

## STRESUL OXIDATIV ȘI ADIPONECTINA LA PACIENȚII CU NEUROPATIE DIABETICĂ

COSMINA-IOANA BONDOR<sup>1</sup>, INA MARIA KACSO<sup>2</sup>, ALINA LENGHEL<sup>2</sup>,  
NICOLETA DECEA<sup>3</sup>, ADRIANA MUREȘAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Disciplina de Informatică Medicală și Biostatistică

<sup>2</sup>Disciplina de Nefrologie

<sup>3</sup>Disciplina de Fiziologie

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca

### Rezumat

**Introducere.** Studii experimentale și clinice sugerează o relație inversă între adiponectină și parametrii de stres oxidativ. În acest studiu ne-am propus să evaluăm relația dintre adiponectina plasmatică și stresul oxidativ la pacienții cu diabet zaharat de tip 2 și neuropatie diabetică.

**Material și metodă.** Am inclus în studiu 26 de pacienți cu diabet zaharat de tip 2 și neuropatie diabetică, veniți la control în ambulatorul Clinicii de Nefrologie, respectiv 48 de pacienți cu diabet zaharat de tip 2 fără neuropatie diabetică. Criteriile de excludere au fost: boli renale cronice altele decât nefropatia diabetică, nefropatie diabetică în stadiul 4-5 KDOQI, prezența unei boli acute inflamatorii/infecțioase, hipertensiune necontrolată.

**Rezultate.** La lotul I adiponectina a fost semnificativ corelată cu: peroxidii lipidici-malondialdehida  $r=-0,42$ ,  $p=0,03$ ; cu catalaza  $r=0,56$ ,  $p=0,009$ , cu HDL-colesterol  $r=0,53$ ,  $p=0,005$ ; cu hemoglobina glicată  $r=-0,54$ ,  $p=0,005$ . Peroxidii lipidici - malondialdehida a fost semnificativ corelată cu: vârsta  $r=-0,46$ ,  $p=0,02$ ; hemoglobina glicată  $r=-0,54$ ,  $p=0,005$ ; circumferința abdominală  $r=-0,39$ ,  $p=0,05$ . Superoxid dismutaza a fost semnificativ corelată cu: glicemia ( $r=-0,84$ ,  $p<0,001$ ). În regresia liniară multiplă, la lotul I, adiponectina a depins de peroxidii lipidici - malondialdehidă ( $p=0,004$ ), de hemoglobina glicată ( $p<0,001$ ), de HDL-colesterol ( $p=0,002$ ) și de indicele de masă corporală ( $p=0,002$ ). În regresia liniară multiplă, la lotul II, adiponectina s-a asociat semnificativ cu raportul albumină urinară/creatinină urinară ( $p<0,001$ ), cu HDL-colesterolul ( $p<0,001$ ), cu indicele de masă corporală ( $p=0,009$ ) și cu proteina C reactivă ( $p=0,001$ ). Nu au fost diferențe semnificative ale nivelului de adiponectină sau ale parametrilor stresului oxidativ între lotul cu neuropatie și lotul fără neuropatie diabetică.

**Concluzie.** La pacienții cu diabet zaharat de tip 2 și neuropatie diabetică, nivelul scăzut al stresului oxidativ s-a corelat cu un nivel ridicat al adiponectinei plasmatică.

**Cuvinte cheie:** adiponectina plasmatică, stresul oxidativ, diabetul zaharat de tip 2, neuropatia diabetică.

## OXIDATIVE STRESS AND SERUM ADIPONECTIN IN DIABETIC NEUROPATHY PATIENTS

### Abstract

**Introduction.** Experimental and clinical studies suggest an inverse relationship between adiponectin and oxidative stress. In this study we evaluated the relationship between serum adiponectin and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus with diabetic neuropathy.

**Material and methods.** We included in this study 26 patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic neuropathy, from the outpatient settings of the Clinic

of Nephrology Mihai Manasia Cluj and 48 patients with type 2 diabetes without diabetic neuropathy. Exclusion criteria were: chronic renal disease other than diabetic nephropathy, diabetic nephropathy stage 4-5 KDOQI, the presence of acute inflammatory/infectious, uncontrolled hypertension.

