند خون ناشتای $100 \text{ mg/dl} \leq \text{FBS}$ (۳۶ نفر) و $100 \text{ mg/dl} > \text{FBS}$ (۴۴ نفر) تقسیم شدند. جهت بررسی عملکرد اندوتلیال از سنجش ICAM-1، اندوتلین-۱، E-سلکتین، NO_2^- و NO_3^- استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین سن بیماران MS با قند $\leq 100 \text{ mg/dl}$ $51/58 \pm 8/82$ سال بیشتر از بیماران MS با قند $> 100 \text{ mg/dl}$ $46/77 \pm 10/46$ سال ($P=0/031$) بود. ولی در HDL-C، کلسترول و LDL-C تفاوت معنی‌داری نداشتند. مقدار E-سلکتین بیماران MS با قند $\leq 100 \text{ mg/dl}$ $9/61 \pm 4/41 \text{ ng/ml}$ و $100 \text{ mg/dl} >$ $9/61 \pm 4/41 \text{ ng/ml}$ ($p=0/049$) است. مقدار ICAM-1 و اندوتلین-۱ دو گروه با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>0/05$). در بیماران با قند $\leq 100 \text{ mg/dl}$ مقدار NO_3^- $100 \text{ mg/dl} >$ $21/25 \pm 10/81 \text{ uM}$ ($p=0/039$) و مقدار NO_2^- $19/65 \pm 7/41 \text{ uM}$ ($p=0/010$) است. بیماران با قند $> 100 \text{ mg/dl}$ مقدار NO_3^- $19/65 \pm 7/41 \text{ uM}$ ($p=0/010$) و مقدار NO_2^- $19/65 \pm 7/41 \text{ uM}$ ($p=0/010$) است.

بحث و نتیجه گیری: در بیماران MS دارای FBS بالا، E-سلکتین بالاتر بوده و این عامل احتمالاً باعث اختلال عملکرد اندوتلیال می‌شود. احتمالاً اختلالات تحمل گلوکز می‌تواند در کاهش NO_2^- و NO_3^- در مبتلایان به MS دخیل باشد.

کلید واژه‌ها: سندرم متابولیک، اختلال عملکرد اندوتلیال، اختلال تحمل گلوکز ناشتا

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره چهارم، ص ۴۰۳-۳۹۸، مهر و آبان ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۸۰۸۳

Email: mhansari1@umsu.ac.ir

مقدمه

و عروقی در نظر گرفته می‌شود (۴). بسیاری از محققین نقش مقاومت به انسولین را نسبت به چاقی در اولویت قرار می‌دهند (۵،۱) که با افزایش محتویات چربی بدن افزایش می‌یابد (۶). مفهوم اساسی سندرم مقاومت به انسولین این است که برخی عوامل مشترک اولیه بین ابتلا به دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی و عروقی وجود دارد. احتمالاً التهاب سیستماتیک با این عوامل ارتباط داده می‌شود (۷-۱۰). اندوتلیوم یکی از محل‌های مهم برای تنظیم عملکرد عروق بوده و یکی از مهم‌ترین عملکردهای

سندرم متابولیک (MS) مجموعه‌ای از عوامل (پیش زمینه بروز بیماری‌های دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی و عروقی) که شامل چاقی مفرط، مقاومت به انسولین، اختلالات لیپیدی، فشار خون بالا، عدم تحمل گلوکز و موقعیت‌های پاتولوژیک دیگر بوده و با افزایش مرگ و میر ناشی از بیماری کرونر قلب و دیابت ارتباط پیدا می‌کند (۴-۱). مقاومت به انسولین اختلال عمده پاتوژنز MS است که به عنوان فاکتور خطرناک مستقلی برای بیماری‌های قلبی

^۱ دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

^۲ کارشناس ارشد زیست‌شناسی - بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

