

*Bogna Grygiel-Górniak*

## STRES OKSYDACYJNY JAKO CZYNNIK RYZYKA KARDIO-DIABETOLOGICZNEGO – FAKTY I MITY

Katedra i Zakład Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. *J. Przysławski*

Hasła kluczowe: stres oksydacyjny, ryzyko kardiodiabetologiczne, antyoksydanty.  
Key words: oxidative stress, cardiometabolic risk, antioxidants.

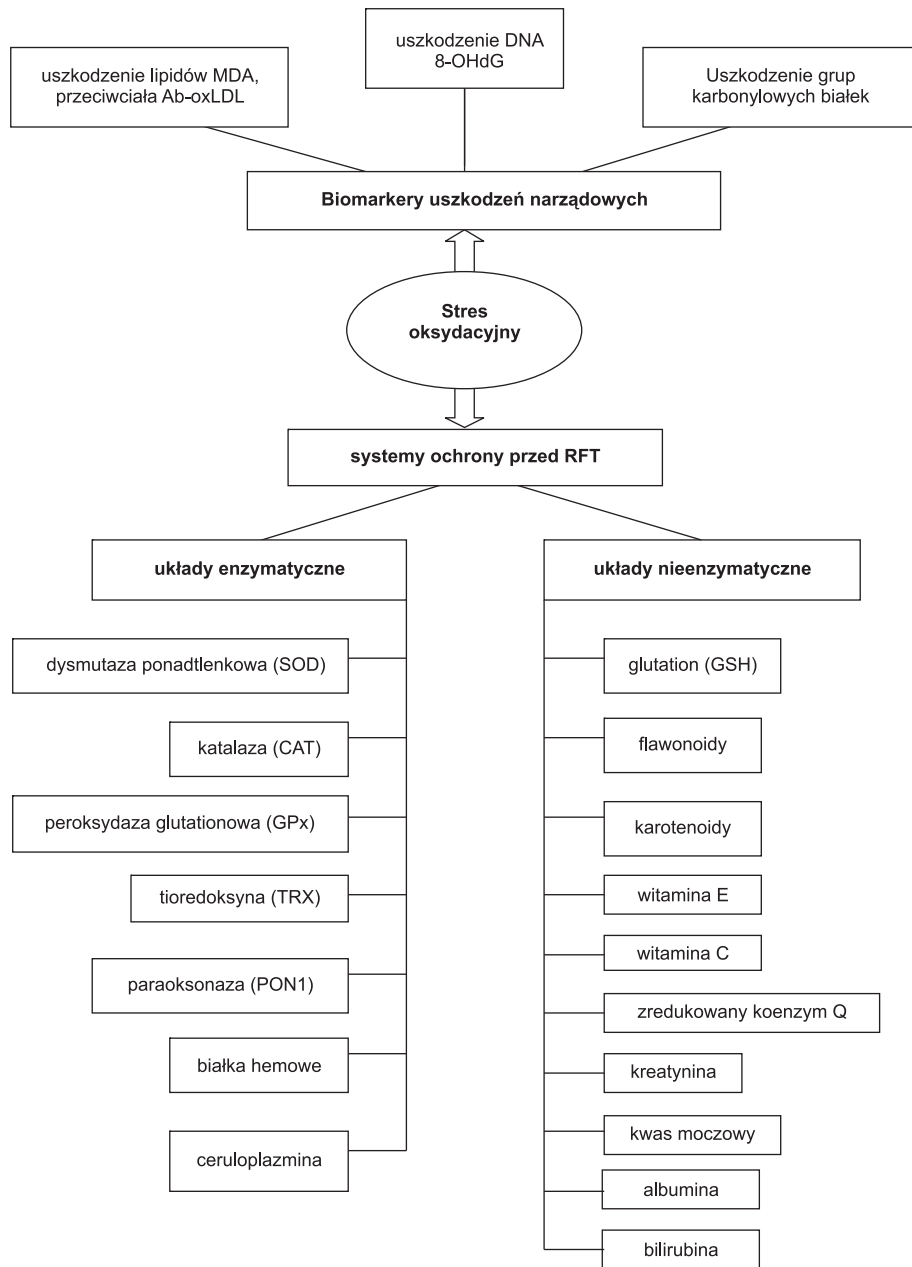
Stres oksydacyjny to procesy, w których obserwuje się wzmożone wytwarzanie reaktywnych form tlenu, przekraczające wydolność fizjologicznych układów antyoksydacyjnych. Powstają wówczas produkty pośrednie takie, jak anionorodnik ponadtlenowy lub nadtlenuk wodoru, które mogą prowadzić do tworzenia się zwiększonych ilości bardziej reaktywnych rodników. Zmieniona w ten sposób równowaga oksydacyjno-redukcyjna w kierunku niekorzystnych procesów peroksydacji lipidów i białek prowadzi do uszkodzeń strukturalnych komórek przez powstałe reaktywne formy tlenu (RFT) (1). Konsekwencją tego są zaburzenia funkcji komórek oraz rozwój wielu jednostek chorobowych takich, jak cukrzyca, miażdżyca, choroby demielinizacyjne i degeneracyjne (choroba *Alzheimera*, *Parkinsona*), choroby zapalne i autoimmunologiczne oraz niektóre nowotwory (2). Zatem, procesy stresu oksydacyjnego są wspólnym ogniwem wielu jednostek chorobowych. Potwierdzeniem tej tezy jest identyczny patomechanizm związany z tworzeniem się wolnych rodników występujący w cukrzycy i chorobie *Alzheimera*. W chorobach tych wewnątrzkomórkowe procesy stresu oksydacyjnego prowadzą do zaburzeń w syntezie reaktywnych form tlenu i azotu oraz komórkowych mechanizmów obrony antyoksydacyjnej. Konsekwencją jest powstający nadmiar reaktywnych rodników, który prowadzi nie tylko do uszkodzeń białek, ale również kwasów nukleinowych. Nasilające się wówczas procesy glikozylacji i peroksydacji lipidów są przyczyną kumulacji końcowych produktów glikacji, które są identyczne w obydwu omawianych jednostkach chorobowych i mogą być markerami ich progresji (3). Warto podkreślić, że tworzące się reaktywne formy tlenu są również nieodłącznym stanem towarzyszącym procesom starzenia (2).

