

PEDF, TNF- α 及脂联素与 2 型糖尿病视网膜病变的临床研究

陈永生

作者单位: (276003) 中国山东省临沂市人民医院眼科
作者简介: 陈永生, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 医学检验 (分子生物学检测)。
通讯作者: 陈永生. sd_yongsheng@sohu.com
收稿日期: 2009-03-20 修回日期: 2009-08-26

Clinical research of relation of PEDF, TNF- α and adiponectin with type 2 diabetic retinopathy

Yong-Sheng Chen

Department of Ophthalmology, Linyi People's Hospital, Linyi 276003, Shandong Province, China

Correspondence to: Yong-Sheng Chen. Department of Ophthalmology, Linyi People's Hospital, Linyi 276003, Shandong Province, China. sd_yongsheng@sohu.com

Received: 2009-03-20 Accepted: 2009-08-26

Abstract

• AIM: To investigate the relation of pigment epithelium-derived factor (PEDF), tumor necrosis factor (TNF- α) and adiponectin with the pathogenesis of type 2 diabetic retinopathy (DR).

• METHODS: The study group consisted of 104 cases of type 2 diabetic patients. The diabetic patients group was divided into non-diabetic retinopathy (NDR) group (35 cases), non-proliferative diabetic retinopathy (NPDR) group (33 cases), and proliferative NDR group (36 cases). Other 40 normal persons were as controls. The levels of PEDF, TNF- α and adiponectin were detected using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

• RESULTS: The expression levels of PEDF, TNF- α and adiponectin in patients with type 2 diabetic retinopathy significantly reduced ($P < 0.01$), compared with the normal control group were significantly different ($P < 0.01$), and were positively correlated with the process of type 2 diabetic retinopathy.

• CONCLUSION: PEDF, an effective ocular angiogenesis inhibitor, plays an important role to maintain normal eye tissue transparent avascular status. TNF- α plays the media role of the mediated inflammatory response, adiponectin effects the promotion of ocular artery remodeling and neointimal growth. The simultaneous lower expression level of PEDF, TNF- α and adiponectin may reflect the mechanism of cell activation model with immune pathological in type 2 diabetic retinopathy, and

has a guiding significance to immune mechanisms and treatment of type 2 diabetic retinopathy patients.

• KEYWORDS: pigment epithelium-derived factor; tumor necrosis factor; adiponectin; cytokine; enzyme-linked immunosorbent assay; type 2 diabetic retinopathy

Chen YS. Clinical research of relation of PEDF, TNF- α and adiponectin with type 2 diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2009;9(9):1695-1698

摘要

目的: 探讨色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF- α) 及脂联素等细胞因子在 2 型糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 发病机制中的作用。

方法: 选择经诊断为 2 型糖尿病患者无视网膜病变组 35 例; 背景期 DR 组 33 例; 增殖期 DR 组 36 例。同时选择 40 例健康正常人做对照组。应用酶联免疫分析法对 PEDF, TNF- α 及脂联素进行检测。

结果: 2 型糖尿病视网膜病变患者的 PEDF, TNF- α 及脂联素表达显著下调 ($P < 0.01$), 较正常对照组有显著性差异 ($P < 0.01$), 且与病情的进程呈正相关。

结论: PEDF 是眼内有效的血管生成抑制剂, 对保持正常眼组织透明无血管的状态有重要作用, TNF- α 在介导炎症反应中起到了媒体作用, 而脂联素具有促进眼内动脉重塑和新生内膜的生长作用。三者同时表达降低, 可能提示在 2 型糖尿病视网膜病变患者免疫病理机制中的细胞活化模式, 对 2 型糖尿病视网膜病变患者的免疫机制和指导治疗有指导意义。

