

2 型糖尿病视网膜病变与 visfatin 和 SAA 的相关性研究

陈永生

作者单位: (276003) 中国山东省临沂市人民医院检验科
作者简介: 陈永生, 硕士, 主任技师, 研究方向: 分子生物学。
通讯作者: 陈永生. sd_yongsheng@sohu. com
收稿日期: 2011-09-21 修回日期: 2011-12-01

Clinical investigation about the relationship between visfatin, SAA and type 2 diabetic retinopathy

Yong-Sheng Chen

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

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

Received: 2011-09-21 Accepted: 2011-12-01

Abstract

• **AIM:** To investigate the relationship between visfatin, human serum amyloid A (SAA) and tumor necrosis factor α (TNF- α) and pathogenesis of type 2 diabetic retinopathy (DR).

• **METHODS:** Patients with type 2 diabetes mellitus (DM) without DR group comprised 35 individuals. Type 2 DM with nonproliferative DR group included 33 patients and type 2 DM with proliferative DR group was composed of 36 patients. The control group consisted of 40 healthy persons. ELISA was used to detect the contents of visfatin, SAA and TNF- α .

• **RESULTS:** The expressions of visfatin, SAA and TNF- α of patients from the 3 patients groups were significantly higher than those from the control group ($P < 0.01$) and a significant difference existed between the patients groups and the control group ($P < 0.01$). There was a positive correlation between these factors and the severity of disease. And the 3 factors were also positively correlated with fasting plasma glucose (FPG) and glycosylated hemoglobin (HbA1c) while negatively correlated with insulin concentration.

• **CONCLUSION:** Visfatin level of serum from patients with type 2 DR could reflect the fundus vascular endothelial dysfunction and the disease course of arteriosclerosis, which suggests that content of serum visfatin may be closely related with the occurrence and development of ocular fundus arteriosclerosis. And SAA could activate the expression of tissue factor in endothelial cells and monocytes, therefore, the formation of thrombosis and the instability of plaque was accelerated. visfatin and SAA could promote secretion of TNF- α and

play the roles of medium in inducing inflammatory reaction. The abnormal expression of the three factors could accelerate the remodeling of internal ophthalmic artery and the growth effect of new intima and promote the disease evolution of type 2 DR.

• **KEYWORDS:** visfatin; human serum amyloid A; TNF- α ; ELISA; type 2 diabetic retinopathy

Chen YS. Clinical investigation about the relationship between visfatin, SAA and type 2 diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(1):39-42

摘要

目的:探讨内脏脂肪素(visfatin)、人血清淀粉样蛋白 A(SAA)和肿瘤坏死因子(TNF- α)在 2 型糖尿病视网膜病变(DR)发病机制中的相关性。

方法:选择 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(ELISA)对 DR 患者血液中 visfatin, SAA 和 TNF- α 进行检测。

结果:2 型 DR 患者的 visfatin, SAA 和 TNF- α 表达显著上调($P < 0.01$),较正常对照组有显著统计学差异($P < 0.01$),且与病情的进程呈正相关。视网膜受损程度与 visfatin, SAA, 空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)呈正相关,与胰岛素的浓度成负相关。

结论:DR 患者血浆 visfatin 水平升高,能反映患者眼底血管内皮功能紊乱情况和微动脉硬化严重程度,提示血浆 visfatin 水平可能与眼底动脉硬化的发生和发展密切相关;而 SAA 能刺激内皮细胞及单核细胞中组织因子的表达,促进血栓形成及斑块的不稳定;visfatin 和 SAA 都能促进 TNF- α 分泌并在介导炎症反应中起到媒介作用,三者的异常表达具有促进眼内动脉重塑和新生内膜的生长作用,促进了 2 型 DR 患者病变的进展。