W ciągu ostatnich lat pojawia się coraz więcej doniesień dotyczących znaczenia stresu oksydacyjnego w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych i cukrzycy, których szlaki patofizjologiczne wzajemnie się zająwiają, a związane z nimi ryzyko określa się wspólnym mianem kardiodiabetologicznym. Definiuje ono zagrożenie powikłaniami zarówno kardiologicznymi, jak i diabetologicznymi podczas przedłużającej się lub gwałtownie narastającej hiperglikemii. Wielokrotnie wykazano, że wystąpienie cukrzycy automatycznie zwiększa zachorowalność i śmiertelność z powodu chorób serca i naczyń (4).

Jak już wspomniano cukrzyca jest chorobą, w której szczególnie istotne znaczenie ma stres oksydacyjny, a jego nasilenie jest związane z aktywacją różnych szlaków oksydacyjnych. W przewlekłej hiperglikemii dochodzi do autooksydacji glukozy, aktywacji przemian szlaku polioliowego i sorbitolu, stymulacji granulocytów obojętnochłonnych oraz nieenzymatycznej glikacji. Wszystkie te procesy prowadzą do powstania reaktywnych form tlenu. W źle wyrównanej cukrzycy obserwuje się przede wszystkim nasilenie procesów nieenzymatycznej glikacji z powstaniem końcowych produktów glikacji białek – AGEs (ang. advanced glycation end products) (5). Uruchomiona w ten sposób oksydacja i peroksydacja lipidów, kwasów nukleinowych, niektórych enzymów i białek prowadzi do zaburzeń strukturalnych, a w konsekwencji zmian funkcji wielu komórek organizmu (6, 7). Zachodzące jednocześnie niekontrolowane i utrzymujące się procesy oksydacyjne w obrębie endothelium są przyczyną powikłań naczyniowych o charakterze mikro- i makroangiopatii (8). Wolne rodniki, które nie zostały ostatecznie usunięte prowadzą do uszkodzenia komórki oraz do apoptozy – czyli programowanej jej śmierci. W następstwie eskalacji tych procesów może dojść nawet do obumarcia komórek endotelialnych (9).