**Results.** In patients with neuropathy plasma adiponectin was significantly correlated with lipid peroxides-malondialdehyde  $r=-0.42$ ,  $p=0.03$ , with catalase  $r=0.56$ ,  $p=0.009$ , with high-density lipoprotein cholesterol  $r=0.53$ ,  $p=0.005$  and glycated hemoglobin  $r=-0.54$ ,  $p=0.005$ . Lipid peroxides - malondialdehyde was significantly correlated with age  $r=-0.46$ ,  $p=0.02$ , glycated hemoglobin  $r=-0.54$ ,  $p=0.005$ ; abdominal circumference  $r=-0.39$ ,  $p=0.05$ . Superoxide dismutase was significantly correlated with blood glucose  $r=-0.84$ ,  $p<0.001$ . In multivariate linear regression adiponectine was dependent of lipid peroxides - malondialdehyde ( $p=0.04$ ), body mass index ( $p=0.002$ ), high-density lipoprotein cholesterol ( $p=0.002$ ) and glycated hemoglobin ( $p<0,001$ ). In patients without neuropathy, multivariate linear regression found that adiponectine was dependent of urinary albumin/urinary creatinin report ( $p<0.001$ ), high-density lipoprotein cholesterol ( $p<0.001$ ), body mass index ( $p=0.009$ ) and C-reactive protein ( $p=0.001$ ). There were no significant differences in levels of adiponectin and oxidative stress parameters between diabetic neuropathy and without neuropathy group.

**Conclusion.** In patients with diabetes mellitus type 2 and diabetic neuropathy, low level of oxidative stress was correlated with high level of adiponectin.

**Keywords:** serum adiponectin, oxidative stress, type 2 diabetes mellitus, diabetic neuropathy.

## Introducere

Prevalența diabetului zaharat de tip 2 (DZ 2) este în creștere, în special în țările dezvoltate, datorită schimbării modului de viață, sedentarismului, creșterii speranței de supraviețuire. La nivel mondial, 6,4% din populația adultă suferă de diabet - 8,3% din întreaga populație, din care 85-95% din cazuri cu DZ2 (în țările dezvoltate) [1]. Leziunile vaselor sanguine mici duc la apariția unor complicații ale diabetului, cum ar fi neuropatia, retinopatia și nefropatia. Neuropatia diabetică poate fi periferică, vegetativă sau focală. Hiperglicemia din DZ2 afectează celulele care nu-și pot menține concentrația de glucoză intracelulară normală, inclusiv neuronii sistemului nervos. Controlarea strictă a glicemiei poate să aibă beneficii asupra modificărilor microvasculare, prevenind apariția/întârzierea complicațiilor [2]. Hiperglicemia cronică duce la supraactivarea căii polioliilor, activarea izoformelor proteinkinazei C, generează specii de oxigen reactive (SRO) și provoacă stres oxidativ (SO) implicat în glicare, cu formarea produșilor avansați de glicare și interacțiunea cu receptorii specifici [3]. Disfuncția endotelială, modificările de permeabilitate vasculară din DZ, inducerea adeziunii leucocitare, apoptoza dependentă de tipul celular, anomaliile în reglarea tipului celular vascular, tonusul vasomotor alterat sunt toate perturbări vasculare în care SRO au un rol esențial [4].

Rolul inflamației subclinice în dezvoltarea neuropatiei diabetice este mai puțin clar [5], adiponectina are activitate antiinflamatorie și antioxidantă [6]. A fost demonstrat un nivel scăzut al adiponectinei la pacienții cu

picioar diabetic, față de pacienții fără acest sindrom [7,8].

Scopul acestei lucrări a fost de a studia asocierea dintre adiponectină și parametrii balanței oxidanți/antioxidanți (O/AO), la pacienții cu neuropatie diabetică. Obiectivul principal a fost evidențierea și cuantificarea corelației dintre parametrii balanței O/AO și adiponectina plasmatică. Obiectivul secundar a fost compararea adiponectinei și a parametrilor balanței O/AO (peroxizii lipidici - malondialdehidă (PL-MDA) și enzimele AO - superoxid dismutaza (SOD) și catalaza (CAT)) la pacienții cu DZ 2, cu și fără neuropatie diabetică.