关键词:内脏脂肪素;人血清淀粉样蛋白 A;肿瘤坏死因子;酶联免疫分析;2 型糖尿病视网膜病变

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2012. 01. 12

陈永生. 2 型糖尿病视网膜病变与 visfatin 和 SAA 的相关性研究. 国际眼科杂志 2012;12(1):39-42

0 引言

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病(DM)最常见的微血管并发症之一,是造成 DM 患者失明的主要原因,其发生机制一般认为是由于视网膜微血管系统受损所致。研究发现多种细胞因子参与 T2DM 并发症的发生发展。我们选择内脏脂肪素(visfatin)、人血清淀粉样蛋白 A(SAA)和肿瘤坏死因子(TNF- α)在血液中的浓度变化作为指标,探讨 2 型 DM 合并视网膜病变患者与微血管病变的关系及其在 DR 发病机制中的重要作用。

表1 各组血液中测定指标的比较

分组	n(例)	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	INS(mU/L)	TNF-α(ng/L)	visfatin(ng/L)	SAA(μg/L)
无视网膜病变组	31	7.78 ± 1.67 ^a	7.64 ± 0.41 ^a	7.85 ± 3.26 ^a	51.4 ± 6.5 ^a	56.32 ± 25.64 ^d	3.16 ± 0.55 ^d
背景期 DR 组	30	9.30 ± 4.86 ^c	9.82 ± 2.41 ^c	6.87 ± 2.85 ^c	120.5 ± 23.6 ^c	59.69 ± 19.58 ^f	3.78 ± 0.98 ^f
增殖期 DR 组	29	10.31 ± 5.86	11.08 ± 2.16	5.46 ± 3.22	167.5 ± 32.5	65.35 ± 20.74	4.59 ± 1.05
正常对照组	40	4.87 ± 0.63 ^b	5.65 ± 0.43 ^b	10.32 ± 2.87 ^b	3.4 ± 2.2 ^b	48.65 ± 16.89 ^b	2.49 ± 0.47 ^b

^a*P* < 0.05 vs 背景 DR 组, 增殖期 DR 组; ^b*P* < 0.01 vs 各 DR 组; ^c*P* < 0.05 vs 增殖期 DR 组; ^d*P* < 0.01 vs 背景 DR 组, 增殖期 DR 组; ^e*P* < 0.01 vs 增殖期 DR 组。

1 对象和方法

1.1 对象 选择 2011-03/11 健康体检者为正常对照组, 共 40 例, 其中男 20 例, 女 20 例, 年龄 59.25 ± 6.5 岁, 无 DM、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。DM 组为同期本院内分泌科的 2 型 DM 住院患者 104 例, 其中男 56 例, 女 48 例, 符合 1998 年 WHO 诊断标准。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, 其中男 18 例, 女 17 例, 年龄 58.5 ± 6.9 岁, 病程 6mo ~ 5a。(2) 背景期 DR 组 (background-DR, BDR) 33 例, 其中男 17 例, 女 16 例, 年龄 60.3 ± 5.4 岁, 病程 3 ~ 15a。(3) 增殖期 DR 组 (proliferative-DR, PDR) 36 例, 其中男 20 例, 女 16 例, 年龄 65.6 ± 5.8 岁, 病程 5 ~ 20a。

1.2 方法 受试者禁食 8 ~ 12h 后, 晨起抽取空腹静脉非抗凝血 5mL, 一部分用 EDTA-K₂ 抗凝直接用于检测糖化血红蛋白 (HbA1c), HbA1c 的测定采用免疫比浊法 (取 20μL EDTA-K₂ 抗凝全血加入到 2mL 溶血剂中, 充分混匀后静置 10min, 待溶液变为棕绿色后即可上生化分析仪检测)。另一部分放入常规试管待血液凝固后离心 (5000r/min, 5min), 取血清分为两份: 一份用于测定空腹血糖 (FPG) 和胰岛素 (INS) 浓度, FPG 测定采用葡萄糖氧化酶电极法 (生化分析仪检测), INS 测定采用放射免疫分析法 (RIA) 免疫分析仪测定; 另一份置于 -20℃ 冰箱保存, 用于检测 visfatin, SAA 和 TNF-α 的浓度, 三者浓度的测定采用酶联免疫吸附法 (ELISA), 试剂盒均为美国 IND 公司提供, 仪器为美国德灵 BEP2000 全自动酶标仪。

统计学分析: 使用 SPSS 11.0 统计软件, 计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 指标相关性采用 Spearman 等级相关分析。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