关键词: 色素上皮衍生因子; 肿瘤坏死因子; 及脂联素; 细胞因子; 酶联免疫分析; 2 型糖尿病视网膜病变

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2009.09.019

陈永生. PEDF, TNF- α 及脂联素与 2 型糖尿病视网膜病变的临床研究. *国际眼科杂志* 2009;9(9):1695-1698

0 引言

糖尿病视网膜病 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病最常见的微血管并发症之一, 是造成糖尿病患者失明的主要原因。其发生机制尚不完全清楚, 一般认为是由于视网膜微血管系统受损所致。近年来, 研究发现多种细胞因子参与了 2 型糖尿病及其并发症的发生发展。我们选用色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF- α) 及脂联素等细胞因子的浓度变化作为指标, 旨在探讨 2 型糖尿病合并视网膜病变患者脂联素的变化与微血管病变的关系及其在视网膜病变发病机制中的重要作用。

表1 各组脂联素、血糖等的结果比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	脂联素 (ng/mL)	FPG (mmol/L)	HbA1c (%)	INS (μ IU/mL)	TNF- α (pg/mL)
无视网膜病变组	31	14.35 \pm 6.02 ^b	7.78 \pm 1.67 ^b	7.64 \pm 0.41 ^b	7.85 \pm 3.26 ^b	51.4 \pm 6.5 ^b
背景期 DR 组	30	10.23 \pm 5.12 ^{a,b}	9.30 \pm 4.86 ^{a,b}	9.82 \pm 2.41 ^{a,b}	6.87 \pm 2.85 ^{a,b}	120.5 \pm 23.6 ^{a,b}
增殖期 DR 组	29	8.97 \pm 7.45 ^{a,b,c}	10.31 \pm 5.86 ^{a,b,c}	11.08 \pm 2.16 ^{a,b,c}	5.46 \pm 3.22 ^{a,b,c}	167.5 \pm 32.5 ^{a,b,c}
正常对照组	40	15.32 \pm 7.85	4.87 \pm 0.63	5.65 \pm 0.43	10.32 \pm 2.87	3.4 \pm 2.2

^a $P < 0.05$ vs 无视网膜病变组; ^c $P < 0.05$ vs 背景期 DR 组; ^b $P < 0.01$ vs 正常对照组

1 对象和方法

1.1 对象 2008-03-11 健康体检者为正常对照组,共 40 例,男 20 例,女 20 例,年龄(59.25 \pm 6.5)岁,无糖尿病、高血压及其他慢性病史。血糖、尿糖正常,双眼散瞳检查眼底正常。糖尿病组为同期本院内分泌科的 2 型糖尿病住院患者,符合 1998 年 WHO 诊断标准,共 104 例,男 56 例,女 48 例。DR 诊断按全国眼底病协作组制定的糖尿病视网膜病变诊断标准,根据直接眼底镜检查将患者分为 3 组:(1)无视网膜病变组(Non-DR, NDR)35 例,男 18 例,女 17 例,年龄(58.5 \pm 6.9)岁,病程 6mo ~ 5a。(2)背景期 DR 组(Background-DR, BDR)33 例,男 17 例,女 16 例,年龄(60.3 \pm 5.4)岁,病程 3 ~ 15a。(3)增殖期 DR 组(Proliferative-DR, PDR)36 例,男 20 例,女 16 例,年龄(65.6 \pm 5.8)岁,病程 5 ~ 20a。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 受试者禁食 8 ~ 12h 后,晨起抽取空腹肘正中静脉非抗凝血 5mL,一部分血直接送检测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、糖化血红蛋白(glycosylated HbA1, HbA1c)、胰岛素浓度(INS),一部分血放入常规试管离心,取血清置于-20 $^{\circ}$ C 冰箱保存,待测 PEDF, TNF- α 及脂联素浓度。

1.2.2 FPG 测定采用葡萄糖氧化酶法 HbA1c 采用免疫比浊试剂盒,取 0.5mL 于专用血常规管中,摇匀取 10 μ L,于 400mL 转化液中混匀于生化分析仪上随机检测,胰岛素测定采用放射免疫法(tradioimmunoassay, RIA)测定。