## Material și metodă

Am inclus în studiu 26 de pacienți cu DZ 2 și neuropatie diabetică (lotul I), veniți la control în ambulatorul Clinicii de Nefrologie, respectiv 48 de pacienți cu DZ 2 fără neuropatie diabetică (lotul II). Criteriile de includere au fost: pacientul să aibă DZ 2, vechimea DZ 2 să fie de cel puțin 2 ani (lotul II), pacientul să aibă neuropatie diabetică și vechimea bolii să fie de cel puțin 2 ani (lotul I). Criteriile de excludere au fost: boli renale cronice altele decât nefropatia diabetică sau nefropatie diabetică în stadiul 4-5 KDOQI, prezența unei boli acute inflamatorii/infecțioase, hipertensiune necontrolată (tensiunea arterială sistolică (TAS) mai mare decât 150 mmHg sau tensiunea arterială diastolică (TAD) mai mare decât 95 mmHg). Pacienții care au îndeplinit criteriile de includere au fost informați asupra studiului. Au fost incluși numai pacienții care și-au dat consimțământul scris. Studiul a fost aprobat de comisia de etică a universității. Studiul s-a desfășurat în perioada

Adress for correspondence: cbondor@umfcluj.ro

ianie-iulie 2011.

Neuropatia diabetică a fost diagnosticată pe baza simptomelor, istoricului medical și a unui examen fizic. Pacienții din lotul I au prezentat atât neuropatie periferică, cât și vegetativă și focală. Au fost efectuate și înregistrate datele rezultate din examinarea clinică, au fost măsurate TAS și TAD, au fost efectuate măsurători antropometrice (înălțime, greutate, circumferința abdominală), s-au consemnat antecedentele personale și tratamentul (inhibitori ai enzimei de conversie (IEC), antagoniști receptori ai angiotensinei II (ARA), statine, metformin, sulfoniluree și insulină). Analizele de rutină: tabloul lipidic, nivelul glicemic au fost obținute prin analiză automată, raportul albumină urinară/creatinină urinară (AU/CU) a fost analizat prin imunoturbidimetrie [9], creatinuria cu metoda Jaffe [10], adiponectina din plasmă prin metoda Cyber-Elisa [11], hemoglobina glicozilată (HbA1c) cu metoda cromatografică-colorimetrică Biogamma [12], proteina C reactivă (CRP) cu metoda latex-imunoturbidimetrică [13], PL-MDA cu metoda colorimetrică cu acid thiobarbituric [14], catalaza (CAT) prin urmărirea modificării absorbantei unei soluții de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [15], superoxid dismutaza (SOD) cu metoda bazată pe inhibiția a 50% a formării de nicotinamid adenin dinucleotide-fenazinemetosulfat nitrotetrazolium blue (NBT) formazan [16]. Analizele de laborator au fost efectuate în laboratorul de Imunologie al Spitalului Județean de Urgență, Cluj și în laboratorul pentru studiul SO al Disciplinei de Fiziologie a Universității de Medicină

și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca. Rata de filtrare glomerulară (RFG) a fost estimată în concordanță cu formula MDRD [17]. A fost determinat AU/CU din urina colectată dimineața.

#### Analiza statistică

Normalitatea distribuției datelor a fost estimată cu testul Kolmogorov-Smirnov. Rezultatele au fost prezentate ca medii aritmetice ± deviația standard sau mediane (percentilele 25%-75%) pentru variabile cantitative și cu frecvențe absolute și relative procentuale pentru variabilele calitative. Testul T Student sau testul Mann-Whitney U a fost aplicat la compararea a două medii în funcție de tipul distribuției variabilelor comparate. Testul Hi-pătrat sau testul Fisher exact a fost aplicat pentru tabelele de contingență. Corelația a fost apreciată prin coeficientul de corelație Pearson sau Spearman. Analiza multivariată a fost realizată cu regresie liniară, metoda stepwise. A fost prezentat coeficientul b și intervalul de încredere de 95%. Nivelul de semnificație ales a fost 0,05. Datele au fost evaluate utilizând aplicația SPSS 15.0.