^۳ دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

^۴ استادیار گروه غدد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

تیروئید درمان نشده، بیماری‌های التهابی حاد و مزمن، عمل جراحی در ۳ ماه اخیر و بدخیمی‌ها بود. فشار خون سیستولیک و دیاستولیک تمامی بیماران بر حسب mmHg و اندازه دور شکم افراد بر حسب سانتی متر، وزن بر حسب کیلو گرم و قد بر حسب متر اندازه گیری شد. بعد از حداقل ۱۲ ساعت ناشتایی از همه افراد ۸ سی سی خون وریدی با استفاده از سرنگ‌های ونوجکت استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جهت آزمایشات دریافت گردیده و پلاسما با استفاده از سانتریفوژ، در ۳۰۰۰ برای ۷ دقیقه جداسازی شده در -80°C تا زمان آنالیزها نگهداری شد. تری گلیسرید، قند، کلسترول، LDLc و HDLc به روش آنزیماتیک و با دستگاه اتوماتیک اتوالایزر و اندوتلین-۱، ICAM-1، E-selکتین بر اساس روش ELISA با استفاده از کیت (IBL Hamburg Germany) و NO_2^- و NO_3^- بر اساس روش Griess با استفاده از کیت (Cayman Cayman Chemicals, USA) اندازه گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS - Version 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شدند.

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۸۰ بیمار مبتلا به MS انجام گرفت. از آن جایی که در بیماران MS قند خون ناشتا یا در حد نرمال کمتر از ۱۰۰ mg/dl یا قند خون ناشتای بالای ۱۰۰ mg/dl می‌باشد. در این مطالعه ۴۴ نفر دارای قند خون ناشتای نرمال و ۳۶ نفر دارای قند خون ناشتای غیر نرمال بودند. در جدول شماره ۱ ویژگی‌های دموگرافیک و شاخص‌های بیوشیمیایی بیماران MS بر اساس تفکیک گروه‌های قند خون ناشتا آورده شده است.

جدول شماره (۱): مشخصات دموگرافیک و شاخص‌های بیوشیمیایی بیماران سندرم متابولیک بر اساس قند خون ناشتا

P value	قند خون ناشتای کمتر از		متغیرها
	۱۰۰ mg/dl	قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی ۱۰۰ mg/dl	
	۱۲/۳۲	۹/۲۷	جنس (زن/ مرد) Nnnnn
۰/۰۳۱	۴۶/۷۷ \pm ۱۰/۴۶	۵۱/۵۸ \pm ۸/۸۲	سن (سال)
۰/۵۷۹	۹۴/۳۰ \pm ۷/۲۰	۹۳/۳۰ \pm ۸/۶۰	فشار خون دیاستولیک (mmHg)
۰/۵۳۳	۱۴۵ \pm ۲۰/۱۰	۱۴۷/۷ \pm ۱۹/۲۰	فشار خون سیستولیک (mmHg)
۰/۲۷۷	۱۰۷/۶۸ \pm ۱۰/۰۷	۱۱۰/۰۸ \pm ۹/۳۷	اندازه دور شکم (cm)
۰/۰۰۵	۳۰۲/۲۷ \pm ۱۹۵/۲۹	۲۰۱/۴۴ \pm ۸۵/۹۷	تری گلیسرید (mg/dl)
۰/۰۷۱	۲۵۴/۳۲ \pm ۶۴/۴۱	۲۳۱/۵۳ \pm ۴۱/۸۱	کلسترول (mg/dl)
۰/۰۶۵	۱۵۰/۷۷ \pm ۳۳/۳۵	۱۳۶/۵۶ \pm ۳۴/۱۷	LDL-c (mg/dl)
۰/۱۶۹	۵۷/۶۶ \pm ۱۲/۴۷	۶۱/۱۹ \pm ۹/۷۵	HDL-c (mg/dl)

* مقادیر بر حسب میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است.