1.2.3 PEDF, TNF- α 及脂联素浓度测定 试剂盒均为美国 IND 公司提供,方法为酶联免疫吸附法(ELISA),仪器为美国德灵 BEP 2000 全自动酶标仪,严格按照试剂盒说明书的要求步骤进行操作。

统计学分析:计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 11.0 统计软件包,采用 t 检验及直线相关分析, $P < 0.05$ 有显著差异。

2 结果

2 型糖尿病组与正常对照组血清脂联素及 TNF- α 含量比较糖尿病组血清脂联素水平低于正常对照组($P < 0.01$, 表 1)。DM 各组组间比较随着 DM 病程的延长及视网膜受损程度与 PEDF 呈负相关($r = -0.428, P < 0.01$)。糖尿病患者的 PEDF 与 FBG 呈显著正相关($P < 0.01$)。糖尿病伴有并发症患者的色素上皮衍生因子(PEDF)明显低于正常对照组($P < 0.01$),提示糖尿病患者并发症的发生与 PEDF 有关(表 2)。

表2 各组血液及房水中 PEDF 的结果比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	血液 PEDF (ng/mL)	房水 PEDF (ng/mL)
无视网膜病变组	31	12.45 \pm 7.41 ^f	0.41 \pm 0.55 ^f
背景期 DR 组	30	11.47 \pm 5.78 ^{b,f}	0.37 \pm 0.42 ^{b,f}
增殖期 DR 组	29	9.25 \pm 3.96 ^{b,d,f}	0.29 \pm 0.19 ^{b,d,f}
正常对照组	40	15.32 \pm 3.56	0.52 \pm 0.47

^b $P < 0.01$ vs 无视网膜病变组; ^d $P < 0.01$ vs 背景期 DR 组; ^f $P < 0.01$ vs 正常对照组

3 讨论

糖尿病视网膜病是糖尿病最常见的微血管并发症之一,是造成糖尿病患者失明的主要原因,其发生机制尚不完全清楚。视网膜毛细血管由内皮细胞、基底膜、周细胞三部分组成,DR 的基本病理改变包括:(1)周细胞选择性的丢失;(2)基底膜增厚;(3)微血管瘤的形成;(4)内皮细胞增生;(5)新生血管形成^[1]。目前已发现脂肪细胞因子参与了 DR 的新生血管形成及细胞增殖等一系列病理改变,血糖的波动,特别是脂联素在 DR 的发生发展中有重要作用^[2]。PEDF 促进内皮细胞凋亡,Fas 是肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族成员,是一个跨膜受体,可与跨膜蛋白 Fas 配体(FasL)结合,激活 caspase 依赖的凋亡级联反应,导致细胞凋亡。Volpert 等^[3]研究表明, PEDF 在体内外通过 Fas/fasL 系统介导细胞凋亡,发挥抑制血管生成作用。PEDF 可上调内皮细胞的 FasL,同时血管生成的诱发因素使其重要的共同作用物 Fas/CD95 受体高表达,二者共同作用促进凋亡,因此 PEDF 可抑制病理性新生血管形成,而对正常血管无明显作用。Stellmach 等^[4]用末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)法测量 PEDF 对低血清环境中人内皮细胞凋亡率的影响。结果发现, PEDF 处理组较对照组凋亡的内皮细胞数高约 8 倍,且当 PEDF 加入量增加,凋亡细胞数随之增多,而正常细胞则无明显凋亡。体内实验结果与之相似,随着病情的加重 PEDF 含量明显降低,表明 PEDF 只作用于病理性新生血管形成的内皮细胞,阻止其对刺激血管形成上午缺血信号反应。DR 是一种慢性炎症反应,在糖尿病微血管并发症的发生、发展中有一定作用。一项关于 PEDF 与 DR 炎症反应关系的研究发现,内毒素导致葡萄膜炎的大鼠视网膜和血浆 PEDF 含量均显著下降,而在糖尿病模型和缺氧致视网膜病变大鼠玻璃体内注射 PEDF 可以明显降低血管通透性,同时 VEGF, TNF- α , 单核细胞趋化蛋白-1 等视网膜炎症因子水平下降。细胞培养时, PEDF 也与这些因子