#### Rezultate

Au fost comparați parametri între loturile caz și martor. Rezultatele au fost prezentate în Tabelul I. RFG a fost semnificativ mai mică la lotul I, față de lotul II (p=0,03). Au mai fost diferențe între cele două loturi, dar nu semnificative în ceea ce privește HbA1c și CRP, ambele fiind mai mari la lotul I. Ceilalți parametri testați nu au

**Tabel I.** Compararea lotului I cu lotul II.

Parametri	Lotul I (n=26)	Lotul II (n=48)	P
a) Indicatori antropometrici			
Vârsta (ani)	66,77±9,77	64,33±11,78	0,37
Genul masculin n (%)	18 (69,2)	30 (62,5)	0,56
Vechimea diabetului (luni)	11 (7-19,25)	8 (6-12)	0,11
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,99±5,90	31,71±6,27	0,63
Circumferința abdominală (cm)	109,13±14,93	106,42±13,60	0,43
b) Alți indicatori			
Sindrom X metabolic n (%)	17 (89,5)	31 (83,8)	0,57
TAS (mmHg)	128,40±18,58	133,65±17,34	0,28
TAD (mmHg)	74,20±7,86	78,23±9,59	0,10
Retinopatie diabetică n (%)	9 (50,00)	12 (50,00)	1,00
c) Tratament			
IEC n (%)	16 (64,00)	23 (47,90)	0,19
ARA n (%)	6 (24,00)	11 (22,90)	0,92
IEC sau ARA n (%)	21 (80,80)	34 (70,80)	0,35
Statine n (%)	15 (60,00)	31 (64,60)	0,70
Metformin n (%)	9 (36,00)	17 (35,40)	0,96
Insulină n (%)	14 (56,00)	21 (43,80)	0,32
Sulfoniluree n (%)	5 (20,00)	19 (39,60)	0,09
d) Indicatori biochimici			
RFG (ml/min)	74,82±29,54	92,41±36,13	<b>0,03</b>
AU/CU (mg/g)	24,13 (5,25-62,98)	20,35 (6,85-110,56)	0,80
HbA1C (%)	8,04±1,54	7,26±1,74	0,07
LDL colesterol (mg/dl)	107,15±43,45	115,44±41,30	0,42
HDL colesterol (mg/dl)	40,85±8,97	45,52±13,55	0,12
Trigliceride (mg/dl)	142 (107,5-218)	147,50 (99,75-208)	0,61
CRP (mg/dl)	0,46 (0,20-0,86)	0,28 (0,12-0,47)	0,09
Adiponectina plasmatică (μg/ml)	6,20 (2,61-9,00)	6,07 (3,57-10,77)	0,55
PL-MDA (nmol/ml)	3,91±1,08	3,89±1,55	0,94
CAT (U/mg proteină)	3,09±0,87	3,08±0,74	0,98
SOD (U/mg pro)	629,20±182,09	650,52±125,46	0,84

diferit semnificativ între loturi.

La lotul II, 50% dintre pacienți au avut RFG  $\geq 90$  ml/min comparativ cu 30,8% în lotul I. La lotul I, 34,6% dintre pacienți au avut RFG  $< 30$  ml/min comparativ cu 20,8% în lotul II. RFG cuprins în intervalul 60-90 ml/min au avut 34,6% la lotul I și 29,2% la lotul II. Testarea statistică a acestor procente nu a indicat diferență semnificativă între loturi în ceea ce privește distribuția categoriilor de RFG,  $p=0,24$ .

La lotul II, 10,4% dintre pacienți au avut AU/CU  $\geq 300$  mg/g, comparativ cu 3,8% în lotul I. La lotul I, 61,5% dintre pacienți au avut AU/CU  $< 30$  mg/g, comparativ cu 60,4% în lotul II. AU/CU cuprins în intervalul 30-300 mg/g au avut 34,6% la lotul I și 29,2% la lotul II. Testarea statistică a acestor procente nu a indicat diferență semnificativă între loturi în ceea ce privește distribuția categoriilor de AU/CU,  $p=0,59$ .