Najważniejszym mechanizmem występującym w cukrzycy, który prowadzi do zwiększonej syntezy reaktywnych form tlenu w komórkach śródbłonna jest podwyższone stężenie glukozy. Niemniej jednak przedłużająca się hiperglikemia nie zawsze prowadzi do uszkodzeń endothelium. Okazuje się, że krótkie okresy hiperglikemii są zdecydowanie niebezpieczniejsze, ponieważ chwilowy postprandialny wzrost glukozy jest czynnikiem, który zdecydowanie szybciej prowadzi do eskalacji procesów wolnorodnikowych w komórkach naczyń. Badania ostatniego pięciolecia potwierdzają tę hipotezę. Okazuje się, że nagłe zmiany stężenia glukozy występujące niezależnie od przewlekłej hiperglikemii mogą wyzwać stres oksydacyjny w cukrzycy typu 2. Fakt ten tłumaczy konieczność podjęcia intensywnych działań terapeutycznych przede wszystkim podczas nagłych wysokich wzrostów stężenia glukozy, a nie tylko podczas przewlekłej hiperglikemii. W oparciu o powyższe fakty w aktualnych zaleceniach klinicznych oprócz dążenia do prawidłowych wartości hemoglobiny glikowanej (HbA1c) oraz średniego stężenia glukozy, podkreśla się głównie potrzebę zapobiegania nagłym wzrostom glukozy (10).

W warunkach fizjologicznych obserwuje się niewielką syntezę wolnych rodników, które są natychmiast usuwane przez endogenne systemy antyoksydacyjne obejmujący zarówno formy enzymatyczne, jak i nieenzymatyczne (ryc. 1). Do tych pierwszych należą dysmutaza ponadtlenukowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx) i reduktaza glutationowa (11). Enzymy te współdziałają ze sobą i dlatego inaktywacja któregośkolwiek z nich powoduje osłabienie obrony antyoksydacyjnej organizmu (12). Szeroki wachlarz endogennych antyoksydantów występuje w błonie erytrocytów. Służy on do eliminacji reaktywnych form tlenu powstających podczas gwałtownych wzrostów glukozy. Obserwuje się wówczas zmniejszone stężenie zredukowanego glutationu i/lub zwiększone stężenie malondialdehydu w błonie komórkowej czerwonych krwinek. Stan ten prowadzi do progresji zmian cukrzycowych oraz ich kardiologicznych następstw zwiększając ryzyko wystąpienia miażdżycy oraz chorób naczyń wieńcowych. Wiele badań oceniających wpływ stresu oksydacyjnego na zmiany w błonie komórkowej erytrocytów wykazało systematycznie wzrastające stężenie malondialdehydu oraz malejące stężenie glutationu



Ab-oxLDL – przeciwciała przeciw utlenionym lipoproteidom o małej gęstości; MDA – malonyldwualdehyd; 8-OHdG – 8-hydrokso-2'-deoksyguanozyna.

Ryc. 1. Procesy stresu oksydacyjnego – biomarkery uszkodzeń narządowych oraz endogenny system ochronny.

Fig. 1. Oxidative stress processes – organ injury biomarkers and endogenic protective system.

w miarę postępu choroby. Co więcej, powikłania sercowo-naczyniowe w cukrzycy obserwowane są już w stanie przedcukrzycowym. Obecne programy skriningowe opierające się o występowanie minimum dwóch czynników ryzyka nie spełniają swojego zadania, ponieważ nie wykrywają wczesnych zmian naczyniowych występujących w cukrzycy i dlatego uniemożliwiają szybką interwencję kliniczną. Skrining oparty na ocenie parametrów stresu oksydacyjnego może być dodatkowym markerem powikłań kardiodiabetologicznych mającym swoje zastosowanie zarówno w przedklinicznym ujawnieniu się chorób sercowo-naczyniowych, jak i w czasie leczenia pełno-objawowych zaburzeń (4).

Cukrzyca bardzo często rozwija się na podłożu występującej otyłości. U osób charakteryzujących się wysokimi wartościami wskaźnika BMI, zwłaszcza z brzusz-  
nym rozmieszczeniem tkanki tłuszczowej obserwuje się dużą aktywność metaboliczną adipocytów, a powstające wolne kwasy tłuszczowe są doskonałym substratem w procesach lipooksygenacji. Stan ten stymuluje syntezę reaktywnych form tlenu oraz degenerację mitochondrialnego DNA. Jednocześnie należy podkreślić, że sama tkanka tłuszczowa sprzyja insulinooporności oraz zmniejszeniu aktywności oksydacyjnej mitochondriów i zaburzeniom procesów mitochondrialnej fosforylacji (1, 13). Właściwe wyrównanie metaboliczne hiperglikemii prowadzi do zmniejszenia procesów stresu oksydacyjnego. Udowodniono, że podanie insuliny lub insulinopodobnego czynnika wzrostowego w stężeniu, które nawet jeśli nie wyrównuje całkowicie wysokich wartości glukozy, to prowadzi do zmniejszenia procesów oksydacji oraz zachowania prawidłowego potencjału błony komórkowej mitochondriów (1, 8).