呈反相变化^[5]。表明 PEDF 可能是眼部的内源性抗炎因子,其水平下降可能在 DR 引起血管通透性增加。DR 的发病机制目前认为与氧化应激有关,高糖环境下氧化应激反应增强,可能促进细胞凋亡,引起微血管损害和血-视网膜屏障的破坏。最近体外研究发现, PEDF 可抑制过氧化氢引起的视网膜色素上皮细胞凋亡,并呈剂量时间依赖关系。同时可刺激细胞外信号调节激酶磷酸化,起到保护细胞作用^[6]。此外, PEDF 可阻断高糖环境中血管外膜细胞内活性氧簇的增加,并防止高糖和过氧化氢所致的生长迟缓和细胞凋亡等细胞病变效应^[7]。PEDF 与 DR 氧化应激的关系只得进一步研究。

脂联素 (adiponectin) 是由脂肪组织分泌的一种特异性血浆蛋白。是 apM1 基因编码的产物^[2]。很多研究表明脂联素在代谢疾病和血管疾病中发挥重要的调节作用。脂联素具有抗炎和抗动脉粥样硬化的作用,脂联素抑制 TNF- α 刺激的单核细胞对培养的内皮细胞的黏附。脂联素也抑制氧化型 (低密度脂蛋白, LDLs) 的聚合及巨噬细胞对其的吞噬。研究发现,暴露于氧化修饰 LDLs 可使内皮细胞减少 41%, 使周细胞减少 25%^[8], 其中周细胞对内皮细胞起支持作用, 此外周细胞具有收缩功能, 可调节视网膜毛细血管局部的血流量和血管通透性, 通过接触抑制对内皮细胞的增殖起抑制作用^[1]。应用 α_2 生育酚、超氧化物歧化酶 (SOD) 可对处于氧化应激环境中的内皮细胞及周细胞起保护作用, 这提示氧化应激在 DR 的发病中起一定作用。脂联素影响小血管的生成。Ouchi 等^[8] 研究发现体外试验中脂联素可以作为化学诱导物刺激人静脉内皮细胞转化为具有毛细血管样结构的内皮细胞, 体内试验时则可以刺激血管生长。目前已有证据表明脂联素可以激活内皮细胞中一氧化氮合酶 (eNOS), 从而使一氧化氮 (NO) 生成增加。NO 为内皮舒血管物质: NO 诱导血管的舒张作用由 cGMP 介导, NO 可激活可溶性鸟苷酸环化酶 (sGc), 该酶催化三磷酸鸟苷 (GTP) 环化, 生成 cGMP, 通过活化蛋白激酶 C, 使肌球蛋白轻链脱磷酸化, 引起血管平滑肌松弛^[9]。NO 还可以影响微血管通透性, 以及抑制血小板凝聚、黏附等作用。NO 是调节微循环血流的重要因子^[10]。NO 产生减少, 其扩张血管、调节血压、抑制平滑肌细胞增殖、抗血小板凝聚、参与细胞信息传递和内分泌调节等作用减弱, 使 NO 对糖尿病视网膜微血管并发症的保护作用减弱^[11]。脂联素促进肌肉对脂肪酸的摄取及代谢, 降低肌肉、肝脏、循环血液中游离脂肪酸与甘油三酯的浓度。糖尿病患者血脂的升高, 将促进 DR 的发生发展, 尤其与 DR 的硬性渗出有直接关系^[12]。脂联素具有抗动脉粥样硬化及抗炎作用, 其通过直接与血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) BB 结合而抑制其介导的血管平滑肌细胞的增殖及迁移。Chen 等研究发现脂联素通过磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) 途径刺激血管内皮细胞释放 NO, 并且 AMPK 磷酸化 eNOS 参与此过程。动物体内研究方面, 脂联素基因敲除鼠用金属丝损伤动脉后, 出现明显的内膜增厚和血管平滑肌增殖, 将表达脂联素的腺病毒载体转染入体内而使其血浆脂联素达到正常水平后, 内膜的增厚和血管平滑肌的增殖明显改善^[13]。