La lotul I, adiponectina plasmatică a fost semnificativ corelată cu PL-MDA ( $r=-0,42$ ,  $p=0,03$ ); cu CAT ( $r=0,56$ ,  $p=0,009$ ); cu HDL-colesterolul ( $r=0,53$ ,  $p=0,005$ ); cu HbA1c ( $r=-0,54$ ,  $p=0,005$ ).

În regresia liniară multivariată, la lotul I, adiponectina s-a asociat semnificativ cu HDL-colesterolul  $b=0,39$  95%IC(0,16;0,61),  $p=0,002$ ; cu HbA1c  $b=-2,42$  95%IC(-3,61;-1,23),  $p<0,001$ ; cu IMC  $b=0,55$  95%IC(0,22;0,87),  $p=0,002$  și cu PL-MDA  $b=-2,74$  95%IC(-4,49;-0,99),  $p=0,004$ .

La lotul II, adiponectina plasmatică a fost semnificativ corelată cu SOD ( $r=-0,42$ ,  $p=0,03$ ); cu AU/CU ( $r=0,41$ ,  $p=0,004$ ); cu HDL-colesterolul ( $r=0,32$ ,  $p=0,03$ ); cu HbA1c ( $r=-0,54$ ,  $p=0,005$ ); cu IMC ( $r=-0,36$ ,  $p=0,01$ ); cu circumferința abdominală ( $r=-0,36$ ,  $p=0,01$ ); cu TAS ( $r=0,30$ ,  $p=0,04$ ); cu trigliceridele ( $r=-0,33$ ,  $p=0,02$ ).

În regresia liniară multivariată, la lotul II, adiponectina s-a asociat semnificativ cu AU/CU  $b=0,01$  95%IC(0,005;0,015),  $p<0,001$ ; cu HDL-colesterolul  $b=0,28$  95%IC(0,14;0,43),  $p<0,001$ ; cu IMC  $b=-0,40$  95%IC(-0,70;-0,10),  $p=0,009$  și cu CRP  $b=3,34$  95%IC(1,48;5,20),  $p=0,001$ .

La lotul I, PL-MDA a fost semnificativ corelată și cu vârsta ( $r=-0,46$ ,  $p=0,02$ ); cu AU/CU ( $r=-0,43$ ,  $p=0,03$ ); cu circumferința abdominală ( $r=-0,39$ ,  $p=0,05$ ); cu HbA1c ( $r=-0,54$ ,  $p=0,005$ ). SOD a fost semnificativ corelată cu glicemia ( $r=-0,84$ ,  $p<0,001$ ).

La lotul II, PL-MDA a fost semnificativ corelată și cu SOD ( $r=-0,36$ ,  $p=0,03$ ); CAT ( $r=-0,36$ ,  $p=0,03$ ). SOD a fost semnificativ corelat și cu glicemia ( $r=-0,66$ ,  $p<0,001$ ); cu circumferința abdominală ( $r=0,35$ ,  $p=0,03$ ). CAT a fost semnificativ corelată și cu CRP ( $r=0,36$ ,  $p=0,03$ ).

## Discuții

Rezultatele noastre arată că prezența neuropatiei a influențat relația dintre SO și adiponectină. Spre deosebire de lotul II, unde adiponectina scăzută s-a corelat cu un nivel ridicat de SOD, la lotul I adiponectina scăzută s-a corelat cu

PL-MDA crescută și CAT scăzută.

Studiul nostru a fost observațional. Creșterea markerilor inflamației și disfuncției endoteliale, la fel ca și scăderea adiponectinei s-ar putea datora creșterii SO [18]; pe de altă parte, adiponectina a fost raportată ca protector împotriva apoptozei, datorită creșterii nivelului de SOD și CAT [19], reducerii inflamației și stresului oxidativ prin activarea adenozei monofosfat [20]. În neuropatie, s-a constatat un nivel crescut al adiponectinei la pacienții cu picior diabetic, dar mecanismele acesteia sunt neclare [5,7-8].

Nu au fost diferențe semnificative între cele două loturi în ceea ce privește media PL-MDA, CAT și SOD. Alp a găsit o creștere semnificativă a PL-MDA și o scădere a catalazei în creierul și nervul sciatic la șobolanii cărora li s-a indus diabetul cu streptozotocină [20]. El Boghdady a constatat o creștere semnificativă a PL-MDA la pacienții cu neuropatie diabetică periferică [21]. Arya a comunicat un nivel al SOD și PL-MDA semnificativ mai mare în limfocitele pacienților cu diabet zaharat și picior diabetic cu răni cronice, în comparație cu pacienții sănătoși, iar nivelul catalazei a fost semnificativ scăzut [22].