اندوتلیوم توانایی تولید نیتریک اکسید (NO) می‌باشد. بنابراین یک مارکر اولیه اختلال عملکرد اندوتلیال کاهش خاصیت انبساطی عروق است که به کاهش توانایی NO بستگی دارد (۱۱). پس اندوتلیوم عروقی در پاتوژنز بیماری‌های قلبی و عروقی می‌باشد (۱۲، ۱۳). Intercellular adhesion molecule (ICAM-1) و E-selکتین در نتیجه التهاب در مراحل اولیه بیماری در سطح سلول‌های اندوتلیال ترشح می‌شود و با سندرم متابولیک ارتباط می‌یابد (۱۴). هدف در این مطالعه بررسی تأثیر اختلالات گلوکز بر بیومارکرهای مولکولی عملکرد اندوتلیال و شاخص‌های بیوشیمیایی در بیماران MS می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه، ۸۰ بیمار مبتلا به MS طبق معیار ATPIII (Adult Treatment Panel III) انتخاب شدند. که فرد مبتلا از ۵ شرایط زیر حداقل ۳ شرایط را دارا باشد: اندازه دور شکم، در مردان $\text{cm} \leq 102$ و زنان $\text{cm} \leq 88$ ، تری گلیسرید $\text{mg/dl} \leq 150$ ، کاهش HDLc در مردان $\text{mg/dl} > 40$ و زنان $\text{mg/dl} > 50$ ، فشار خون $\text{mmHg} \leq 130/85$ و قند خون ناشتا: $\text{mg/dl} \leq 100$. بیماران مورد مطالعه به دو گروه دارای قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی $\text{mg/dl} 100$ (۳۶ نفر) و قند خون ناشتای کمتر از $\text{mg/dl} 100$ (۴۴ نفر) تقسیم شدند. از تمامی افراد مورد مطالعه فرم رضایت نامه دریافت گردید. طرح تحقیقاتی توسط شورای اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی ارومیه مورد تأیید قرار گرفت. معیارهای خروج از مطالعه شامل: بارداری، سیگاری، مصرف هر گونه دارویی که روی متابولیسم گلوکز و یا چربی تأثیر گذارد، مصرف داروی پایین آورنده چربی و یا پایین آورنده قند خون، اختلال عملکرد کلیوی، نارسایی قلبی پیشرفته، سابقه بیماری

بیشتر یا مساوی 100 mg/dl و قند خون ناشتای کمتر از 100 mg/dl در بیماران MS اختلاف معنی داری یافت نشد ($P > 0.05$).

در جدول شماره ۲ فاکتورهای عملکرد اندوتلیال بین دو گروه قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl و قند خون ناشتای کمتر 100 mg/dl در بیماران مبتلا به سندرم متابولیک مشاهده می‌شود.

همان‌گونه که از جدول شماره ۱ مشخص است، وقتی ویژگی‌های دموگرافیک و شاخص‌های بیوشیمیایی در دو گروه قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl و قند خون ناشتای کمتر از 100 mg/dl در بیماران MS مقایسه می‌شود سن و تری گلیسرید اختلاف معنی داری دارند ($P < 0.05$). در این مقایسه فشار خون دیاستولیک، فشار خون سیستولیک، اندازه دور شکم، کلسترول، LDL-C ، HDL-C بین دو گروه قند خون ناشتای

جدول شماره (۲): مقایسه فاکتورهای عملکرد اندوتلیال بین دو گروه قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl و قند خون ناشتای کمتر 100 mg/dl در بیماران مبتلا به MS

P value	قند خون ناشتای کمتر از		متغیرها
	100 mg/dl	قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl	
۰/۱۶۶	216 ± 156	284 ± 244	اندوتلین-۱ (pg/ml)
۰/۵۶۰	377 ± 1549	3912 ± 169	ICAM-1 (ng/ml)
۰/۰۴۹	961 ± 441	1167 ± 481	E-سلکتین (ng/ml)
۰/۰۱۰	1965 ± 741	1585 ± 467	NO_2^- (uM)
۰/۰۳۹	2125 ± 1081	1696 ± 63	NO_3^- (uM)

چربی فاکتورهای (سیتوکین‌ها) آزاد می‌کند، که اثر نامطلوبی روی عملکرد اندوتلیال و انسولین دارد (۲۲).

در این مطالعه شواهد نشان می‌دهد که با افزایش سن اختلالات گلوکز افزایش پیدا می‌کند و E-سلکتین در قند خون بیشتر یا مساوی 100 mg/dl نسبت به قند خون کمتر از 100 mg/dl افزایش نشان می‌دهد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که ممکن است حضور اختلال تحمل گلوکز و سندرم متابولیک اندوتلیوم را فعال کرده و متعاقباً بیان E-سلکتین را افزایش دهد.