Jak już wspomniano jednym ze związków biorących udział w obronie antyoksydacyjnej jest leżący wewnątrzkomórkowo glutation (14). Ten rozpuszczalny w wodzie tripeptyd zawiera cysteinę i może występować w formie zredukowanej (GSH) lub utlenionej (GSSG). Obecność GSH w komórce konieczna jest do utrzymania równowagi oksydo-redukcyjnej i przeciwdziałania efektom stresu oksydacyjnego. Układ przeciwutleniający związany z glutationem powoduje redukcję nadtlenu wodoru kosztem NADPH. W skład tego układu wchodzi peroksydaza i reduktaza glutationowa. Podczas redukcji endogennie syntetyzowanego nadtlenu wodoru przez zredukowany glutation powstaje disulfid glutationu (GSSG), a reakcja ta jest katalizowana przez peroksydazę glutationową. Nasilone procesy stresu oksydacyjnego mogą zmniejszać zdolność komórki do redukcji GSSG do GSH, czego konsekwencją jest gromadzenie się w cytozolu GSSG z jednoczesnym zmniejszeniem stężenia wewnątrzkomórkowego GSH (15). Istnieją również odmienne doniesienia wskazujące na zwiększoną syntezę zredukowanego glutationu podczas powstawania wolnych rodników w organizmie, co może być wynikiem zmian adaptacyjnych (16).

Wykazano, że w cukrzycy hiperglikemia prowadzi do obniżenia zredukowanego glutationu indukując w ten sposób stres oksydacyjny w czerwonych krwinkach krwi (EOS – erythrocyte oxidative stress). Zmiany te są przyczyną uszkodzeń naczyniowych i są związane ze zwiększonym ryzykiem zakrzepowo-zatorowym mierzonym za pomocą stężenia *D*-dimerów. Liczne badania oceniające aktywność *D*-dimerów w cukrzycy stały się przedmiotem wielu analiz oraz próbą wyjaśnienia znaczenia zwiększonego ryzyka prozakrzepowego w cukrzycy. W badaniach *Nwo-se* i współpr. podjęli próbę oszacowania korelacji pomiędzy stężeniem *D*-dimerów,

a obecnością zredukowanego glutationu u osób z cukrzycą podczas progresji tej choroby. W badaniach tych wykazano, że GSH wykazuje związek z aktywnością *D*-dimerów. Niewielki wzrost GSH (w zakresie drugiego kwartyla – Q25) wiązał się z negatywną korelacją ze stężeniem *D*-dimerów, natomiast duży wzrost GSH (Q75) wykazywał dodatnią korelację z tym parametrem. Powyższe zależności można wyjaśnić odmiennością procesów oksydacyjnych zależnych od przebiegu choroby. Początkowo obserwuje się zmniejszone stężenia *D*-dimerów oraz niewielką aktywność oksydacyjną mierzoną za pomocą GSH w erytrocytach. Narastającym wraz z czasem trwania choroby procesom oksydacyjnym towarzyszy wzrost stężenia markerów prozakrzepowych. Istnieje zatem wyraźna zależność pomiędzy parametrami stresu oksydacyjnego, a procesami fibrylizacji w przypadku cukrzycy, a opisane zmiany wiążą się ze wspólną patofizjologią cukrzycy i chorób sercowo-naczyniowych (8, 17).

Niskie stężenia zredukowanego glutationu w erytrocytach wykazano nie tylko u pacjentów z cukrzycą, ale również w stanie przedcukrzycowym definiowanym jako stężenie glukozy pomiędzy 5,6 mmol/dm<sup>3</sup> a 6,9 mmol/dm<sup>3</sup>. Na podstawie tych badań można wnioskować, że pierwsze zaburzenia równowagi oksydacyjno-redukcyjnej pojawiają się znacznie wcześniej i mają wpływ na dalszy przebieg choroby oraz rozwój jej powikłań. Ocena zredukowanego glutationu może być zatem markerem stanu przedcukrzycowego, skłaniającego do intensywnej diagnostyki oraz leczenia (17).