Funcția nervoasă nu a fost afectată de nivelul adiponectinei a afirmat Matsuda [23]. Nici alte studii nu au găsit o relație între adiponectină și neuropatia diabetică [24]. Un alt studiu a găsit că adiponectina crescută se corelează cu gravitatea indicată de scorul de neuropatie autonomă cardiacă [2].

Neuropatia pare să se asocieze cu disfuncția rinichiului (RFG  $< 90$  ml/min) și nu cu microalbuminuria. Corelația pe care am găsit-o, dintre adiponectină și SO, s-ar putea datora disfuncției renale. Se cunoaște că nivelul adiponectinei este crescut la pacienții cu boală cronică renală, printr-o scădere a RFG și o creștere a proteinuriei [26-31]. În studiul nostru adiponectina nu s-a corelat cu RFG la pacienții cu neuropatie. În plus, la pacienții cu neuropatie, adiponectina nu a fost mai mare decât la cei fără neuropatie. Pe de altă parte, pacienții diabetici cu neuropatie sunt într-un stadiu mai avansat al diabetului.

Asocierea dintre adiponectină și parametrii balanței O/AO la pacienții cu DZ 2 și neuropatie diabetică a fost demonstrată. Limitările studiului nostru au fost: numărul mic de pacienți cu neuropatie diabetică, nu s-a putut realiza împărțirea după tipurile de neuropatie și faptul că au fost selectați dintre pacienții care au fost trimiși la un control al funcției renale.

## Concluzii

1. La pacienții cu neuropatie, adiponectina scăzută se corelează cu stresul oxidativ crescut și cu nivelul crescut de CAT.

2. SOD și CAT scăzute s-au corelat cu glicemia și cu nivelul crescut al HbA1c.

3. Odată cu gravitatea diabetului, crește dependența dintre adiponectină și SO.

**Acknowledgements**

The author CB was partly supported by European Social Fund within the Sectorial Operational Program - Human Resources Development 2007-2013-POSDRU /89/1.5/S/58965.