DR 组 FPG, HbA1c, TNF-α, visfatin 和 SAA 含量比较明显高于正常对照组 (*P* < 0.01), 而 INS 明显低于正常对照组 (*P* < 0.01, 表 1)。随着 DM 病程的延长, 视网膜受损程度与 FPG, HbA1c, visfatin, SAA 和 TNF-α 呈正相关 (*r* = 0.828, *P* < 0.01; *r* = 0.763, *P* < 0.01; *r* = 0.755, *P* < 0.01; *r* = 0.791, *P* < 0.01; *r* = 0.854, *P* < 0.01)。DR 患者与 INS 浓度呈显著负相关 (*r* = -0.782, *P* < 0.01)。

3 讨论

DR 是 DM 最常见的微血管并发症之一, 其基本病理改变包括: 周细胞选择性的丢失、基底膜增厚、微血管瘤的形成、内皮细胞增生和新生血管形成。目前已发现脂肪细胞因子参与 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 visfatin 和 SAA 在 DR 的发展中起重要作用。

Visfatin 是 2005 年发现的具有结合并激活胰岛素受体、模拟胰岛素作用的肽类激素, 其在内脏脂肪组织中高度表达。目前关于 visfatin 对微血管系统的作用越来越引人瞩目。Visfatin 能上调内皮细胞黏附分子的表达, 从而诱导内皮功能紊乱。Wang 等^[1] 提出 visfatin 能刺激血管平滑肌细胞的增殖, 促进微血管动脉粥样硬化 (AS) 的发生、发展。Visfatin 还具有促炎作用, 可上调 TNF-α, IL-8, IL-6 和单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 等炎症因子的表达, 而炎症反应因子 TNF-α 和 IL-1β 反过来又增加 visfatin 的表达, 如此形成一个正反馈, 使炎症反应激增, 加速 T2DM 患者 DR 的进程^[2]。Dahl 等^[2] 发现 visfatin 在急性心肌梗死患者斑块破裂点有强的免疫活性, 提示其与微小动脉斑块不稳定性相关。有学者报道冠心病患者心外膜脂肪组织中 visfatin 的分泌高于非冠心病者^[3]。Spiroglou 等^[4] 也证实冠状动脉旁脂肪组织中 visfatin 水平与冠状动脉粥样硬化呈强烈正相关。Visfatin 除在局部影响冠状动脉粥样硬化外, 其在血浆中的水平也与冠心病特别是冠状动脉综合征独立相关^[5]。Kostapanos 等^[6] 报道, 瑞舒伐他汀可降低血浆 visfatin 水平, 此作用独立于其调脂作用。由于 T2DM 患者大部分肥胖, 在降脂的同时, 提示应用他汀类药物可使 visfatin 水平较高的肥胖、T2DM 和代谢综合征等患者心血管疾病风险进一步降低。因此, visfatin 作为联系 T2DM 和 DR 病变的桥梁, 将成为 DR 新的预防标记和治疗靶点。

最近许多学者研究发现, T2DM 患者血浆中 visfatin 浓度较健康正常受试组显著升高^[7], 这与本实验研究结果一致, 提示 visfatin 可能在 T2DM 的并发症 DR 过程中发挥一定作用。Kralisch 等^[8] 采用不同的促胰岛素抵抗激素进行 visfatin 基因表达状况的研究, 发现 visfatin 与代谢综合征密切相关。Filippatos 等^[9] 研究发现, 代谢综合征患者组血浆 visfatin 水平明显高于健康正常受试组。血浆 visfatin 水平与年龄、甘油三酯和血糖水平呈正相关, 与 HDL-C 呈负相关, 多元逐步回归分析得到相同结果。本实验发现, 血浆 visfatin 水平与 FBG 和 HbA1c 呈明显正相关, 多元逐步回归分析表明, 代谢综合征构成成分的累积是血浆 visfatin 水平的惟一影响因素 (*r* = 0.410, *P* < 0.01)。说明空腹血浆 visfatin 水平与代谢综合征密切相关。visfatin 水平与 INS 呈明显的负相关。Fukuhara 等^[10] 研究发现, visfatin 可以降低血浆葡萄糖和 INS 的水平, 从而增加 INS 的敏感性。Chen 等^[7] 研究也发现 visfatin 水平与空腹 INS 和 HOMA-IR 呈正相关, 但 Berndt 等研究显示血浆 visfatin 的浓度与影响 INS 敏感性参数 (FPG 和空腹 INS)