Warto zaznaczyć również, że na aktywność antyoksydacyjną w przypadku chorób sercowo-naczyniowych w cukrzycy wpływają nie tylko układy antyoksydacyjne, ale również stosowane leki. Należą do nich związki działające na układ RAA – renina – angiotensyna – aldosteron np. inhibitory konwertazy angiotensyny czy inhibitory receptora angiotensynowego np. karwedilol. Udowodniono, że zefenoprilat zmniejsza wytwarzanie O<sub>2</sub><sup>•</sup> oraz ilość wolnych rodników tlenowych (18). Drugą dużą grupą leków o działaniu antyoksydacyjnym są statyny (inhibitory reduktazy HMG-CoA), których działanie plejotropowe jest szeroko opisywane w literaturze. Simwastatyna zmniejsza wytwarzanie reaktywnych form tlenu w przypadku współistniejącego nadciśnienia indukowanego przez zwiększoną aktywność angiotensyny II, co zapobiega rozwojowi tej choroby oraz chroni przed przerostem mięśni gładkich naczyń krwionośnych (19). Z kolei lek moczopędny jakim jest spironolakton zmniejsza aktywność NAD(P)H oksydazy i tym samym ogranicza wytwarzanie O<sub>2</sub><sup>•</sup> (20).

Nie sposób w tym momencie nie wspomnieć o powszechnie stosowanym w leczeniu chorób serca kwasie acetylosalicylowym, którego aktywność korzystnie wpływa na parametry stresu oksydacyjnego. Witamina C chroni przed oksydacją LDL i w ten sposób może zmniejszać ryzyko wystąpienia miażdżycy. Jej efekt wynika z usuwania wolnych rodników oraz innych reaktywnych form tlenu w środowisku wodnym (21). Badania *in vitro* wykazały, że stężenie fizjologiczne kwasu askorbinowego silnie hamuje oksydację LDL w komórkach śródbłonna (22). Z kolei w badaniach *in vivo* witamina ta zapobiegała inicjacji zmian miażdżycowych przez oksydowane LDL, a mianowicie hamowała przyleganie leukocytów do komórek śródbłonna (23). Na uwagę zasługują również badania amerykańskie The Women's Antioxidant Cardiovascular Study, które oceniały wpływ kwasu askorbinowego

(500 mg/d), witaminy E (600 IU na dzień) oraz *beta* karotenu (50 mg na dzień) na wystąpienie zawału serca, udaru mózgu, rewaskularyzację naczyń wieńcowych oraz na wystąpienie zgonu z powodu chorób sercowo-naczyniowych. W badaniu tym uczestniczyło 8171 kobiet w wieku  $\geq 40$  lat, które miały obciążony wywiad w kierunku chorób sercowo-naczyniowych lub występowały u nich minimum 3 czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego. Średni czas obserwacji wynosił 9,4 lat (od 1995–1996 do 2005). W omawianym badaniu jednak nie wykazano istotnego wpływu kwasu askorbinowego, witaminy E oraz *beta*-karotenu na wystąpienie zdarzeń sercowo-naczyniowych w grupie kobiet odznaczających się dużym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowym (24).

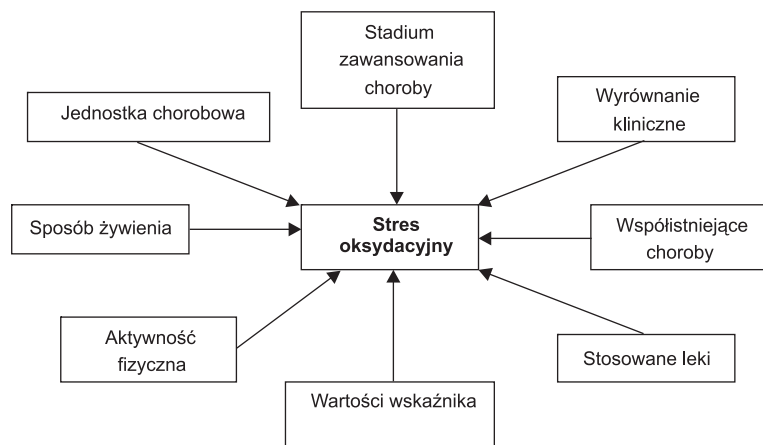
Istnieją liczne doniesienia opisujące związek pomiędzy podażą kwasu askorbinowego w diecie lub w postaci suplementów, a rozwojem chorób sercowo-naczyniowych (chsn). Wynika to najczęściej z ochronnej roli witaminy C, która zabezpiecza przed oksydacją LDL zarówno w procesach z udziałem, jak i bez udziału jonów metali (25). Badania brytyjskie udowodniły, że ryzyko udaru u osób pobierających większe dawki witaminy C było dwukrotnie niższe w porównaniu do osób o niższym spożyciu tej witaminy, natomiast nie wykazało wpływu na zachorowalność w przypadku chorób sercowo-naczyniowych (26). Metaanaliza przeprowadzona przez *Ness* i współpr. również nie ujawniła prewencyjnego wpływu na chsn podczas pobierania kwasu askorbinowego oraz innych witamin antyoksydacyjnych (27). Nie ma zatem jednoznacznych dowodów dotyczących celowości stosowania witamin antyoksydacyjnych w chorobach sercowo-naczyniowych.