نیمه عمر نیتریک اکسید در خون خیلی کوتاه است (۲۳) زیرا به سرعت در حضور گونه‌های فعال اکسیژن به نیتريت و نیترات اکسیده می‌شوند (۲۴، ۲۵). همچنین انسولین یک تنظیم کننده کلیدی فعالیت نیتریک اکسید سنتاز است (۲۶، ۲۷) روی نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی اثر گذاشته باعث آزاد سازی نیتریک اکسید و اتساع عروق می‌شود (۳۰، ۳۱) در مراحل مقاومت به انسولین (در مرحله افزایش قند خون ناشتا) باعث تغییر متابولیسم نیتریک اکسید، اختلال عملکرد اندوتلیال و افزایش تولید اکسیداتیو استرس و رادیکال‌های سوپر اکسید می‌شود. (۳۱، ۳۲، ۲۸، ۲۹، ۳۱، ۳۲). همچنین ممکن است چاقی باعث افزایش مقاومت به انسولین و آسیب آزاد سازی نیتریک اکسید شود (۳۱). در این مطالعه بیماران MS دارای قند خون بیشتر یا مساوی 100 mg/dl مقدار نیتريت و نیترات کمتر از بیماران سندرم

همان‌گونه که از جدول شماره ۲ مشخص است مقادیر فاکتورهای عملکرد اندوتلیال اندوتلیال بین دو گروه قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl و قند خون ناشتای کمتر 100 mg/dl در بیماران مبتلا به MS متفاوت می‌باشد. مقدار E-سلکتین در بیماران MS دارای قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl از بیماران MS دارای قند خون ناشتای کمتر از 100 mg/dl به طور معنی داری بالاتر است ($P = 0.049$). همچنین مقدار NO_2^- و NO_3^- در بیماران MS دارای قند خون ناشتای کمتر از 100 mg/dl از بیماران MS دارای قند خون ناشتای بیشتر یا مساوی 100 mg/dl بالاتر است ($P < 0.05$). در صورتی که در مقدار اندوتلین-۱ و ICAM-1 بین دو گروه اختلاف معنی داری یافت نشد ($P > 0.05$).

بحث

یکی از وقایع اولیه در مراحل التهاب عروق، چسبندگی مونوسیت‌ها به اندوتلیوم است که این مرحله اصلی به وسیله واکنش بین مونوسیت‌ها و مولکول‌هایی روی سطح سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شوند صورت می‌گیرد (۱۵، ۱۶). مطالعات قبلی پیشنهاد کردند که شرایط پاتوفیزیولوژیک مثل سیتوکین‌ها (۲۱، ۲۰) افزایش قند خون یا مقاومت به انسولین ممکن است مسئول افزایش مولکول‌های چسبان باشد (۱۷-۱۹). احتمالاً بافت

آنتی‌اکسیدانی درونی این واکنش‌ها به حداقل می‌رساند و یک توازن بین نیتریک اکسید و رادیکال سوپر اکسید ایجاد می‌شود. این توازن به نظر می‌رسد که در بعضی از انواع بیماری‌ها تغییر می‌کند از این موارد افزایش سطح کلسترول خون و افزایش قند خون می‌باشد. که می‌تواند باعث ایجاد نیتریت و نیترات شود (۳۳).

نتیجه گیری کلی

اختلال تحمل گلوکز ناشتا در مرحله متابولیک سندرم ممکن است موجب افزایش فعالیت سلول‌های اندوتلیال و بیان بالای E-سلکتین شود. بنابراین شواهد نشان می‌دهد که E-سلکتین ممکن است یک مارکر مناسبی برای تعیین مقاومت به انسولین باشد. مقاومت به انسولین روی تولید نیتریک اکسید اثر گذاشته، باعث کاهش توانایی نیتریک اکسید و تولید نیتریت و نیترات می‌شود.