无相关性^[11]。本实验结果表明,血浆 visfatin 浓度与 INS 抵抗指数无相关性。与非 DM 相比,T2DM 人群中 AS 疾病的患病率高,发病年龄较轻,病情进展较快,多脏器同时受累较多,是 T2DM 患者致死、致残的主要原因。本实验显示,代谢综合征构成成分的累积、CRP 和 visfatin 都是影响 T2DM 患者发生 AS 的因素,进一步揭示血浆 visfatin 水平是影响 T2DM 患者发生颈动脉粥样硬化的重要因素。

SAA 是一种急性时相反应蛋白,属于载脂蛋白家族中的异质类蛋白。在急性时相反应中,经 IL-1, IL-6 和 TNF 刺激,SAA 在肝脏中由被激活的巨噬细胞和纤维母细胞合成,可升高到最初浓度的 100 倍以上,但半衰期短,只有 50min 左右。SAA 与高密度脂蛋白(HDL)有关,它能在炎症期间调节 HDL 的代谢。SAA 一个特别重要的特性是其降解产物能以淀粉样蛋白 A(AA) 原纤维的方式沉积在不同的器官中,在慢性炎症疾病中是一种严重的并发症。正常人 SAA 浓度平均值为 2.33mg/L,SAA 浓度的测定对于肾移植急性排异反应的诊断比血清 Cr 更为敏感,在排除感染的情况下,SAA 的异常升高对肾移植急性排异反应具有很大的诊断价值。

SAA 致 AS 的相关机制是多方面的。目前研究较多的是通过参与并调节脂质转运的功能从而影响 AS 的发生。在小鼠和人类的动脉粥样斑块中均可发现有 SAA 的存在,同时动脉壁细胞可以产生 SAA,另外,SAA 作为一种新的载脂蛋白,能调节 HDL 的结构和功能。研究表明,SAA 能增加 AS 斑块的不稳定性,在 AS 的发生发展中,可能起着直接的作用。另外 T2DM 患者长期炎症反应已被证明是导致 AS 的标志,但是如今人们更加关注的是慢性低水平的特殊炎症蛋白,如 SAA 等。这些蛋白不仅是 AS 危险的标志,而且直接参与 AS 的形成。SAA 可促进低密度脂蛋白(LDL)的氧化,氧化修饰的 LDL 又可诱导内皮细胞黏附因子和 TNF- α 的产生,介导单核细胞-巨噬细胞与内膜结合,并促进血管平滑肌细胞的增殖,形成恶性循环,引起并加速 AS 的病变过程。在炎症反应、脂质转运和 AS 三者之间,SAA 似乎是相互沟通的桥梁。随着炎症因子是导致 AS 的危险因素之一的观点得到证实,SAA 在脑血管中的作用成为新的研究热点。

早在 1990 年代初期,Meek 等^[12]在颈 AS 病灶中的绝大多数内皮细胞、某些平滑肌细胞、巨噬细胞源性泡沫细胞、外膜巨噬细胞和脂肪细胞中发现了 SAA 的 mRNA,证实了 SAA 参与 AS 的发生。颈 AS 风险研究(ICARAS)连续观察了 1268 例患者^[13],并对其进行颈动脉超声检查,检测颈动脉血流速度,并按狭窄程度分类,随访中测定高敏 CRP(h-CRP)和 SAA 时发现,h-CRP 和 SAA 从基础状态到随访过程中,均与 AS 进展显著相关。快速进展的 AS 形态学特征与炎症反应之间存在密切的相关性,这表明炎症标志物 h-CRP 和 SAA 的增加可以鉴定活动型的存在。h-CRP 和 SAA 水平显著升高患者显著高于无 DR 患者,加上 T2DM 患者的病程因素,SAA 可作为 DR 患者诊断和治疗的一个独立的预测因素。Buyukhatipoglu 等^[14]的研究证明,在慢性反应性疾病中,血管病理学研究的 SAA 水平与颈动脉内膜-中层厚度呈相关性。Wilson 等^[15]研究发现,SAA 可以刺激血管平滑肌产生蛋白多糖硫酸盐,从而促进 AS 的发生。