Innym antyoksydantem opóźniającym wystąpienie chorób serca jest witamina E (5). Jej korzystny wpływ wynika z ograniczenia oksydacji LDL (28). Dodatkowo zapobiega tworzeniu się zmian zakrzepowych w łożysku naczyniowym, które prowadzą do niedokrwienia mięśnia sercowego. Udowodniono zmniejszoną częstość występowania chorób układu krążenia wraz ze zwiększonym spożyciem tokoferolu. Badania *Stampfer* i współpr. obejmujące dużą grupę ok. 90 000 kobiet wykazały, że ryzyko wystąpienia chorób serca zmniejszyło się o 30% do 40% w przypadku kobiet, które spożywały więcej witaminy E z dietą lub dostarczały ją z suplementacją. Jednak ten korzystny wpływ częściej był związany z pobieraniem suplementów, aniżeli samą dietą. Trzeba zaznaczyć, że zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego w tym badaniu nie było statystycznie istotne (29). Korzystne działanie witaminy E potwierdziły również badania fińskie obejmując grupę 5 133 kobiet i mężczyzn w wieku 30–69 lat, które wykazały, że zwiększone spożycie witaminy E w całodziennych racjach pokarmowych było związane ze zmniejszoną umieralnością z powodu chorób serca (30).

Pomimo wstępnych optymistycznych doniesień powstały wątpliwości dotyczące skuteczności witaminy E w zapobieganiu chorobom sercowo-naczyniowym. Przyczyniły się one do podjęcia kolejnych badań mających na celu rzetelną ocenę znaczenia witaminy E. Jednym z nich było kliniczne badanie randomizowane HOPE (The Heart Outcomes Prevention Evaluation), w którym objęto obserwacją prawie 10 000 osób z dużym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych (31). W badaniu tym osoby otrzymujące 265 mg (400 UI) witaminy E dziennie nie wykazały statystycznie mniejszej liczby zdarzeń sercowo-naczyniowych lub hospitalizacji spowodowanych niewydolnością krążenia lub bólem w klatce piersiowej w porównaniu do grupy

otrzymującej placebo. Na podstawie tych badań prewencyjny wpływ witaminy E w stosunku do chorób sercowo-naczyniowych był mało prawdopodobny.

Podobne mało optymistyczne dane uzyskano podczas badania WAVE (the Women's Angiographic Vitamin and Estrogen) obejmującego 423 kobiet po menopauzie z chorobami serca. Badanie to było prowadzone przez NHLBI (the National Heart, Lung, and Blood Institute) i miało na celu ocenę częstości występowania chorób sercowo-naczyniowych podczas suplementacji 400 IU witaminą E oraz 500 mg witaminą C wraz z hormonalną terapią zastępczą lub bez terapii. Suplementacja nie wykazała korzystnego wpływu na zmniejszoną częstość zawału serca oraz zmniejszoną śmiertelność z tego powodu. Nie wykazano również zahamowania progresji zmian w naczyniach wieńcowych. Niestety suplementacja witaminami E i C oraz hormonalna terapia zastępcza nie przyniosły korzystnych efektów sercowo-naczyniowych (32). Dodatkowo warto pamiętać, że duże dawki witaminy E ze względu na właściwości antykoagulacyjne mogą zwiększać ryzyko krwawienia. Według amerykańskich wytycznych (the Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine) najwyższe bezpieczne wartości witaminy E wynoszą 1000 mg (1500 UI) na dzień (33).



Ryc. 2. Czynniki wpływające na parametry stresu oksydacyjnego.

Fig. 2. Factors influencing oxidative stress parameters.