Okamoto 等^[14] 将含全长的 apM1 cDNA 序列具有表达能力的脂联素腺病毒载体通过尾静脉注入 apoE/鼠 (鼠动脉粥样硬化模型) 体内, 2wk 后检测相关指标, 主动脉免疫组化显示实验组粥样斑块面积明显小于对照组, 提示脂联素能够延缓动脉粥样硬化病变进展, 进一步研究发现脂联素抑制 VCAM1, SRA, TNF α 及 CD36 mRNA 表达水平, 而上述炎症因子在动脉粥样硬化的发生发展中具有重要的作用。临床研究方面, 检测反应性充血过程中前臂血流量 (forearm blood flow, FBF) 是评价血管内皮功能的一种敏感且可靠的方法, 对于冠心病患者 FBF 峰值能够很好的预测心血管事件的危险性; 新近研究发现, FBF 峰值与肥胖的严重程度存在相关性, 如 FBF 峰值与肥胖指数 BMI 呈负相关, 而血浆脂联素水平与 FBF 峰值呈正相关^[15]; C 反应蛋白在心血管病变中是一个可靠的预报因子, 对冠心病患者进行的一次调查中发现, 不但血浆脂联素与 C 反应蛋白水平呈明显的负相关关系, 而且脂肪组织中的脂联素和 CRP 也呈负相关关系^[16]; 颈动脉内膜厚度 (intimamedia thickness, IMT) 与心血管疾病的患病率及心血管事件的危险度密切相关, Pilz 等^[17] 对 140 名青少年肥胖者研究发现血浆脂联素水平与颈动脉 IMT 呈明显地负相关关系 ($r = -0.34, P < 0.01$), 与高密度脂蛋白及血清载脂蛋白 A1 呈正相关。NO, ET1 及 MCP1 在动脉粥样硬化的起始阶段发挥重要的作用, TNF α 为一重要的炎症介质, 在糖尿病及其血管并发症患者中明显升高。我们观察了在体外 TNF α 对于血管内皮细胞的干预, 结果显示, 血管内皮细胞经 TNF α 刺激后, 其 NO 及 iNOS 表达增加, eNOS 表达降低, 说明增加的 NO 主要为 iNOS 产生的损伤性 NO, 同时 ET1 及 MCP1 的表达也明显增加, 进一步证实了 TNF α 对于血管内皮的损伤。经一定浓度的脂联素作用后, 血管内皮细胞 NO 分泌减少, 其中 iNOS 活性明显降低, eNOS 活性升高, 且 ET1 及 MCP1 表达亦降低, 但仍与对照组有差异, 说明脂联素可部分逆转 TNF α 对内皮的损伤。目前大多数研究认为血管内皮细胞 eNOS 的活性主要受 Ca^{2+} 和 PI3K 通路的调节, TNF α 和脂联素是否也通过上述途径尚需进一步研究。NF κ B 信号通路作为内皮细胞炎症反应的中心环节, TNF α 主要通过 NF κ B 信号通路来介导内皮细胞的炎症反应, 提示脂联素也可能作用于 NF κ B 信号通路来发挥抗动脉粥样硬化作用, 这有待于进一步研究。

糖尿病的长期高血糖促进机体各种蛋白质糖化, 形成晚期糖基化终末产物 (advanced glycosylation end products, AGEs) 有关, AGEs 与巨噬细胞表面特异性的受体结合后能诱导白细胞介素 (IL)-1、胰岛素样生长因子 I 和 TNF- α 等细胞因子生成增加。此外糖化蛋白及 AGEs 可作为抗原或半抗原成分, 引起免疫应答, 产生抗体并结合成免疫复合物, 从而刺激、活化单核-巨噬细胞引起 TNF- α 的分泌。且随着病变进展血清中 TNF- α 水平升高。TNF- α 在 DR 发生中的作用机制有以下几点: (1) 损伤血-视网膜屏障, 提高视网膜血管通透性^[18]; (2) TNF- α 可刺激巨噬细胞及其他细胞产生 IL-6, IL-8 等细胞因子, 增强视网膜局部炎症反应, 促进表皮生长因子 (EGF)、血小板源性生长因子 (PDGF) 等生成释放并协同其增殖作用, 刺激血管细