TNF- α 是一种具有广泛生物学活性的细胞因子,极微量即可产生明显的生物学效应,而 TNF- α 分泌水平的变化与 DR 密切相关。TNF 的来源:(1)单核-巨噬细胞系统及淋巴细胞。TNF 是具有广泛生物活性的多肽细胞因子,包括 TNF- α 和 TNF- β 两种。前者主要由单核巨噬细胞系统产生的蛋白质细胞因子,是重要的免疫调节因子;后者则来源于 T 和 B 淋巴细胞及 NK 细胞,与免疫调节和免疫炎症有关。(2)小胶质细胞。作为中枢神经系统的一部分,神经视网膜是一种活跃的细胞集群,它的激活是神经系统防御、感染、炎症、创伤、缺血和神经变性病的关键因素。(3)视网膜周细胞。视网膜微血管周细胞的选择性丧失是 DM 微血管病变的最早期的病理改变之一。周细胞的死亡不仅破坏了毛细血管的完整性,还可以使内皮细胞的增生失去控制。早期 DR 周细胞选择性丧失,血管直径和通透性增加,由于周细胞含有与血管平滑肌细胞相似的收缩成分,故周细胞对血管活性调节因子的反应可能与早期 DR 有关。(4)血小板和巨核细胞。PDR 是 INS 依赖性 DM 的一个常见的并发症,以视网膜新生血管和玻璃体视网膜间新生血管膜形成特征。PDR 早期组织病理学特征是微血管阻塞和视网膜缺血,此时血小板黏附和积聚起到重要作用。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(BRB),提高视网膜血管通透性^[16],使 BRB 受损。在高血糖的环境下,代谢发生异常,破坏了视网膜毛细血管的结构和功能,造成视网膜的损害,使视网膜处于缺血缺氧状态。这种缺氧刺激打破了视网膜血管生长因子和抑制因子间的平衡,促使血管生成因子 TNF- α 增加。TNF- α 广泛分布于 DR 血管内皮细胞表面,通过打开视网膜血管内皮细胞和色素上皮细胞的紧密连结而致 BRB 破坏^[17]。BRB 的破坏伴随进行性血管通透性增加是使 DR 从非增殖性状态向形成视网膜新生血管转变的重要因素。BRB 破坏后,玻璃体中细胞因子水平增高,也因此导致 DR 的进展。(2)TNF- α 可刺激巨噬细胞及其他细胞产生 IL-6 和 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。引起视网膜血管病变 TNF- α 含量增加可导致视网膜血管通透性增高,刺激血管外基质过量产生和血管内皮细胞的增殖,导致眼内新生血管形成;血管通透性增高,使血清蛋白持续向血管外渗漏,导致玻璃体血清蛋白含量增高。TNF- α 存在于 PDR 患者纤维血管膜浸润细胞、视网膜血管内皮细胞及细胞外基质中,提示其在 PDR 新生血管形成过程中起重要作用。全身以及视网膜血管血流受累,最终导致异常血管渗漏。现已阐明视网膜血流增加和进展性非增殖性视网膜病变伴随静脉扩张导致视网膜血管不能自我修复,通过激活促凝血酶原,抑制抗凝血蛋白 C 旁路及合成纤溶激活剂抑制物等作用,刺激血小板和内皮细胞释放血小板源生长因子样有丝分裂原,甚至血小板源生长因子,这些效应最终会刺激血管外基质过量产生和血管内皮细胞的增殖,导致眼内新生血管形成,促进 PDR 的发生^[18]。(3)直接杀伤细胞。TNF 通过与 TNF-R 连接后,促发凋亡作用,诱导神经元死亡及通过生长因子如胰岛素生长因子-1(IGF-1)和 INS 受体直接侵入细胞内底物。(4)