References:

1. Reaven GM. Banting lecture 1988: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-607.
2. Scott M, Grundy H, Bryan Brewer Jr, James I, Sidney C, Smith Jr. Definition of metabolic syndrome. *Circulation* 2004;109:433-8.
3. Sidiropoulos PI, Karvounaris SA, Boumpas DT. Metabolic syndrome in rheumatic diseases: epidemiology, pathophysiology, and clinical implications. *Arthritis Res Ther* 2008; 10:207.
4. Goff DC Jr, Zaccaro DJ, Haffner SM, Saad MF. Insulin sensitivity and the risk of incident hypertension: insights from the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes Care* 2003; 26: 805-9.
5. Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 1991; 34: 416-22.
6. Abbasi F, Brown BW, Lamendola C, McLaughlin T., Reaven GM. Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 40: 937-43.
7. Schmidt MI, Duncan BB, Sharrett AR, et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet* 1999; 353:1649-52.
8. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286:327-34.
9. Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002;51:1131-7.
10. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107:391-7.
11. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-dependent relaxing factor. *Nature* 1987;327: 524-6.

12. Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M, et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000;102:994-9.
13. Halcox JP, Schenke WH, Zalos G. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation* 2002;106:653-8.
14. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Bonadonna RC, et al. Metabolic syndrome: epidemiology and more extensive phenotypic description: cross-sectional data from the Bruneck Study. *Int J Obesity* 2003; 27: 1283-9.
15. Littlewood TD, Bennett MR. Apoptotic cell death in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14:469-75.
16. Piconi L, Quagliaro L, Da Ros R, Assaloni R, Giugliano D, Esposito K, Szabó C, Ceriello A. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1, E-selectin and interleukin-6 expression in human umbilical endothelial cells in culture: the role of poly(ADP-ribose) polymerase. *J Thromb Haemost* 2004.2:1453-9.
17. Morigi M, Angioletti S, Imberti B, Donadelli R, Micheletti G, Figliuzzi M, et al. Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF-kB-dependent fashion. *J Clin Invest* 1998; 101:1905-15.
18. Chen NG, Holmes M, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, soluble adhesion molecules, and mononuclear cell binding in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3485-9.
19. Matsumoto K, Miyake S, Yano M, Ueki Y, Tominaga Y. High serum concentrations of soluble e-selection in patients with impaired glucose tolerance with hyperinsulinemia. *Atherosclerosis* 2000;152:415-20.
20. Kwon KB, Kim EK, Lim JG, Shin BC, Song YS, Seo EA, et al. Sophorae radix extract inhibits high-glucose-induced vascular cell adhesion molecule-1 upregulation on endothelial cell line. *Clin Chim Acta* 2004;348:79-86.
21. Yanai H, Tomono Y, Ito K, Furutani N, Yoshida H, Tada N. The under lying mechanisms for development of hypertension in the metabolic syndrome. *Nutr J* 2008;7:10-21.
22. Targher G, Bonadonna RC, Alberiche M, Zenere M, Muggeo M, Bonora E. Relation between soluble adhesion molecules and insulin sensitivity in type 2 diabetic individuals role of adipose tissue. *Diabetes Care* 2001; 24:1961-6.
23. Vallance P, Patton S, Bhagat K, MacAllister R, Radomski M, Moncada S, et al. Direct measurement of nitric oxide in human beings. *Lancet* 1995;346:153-4.
24. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329: 2002-12.
25. Nathan C, Xie Q. Regulation of biosynthesis of NO. *J Biol Chem* 1994;269:13725-8.
26. Komers R, Pelikanova T, Kazdova L. Effect of hyperinsulinemia on renal function and nitrate/nitrite excretion in healthy subjects. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26:336-41.
27. Vincent MA, Montagnani M, Quon MJ. Molecular and physiologic actions of insulin related to production of nitric oxide in vascular endothelium. *Curr Diab Rep* 2003;3:279-88.
28. Avogaro A, Toffolo G, Kiwanuka E, De Kreutzenberg S, Tessari P, Cobelli C. L-Arginine-nitric oxide kinetics in normal and type 2 diabetic subjects: a stable-labelled ¹⁵N arginine approach. *Diabetes* 2003;52:795-802.
29. Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Med* 2003;33:1013-35.
30. Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD. Insulin-mediated skeletal muscle

- vasodilation is nitric oxide dependent: a novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest* 1994;94:1172-9.
31. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. *J Clin Invest* 1996; 97:2601-10.
32. Calles-Escandon J, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocrin Rev* 2001;22:36-52.
33. Bayraktutan U. Free radicals, diabetes and endothelial dysfunction. *Diabetes Obes Metab* 2002; 4:224-38.