胞的增殖,最终导致眼内新生血管形成。(3)TNF- α 可诱导胰岛素抵抗,从而促进糖尿病及其并发症的发生、发展^[19]。

本实验结果表明,在糖尿病患者的血清中脂联素的水平低于正常对照组,且随着糖尿病视网膜病变的加重,脂联素值明显降低。糖尿病视网膜病变的发病原因尚不清楚,脂联素水平的下降加重炎症反应,周细胞和内皮细胞减少,引起了视网膜的血流动力学异常,破坏了毛细血管结构,促进微动脉瘤的形成,长期刺激导致新生血管生成,可能促进视网膜病变的发生,并加速其发展,其具体机制有待于进一步研究。

参考文献

- 1 隋国良,葛在香,董砚虎.糖尿病视网膜病变的发病机制及其防治研究进展.国外医学内科学分册 2000;27(3):119
- 2 Yilmaz MI, Sonmez A, Acikel C, et al. Adiponectin may play a part in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Eur J Endocrinol* 2004;151(1):135-140
- 3 Volpert OV, Zaichuk T, Zhou W, et al. Inducer-stimulated Fas targets activated endothelium for destruction by anti-angiogenic thrombospondin-1 and pigment epithelium-derived factor. *Net Med* 2002;8(4):349-357
- 4 Stellmach V, Crawford SE, Zhou W, et al. Prevention of ischemia-induced retinopathy by the natural ocular antiangiogenic agent pigment epithelium-derived factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(5):2593-2597
- 5 Zhang SX, Wang JJ, Gao G, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) is an endogenous antiinflammatory factor. *FASEB J* 2006;20(2):323-325
- 6 Tsao YP, Ho TC, Chen SL, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits oxidative stress-induced cell death by activation of extracellular signal-regulated kinases in cultured retinal pigment epithelial cells. *Life Sci* 2006;79(6):545-550
- 7 Amano S, Yamagishi S, Inagaki Y, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits oxidative stress-induced apoptosis and dysfunction of cultured retinal pericytes. *Microvasc Res* 2005;69(1-2):45-55
- 8 Ouchi N, Kobayashi H, Kihara S, et al. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells. *Biol Chem* 2004;27(2):1304-1309
- 9 吴其夏. 体液因素和血液循环病理生理学. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社 1991:135
- 10 Corbert JA, Sweetland MA, Wang JA, et al. Nitric oxide mediates cytokine induced inhibition of insulin by human islets of Langerhans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(4):1731-1735
- 11 刘学政, 萧鸿, 庞东渤, 等. 糖尿病早期大鼠视网膜毛细血管及视网膜超微结构变化规律. 解剖学杂志 2001;24(4):331
- 12 Chew EY, Llein ML, Ferris FL, et al. Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exdate in diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 1996;114(9):1079-1084
- 13 Matsuda M, Shimomura I, Sata M, et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipovascular axis. *J Biol Chem* 2002;277(40):37487-37491
- 14 Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein Edeficient mice. *Circulation* 2002;106(22):2767-2770
- 15 Shimabukuro M, Higa N, Asahi T, et al. Hypoadiponectinemia is closely linked to endothelial dysfunction in man. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(7):3236-3240
- 16 Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, et al. Reciprocal association of C reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107(5):671-674
- 17 Pilz S, Horejsi R, Moller R, et al. Early atherosclerosis in obese juveniles is associated with low serum levels of adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(8):4792-4796
- 18 Takashi Y, Tsugiyasu K, Yasutaka K, et al. Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications* 2001;15(5):257-259
- 19 Tremblay F, Lavigne C, Jacques H, et al. Defective insulin-induced GLUT4 translocation in skeletal muscle of high fat-fed rats is associated with alteration in both Akt/protein kinase B and atpocal protein kinase C activities. *Diabetes* 2001;50:1901