**Bibliografie**

1. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011; 94(3):311-321.
2. Fowler SP, Williams K, Resendez RG, Hunt KJ, Hazuda HP, Stern MP. Fueling the obesity epidemic? Artificially sweetened beverage use and long-term weight gain. *Obesity (Silver Spring)*, 2008; 16:1894-1900.
3. Yan SF, Ramasamy R, Bucchiere LG, et al. RAGE and its ligands: a lasting memory in diabetic complications? *Diab Vasc Dis Res*, 2004; 1:10-20.
4. Cheța D, Mihai A. Complicațiile cronice ale diabetului zaharat: generalități, sistematizare, patogenie. În Șerban V, editor. *Tratat român de boli metabolice 2*. Ed. Brumar, Timișoara, 2011.
5. Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009; 94(9):3171-3182.
6. Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*, 2007; 74(1):11-18.
7. Zubair M, Malik A, Ahmad J. Plasma adiponectin, IL-6, hsCRP, and TNF- $\alpha$  levels in subject with diabetic foot and their correlation with clinical variables in a North Indian tertiary care hospital. *Indian J Endocrinol Metab*, 2012; 16(5):769-776.
8. Ahmad J, Zubair M, Malik A, Siddiqui MA, Wangnoo SK. Cathepsin-D, adiponectin, TNF- $\alpha$ , IL-6 and hsCRP plasma levels in subjects with diabetic foot and possible correlation with clinical variables: a multicentric study. *Foot (Edinb)*, 2012; 22(3):194-199.
9. Jury DR, Mikkelsen DJ, Dunn PJ. Prozone effect and the immunoturbidimetric measurement of albumin in urine. *Clin Chem*, 1990; 36(8 Pt 1):1518-1519.
10. McLean M, Gallwas J, Hendrixson M. Evaluation of an automated creatininase creatinine procedure. *Clin Chem*, 1973; 19(6):623-625.
11. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999; 257:79-83.
12. Welch SG, Boucher BJ. A rapid micro-scale method for the measurement of Haemoglobin A1(a+b+c). *Diabetologia*, 1978; 14(3):209-211.
13. Borque L, Bellod L, Rus A, Seco ML, Galisteo-González F. Development and validation of an automated and ultrasensitive immunoturbidimetric assay for C-reactive protein. *Clin Chem*, 2000; 46(11):1839-1842.
14. Conti M, Moran PC, Levillain P, et al. Improved fluorimetric determination of malondialdehyde. *Clin Chem*, 1991; 37:1273-1275.
15. Pippenger CE, Browne RW, Armstrong D. Regulatory antioxidant enzymes. In: *Methods in Molecular Biology*, vol. 108: *Free Radicals and Antioxidant Protocols*. D. Armstrong. Totowa (NJ): Humana Press Inc, 1993; 299-311.
16. Beyer WF Jr, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal Biochem*, 1987; 161(2):559-566.
17. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GJ. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine. *J Am Soc Nephrol*, 2000; 11:828-830.
18. Stephens JW, Gable DR, Hurel SJ, Miller GJ, Cooper JA, Humphries SE. Increased plasma markers of oxidative stress are associated with coronary heart disease in males with diabetes mellitus and with 10-year risk in a prospective sample of males. *Clin Chem*, 2006; 52:446-452.
19. Jung TW, Lee JY, Shim WS, et al. Adiponectin protects human neuroblastoma SH-SY5Y cells against acetaldehyde-induced cytotoxicity. *Biochem Pharmacol*, 2006; 72:616-623.
20. Han SH, Quon MJ, Kim JA, Koh KK. Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*, 2007; 49:531-538.
21. Alp H, Varol S, Celik MM, et al. Protective effects of beta glucan and glioclazide on brain tissue and sciatic nerve of diabetic rats induced by streptozosin. *Exp Diabetes Res*, 2012; 2012:230342.
22. El Boghdady NA, Badr GA. Evaluation of oxidative stress markers and vascular risk factors in patients with diabetic peripheral neuropathy. *Cell Biochem Funct*, 2012; 30(4):328-334.
23. Arya AK, Pokharia D, Tripathi K. Relationship between oxidative stress and apoptotic markers in lymphocytes of diabetic patients with chronic non healing wound. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011; 94(3):377-384.
24. Matsuda M, Kawasaki F, Inoue H, et al. Possible contribution of adipocytokines on diabetic neuropathy. *Diabetes Res Clin Pract*, 2004; 66 Suppl 1:S121-123.
25. Kato K, Osawa H, Ochi M, et al. Serum total and high molecular weight adiponectin levels are correlated with the severity of diabetic retinopathy and nephropathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008; 68(3):442-449.
26. Jung CH, Kim BY, Kim CH, Kang SK, Jung SH, Mok JO. Association of serum adipocytokine levels with cardiac autonomic neuropathy in type 2 diabetic patients. *Cardiovasc Diabetol*, 2012; 11:24.
27. Guebre-Egziabher F, Bernhard J, Funahashi T, Hadj-Aissa A, Fouque D. Adiponectin in chronic kidney disease is related more to metabolic disturbances than to decline in renal function. *Nephrol DialTransplant*, 2005; 20(1):129-134.
28. Schalkwijk CG, Chaturvedi N, Schram MT, Fuller JH, Stehouwer CD. Adiponectin is inversely associated with renal function in type 1 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006; 91(1):129-135.
29. Komaba H, Igaki N, Goto S, et al. Increased serum high-molecular-weight complex of adiponectin in type 2 diabetic patients with impaired renal function. *Am J Nephrol*, 2006; 26(5):476-482.
30. Norata GD, Baragetti I, Raselli S, et al. Plasma adiponectin levels in chronic kidney disease patients: Relation with molecular inflammatory profile and metabolic status. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2010; 20(1):56-63.
31. Kacso IM, Bondor CI, Kacso G. Plasma adiponectin is related to the progression of kidney disease in type 2 diabetes patients. *Scand J Clin Lab Invest*, 2012; 72(4):333-339.