Antyoksydanty oraz inhibitory końcowych produktów glikacji syntetyzowane endogennie lub dostarczane egzogennie mogą przeciwdziałać niekorzystnym reakcjom indukowanym przez reaktywne formy tlenu lub azotu i dzięki temu opóźniać ujawnienie się lub zapobiegać dalszemu rozwojowi wielu jednostek chorobowych (2, 3, 9, 12). Jednak ze względu na sprzeczne dane, jak również brak wytycznych dotyczących stosowania w różnych stadiach chorób nie są one rutynowo stosowane w praktyce klinicznej (25, 26, 27, 31, 32, 33). Nie zmienia to faktu, że prawidłowo zbilansowana dieta wzbogacona o witaminę C i E, *beta*-karoten, ubiquinon, glutation, taurynę, flawonoidy, likopen i fitoestrogeny korzystnie wpływa na cały proces terapeutyczny takich chorób, jak cukrzyca i choroby sercowo-naczyniowe.

Podsumowując należy zaznaczyć, że ocenę parametrów oksydacyjnych w przypadku cukrzycy należy prowadzić w oparciu nie tylko o bieżący stan kliniczny, ale również przebieg choroby, czas jej trwania, współistniejące choroby oraz pobierane leki. Każdy z tych czynników zmienia równowagę oksydacyjno-redukcyjną ustroju (ryc. 2). Wiele często rozbieżnych wyników badań klinicznych może wynikać z różnego zaawansowania choroby, odmiennych uwarunkowań genetycznych, a także złożonego charakteru procesów oksydacyjno-redukcyjnych. Fakt ten przemawia za potrzebą kontynuowania badań w tym zakresie.

B. Grygiel-Gomiak

OXYTOATIVE STRESS AS A CARDIO-DIABETOLOGIC RISK FACTOR - FACTS AND MYTHS

### PIŚMIENNICTWO

1. *Maiese K., Chong Z.Z., Shang Y.C.*: Mechanistic insights into diabetes mellitus and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, 2007; 14: 1689-1699. – 2. *Bartosz G.*: Druga twarz tlenu. PWN, Warszawa, 2004; 226-242. – 3. *Reddy V.P., Zhu X., Perry G., Smith M.A.*: Oxidative stress in diabetes and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 2009; 16(4): 763-774. – 4. *Nwose E.U., Jelinek H.F., Richards R.S., Kerr P.G.*: Erythrocyte oxidative stress in clinical management of diabetes and its cardiovascular complications. *Br. J. Biomed. Sci.*, 2007; 64(1): 35-43. – 5. *Singh R., Barden A., Mori T., Beilin L.*: *Advanced glycation end-products: a review.* *Diabetologia.* 2002; 44: 129-146. – 6. *Ceriello A., Hanefeld M., Leiter L., Monnier L., Moses A., Owens D., Tajima N., Tuomilehto J.D.*: International Prandial Glucose Regulation (PGR) Study Group. Postprandial glucose regulation and diabetic complications. *Arch. Intern. Med.*, 2004; 164: 2090-2095. – 7. *Evans J., Goldfine I., Maddux B., Grodsky G.M.*: Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.*, 2002; 23(5): 599-622. – 8. *Maiese K., Morhan S.D., Chong Z.Z.*: Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Curr. Neurovasc. Res.*, 2007; 4(1): 63-71. – 9. *Chong Z.Z., Li F., Maiese K.*: Oxidative stress in the brain: novel cellular targets that govern survival during neurodegenerative disease. *Prog. Neurobiol.*, 2005; 75(3): 207-246. – 10. *Monnier L., Mas E., Ginet C., Michel F., Villon L., Cristol J.P., Colette C.*: Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. *JAMA.*, 2006; 295: 1681-1687.