诱发炎症反应。TNF- α 属炎症前细胞因子,炎症起始阶段,在促炎细胞因子 TNF- α , IL-1, IL-6 和其他炎性介质如 C3a/C4a/C5a 作用下,血管内皮细胞表达 E-选择素和膜型 IL-8 等与黏附有关的膜分子。TNF 等可改变血管黏附分子的表达,从而使淋巴细胞和巨噬细胞到达靶部位。而现在的研究表明^[19],DR 机制中包括了慢性长程炎症反应。增多的细胞因子使小胶质细胞活化,从而刺激炎症循环而使白细胞增加,以致血管破坏,直接通过释放细胞毒性物质诱导细胞死亡。(5) TNF- α 可诱导 INS 抵抗,从而促进 DM 及其并发症的发生、发展^[18]。

参考文献

- 1 Wang P, Xu TY, Guan YF, *et al.* Perivascular adipose tissue-derived visfatin is a vascular smooth muscle cell growth factor: role of nicotinamide mononucleotide. *Cardiovasc Res* 2009;81(2):370-380
- 2 Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, *et al.* Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation* 2007;115(8):972-980
- 3 Cheng KH, Chu CS, Lee KT, *et al.* Adipocytokines and proinflammatory mediators from abdominal and epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease. *Int J Obes (Lond)* 2008;32(2):268-274
- 4 Spiroglou SG, Kostopoulos CG, Varakis JN, *et al.* Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2010;17(2):115-130
- 5 Liu SW, Qiao SB, Yuan JS, *et al.* Association of plasma visfatin levels with inflammation, atherosclerosis and acute coronary syndromes (ACS) in humans. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;71(2):202-207
- 6 Kostapanos MS, Derdemezis CS, Filippatos TD, *et al.* Effect of rosuvastatin treatment on plasma visfatin levels in patients with primary hyperlipidemia. *Eur J Pharmacol* 2008;578(2-3):249-252
- 7 Chen MP, Chung FM, Chang DM, *et al.* Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol Metab* 2006;91(1):295
- 8 Kralisch S, Klein J, Lossner U, *et al.* Hormonal regulation of the novel adipocytokine visfatin in 3T3-L1 adipocytes. *J Endocrinol* 2005;185(3):R1-8
- 9 Filippatos TD, Derdemezis CS, Kiortsis DN, *et al.* Increased plasma levels of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obese and overweight patients with metabolic syndrome. *Endocrinol Invest* 2007;30(4):323
- 10 Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, *et al.* Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005;307(5708):426-430
- 11 Dahl TB, Yndestad A, Halvorsen B, *et al.* Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation* 2007;115(8):972-980
- 12 Meek RL, Uneli-shoval S, Benditt EP, *et al.* Expression of apolipoprotein serum amyloid A mRNA in human atherosclerotic lesions and cultured vascular cells; implications for serum amyloid A function. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91(7):3186
- 13 Schillinger M, Exner M, Mlekuc W, *et al.* Inflammation and Carotid Artery Risk for Atherosclerosis Study (ICARAS). *Circulation* 2005;111(17):2203
- 14 Buyukhatipoglu H, Tiryaki O, Tahta K, *et al.* Inflammation as a risk factor for carotid intimal-medial thickening, a measure of subclinical atherosclerosis in haemodialysis patients: the role of chlamydia and cytomegalovirus infection. *Nephrol (Carlton)* 2007;12(1):25-32
- 15 Wilson PG, Thomposn JC, Webb NR, *et al.* Serum amyloid A, but not C-reactive protein, stimulates vascular proteoglycan synthesis in a pro-atherogenic, murine. *Am J Pathol* 2008;173(6):1902
- 16 Yuuki T, Kanda T, Kimura Y, *et al.* Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications* 2001;15(5):257-259
- 17 Aguirre V, Wemer ED, Glaud J, *et al.* Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. *J Biol Chem* 2002;277(2):1531-1537
- 18 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 atypical protein kinase C (ζ /lambda) activities. *Diabetes* 2001;50(8):1901
- 19 Marx N, Ogawa Y, Usui T, *et al.* Antiatherogenic effect of pioglitazone in type 2 diabetic patients irrespective of the responsiveness to its antidiabetic effect. *Diabetes Care* 2003;26(9):2493-2499