11. *Li F., Chong Z.Z., Maiese K.*: Cell life versus cell longevity: the mysteries surrounding the NAD(+) precursor nicotinamide. *Curr. Med. Chem.*, 2006; 13: 883-895. – 12. *Jakoby W.B., Ziegler D.M.*: The enzymes of detoxication. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 29715-29718. – 13. *Newsholme P., Haber E.P., Hirabara S.M., Rebelato E.L., Procopio J., Morgan D., Oliveira-Emilio H.C., Carpinelli A.R., Curi R.*: Diabetes associated cell stress and dysfunction: role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity. *J. Physiol.*, 2007; 583(Pt1): 9-24. – 14. *Pietarinen-Runiti P., Lakari E., Raivio K.O., Kinnula V.L.*: Expression of antioxidant enzymes in human inflammatory cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2000; 278: C118-C125. – 15. *Lu S.C.*: Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *FASEB J.*, 1999; 13: 1169-1183. – 16. *Taniguchi M., Yasutake A., Takedomi K., Inoue K.*: Effects of N-nitrosodimethylamine (NDMA) on the oxidative status of rat liver. *Arch. Toxicol.* 1999; 73: 141-146. – 17. *Nwose E.U., Jelinek H.F., Richards R.S., Kerr P.G.*: Changes in the erythrocyte glutathione concentration in the course of diabetes mellitus. *Redox Rep.*, 2006; 11: 99-104. – 18. *Cominacini L., Pasini A., Garbin U., Evangelista S., Crea A.E., Tagliacozzi D., Nava C., Davoli A., LoCascio V.*: Zofenopril inhibits the expression of adhesion molecules on endothelial cells by reducing reactive oxygen species. *Am. J. Hypertens.*, 2002; 15: 891-895. – 19. *Delbosc S., Cristol J.P., Descomps B., Mimran A., Jover B., Descomps B.*: Simvastatin prevents angiotensin II-induced cardiac alteration and oxidative stress. *Hypertension*, 2002; 40: 142-147. – 20. *Viridis A., Neves M.F., Amiri F., Viel E., Touyz R.M., Schiffrin E.L.*: Spironolactone improves angiotensin-induced vascular changes and oxidative stress. *Hypertension*, 2002; 40: 504-510.



21. *Frei B., England L., Ames B.N.*: Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 6377-6381. – 22. *Martin A., Frei B.*: Both intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 1583-1590. – 23. *Lehr H.A., Frei B., Olofsson A.M., Carew T.E., Arfors K.E.*: Protection from oxidized LDL induced leukocyte adhesion to microvascular and macrovascular endothelium in vivo by vitamin C but not by vitamin E. *Circulation*, 1995; 91: 1552-1532. – 24. *Cook N.R., Albert C.M., Gaziano J.M., Zaharris E., MacFadyen J., Danielson E., Buring J.E., Manson J.E.*: A Randomized Factorial Trial of Vitamins C and E and Beta Carotene in the Secondary Prevention of Cardiovascular Events in Women. *Arch. Intern. Med.* 2007; 167: 1610-1618. – 25. *Frei B.*: Vitamin C as an antiatherogen: mechanism of action. In *Vitamin C in Health and disease* (edited by: *Packer L, Fuchs J*). Marcel and Dekker Inc., New York 1997; 163-182. – 26. *Gale C.R., Martyn C.N., Winter P.D., Cooper C.*: Vitamin C and risk of death from stroke and coronary heart disease in cohort of elderly people. *Br. Med. J.*, 1995; 310: 1563-1566. – 27. *Ness A., Egger M., Davey-Smith G.*: Role of antioxidant vitamins in prevention of cardiovascular disease. *Br. Med. J.*, 1999; 319: 577-579. – 28. *Jialal I., Fuller C.J.*: Effect of vitamin E, vitamin C and beta-carotene on LDL oxidation and atherosclerosis. *Can. J. Cardiol.*, 1995; 11SupplG: 97G-103G. – 29. *Stampfer M.J., Hennekens C.H., Manson J.E., Colditz G.A., Rosner B., Willett W.C.*: Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N. Engl. J. Med.*, 1993; 328: 1444-1449. – 30. *Knekt P., Reunanen A., Jarvinen R., Seppanen R., Heliövaara M., Aromaa A.*: Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study. *Am. J. Epidemiol.*, 1994; 139: 1180-1189.
31. *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. Engl. J. Med.*, 2000; 342: 154-160. – 32. *Waters D.D., Alderman E.L., Hsia J., Howard B.V., Cobb F.R., Rogers W.J., Ouyang P., Thompson P., Tardif J.C., Higginson L., Bittner V., Steffes M., Gordon D.J., Proschan M., Younes N., Verter J.I.*: Effects of hormone replacement therapy and antioxidant vitamin supplements on coronary atherosclerosis in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *J. Am. Med. Assoc.*, 2002; 288: 2432-2440. – 33. Institute of Medicine, Food and Nutrition board. *Dietary Reference Intakes: Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. National Academy Press, Washington, DC, 2000. – 34. *Nwose E.U., Jelinek H.F., Richards R.S., Tinley P., Kerr P.G.*: Atherothrombosis and oxidative stress: the connection and correlation in diabetes. *Redox. Rep.*, 2009; 14: 55-60.

Adres: 60-354 Poznań, ul. Marcelińska 42.