

II επίδραση της υπεργλυκαιμίας στην πυκνότητα του ασκορβικού οξέος (ΑΟ) των λευκοκυττάρων διαβητικών ασθενών τύπου II

Περίληψη

Ι. Μαγούλα
Ν. Παπάζογλου
Χρ. Μανές
Γ. Σκαραγκάς
Α. Χατζηαχμέτ
Κ. Τζούνας
Γ. Τσάπας

Διαταραχές του μεταβολισμού του ΑΟ διαδραματίζουν πιθανόν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια/ορισμένων επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ), όπως στη μικροαγγειοπάθεια και ακόμη έχει βρεθεί ότι σε διαβητικούς τύπου I όσο και τύπου II τα επίπεδα του ΑΟ των λευκοκυττάρων που αποτελούν δείκτη των «ιστικών απρ-θεμάτων» του είναι ελαττωμένα σημαντικά. Σε 15 διαβητικούς τύπου II ασθενείς, οι οποίοι επιλέχθηκαν ώστε να έχουν επίπεδα σακχάρου αίματος χαμηλότερα από 150 mg/dl προσδιορίσαμε τη συγκέντρωση του ΑΟ στο πλάσμα και στα λευκοκύτταρα α) αμέσως πριν και β) 3 ώρες μετά από φόρτιση με ΑΟ (4 gr «Ascorbīne» I.V. εντός 30') για την επίτευξη υψηλών συγκεντρώσεων ΑΟ στο πλάσμα. Για να εκτιμηθεί η επίδραση της υπεργλυκαιμίας στη συγκέντρωση και εμμέσως στην είσοδο του ΑΟ στα λευκοκύτταρα η ίδια δοκιμασία επαναλήφθηκε μετά 48ωρο με σταθερά επίπεδα σακχάρου αίματος υψηλότερα από 200 mg/dl. Διαπιστώσαμε ότι: α) μετά τη φόρτιση με «Ascorbīne» τα επίπεδα του ΑΟ πλάσματος δεν διέφεραν σημαντικά ($p > 0.05$) μεταξύ τιμών σακχάρου αίματος > 200 mg/dl και < 150 mg/dl αντίστοιχα (6.36 ± 0.35 vs 6.58 ± 0.44 mg/dl), ενώ η συγκέντρωση του ΑΟ των λευκοκυττάρων ήταν σημαντικά ελαττωμένη ($p < 0.001$) όταν οι τιμές σακχάρου αίματος ήταν > 200 mg/dl (19.22 ± 1.46 vs 32.99 ± 5.99). Η αρνητική αυτή συσχέτιση μεταξύ ενδοκυττάριας πυκνότητας ΑΟ και υψηλών επιπέδων σακχάρου αίματος υποδηλώνει εμμέσως την επίδραση της υπεργλυκαιμίας στην είσοδο του ΑΟ στα λευκοκύτταρα πιθανότατα σαν αποτέλεσμα ανταγωνισμού μεταφοράς των δύο ουσιών διαμέσου του συστήματος μεταφοράς της γλυκόζης.

Αθήνα

Β' Παθολογική Κλινική
του Αριστοτελείου
Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης,
Παθολογική Κλινική
του Νοσοκομείου
«Άγιος Παύλος»

Το ΑΟ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις διεργασίες οξειδωσης-αναγωγής^{1,2} και έχει συσχετισθεί με ορισμένες επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ). Είναι γνωστό ότι το ΑΟ ενεργοποιεί τις υδροξυλάσες της προλίνης και της λυσίνης και συνεπώς η ένδειά του δυνατόν να ευθύνεται για διαταραχές του σχηματισμού του κολλαγόνου σε διαβητικά άτομα, όπως εμφανίζονται στην επούλωση των τραυμάτων, ή στις αλλοιώσεις της βασικής μεμβράνης των αγγείων, οι οποίες παρουσιάζουν ομοιότητες με αυτές του σκορβούτου³⁻¹¹. Επί πλέον το ΑΟ δεσμεύο-

ντας τις ελεύθερες υδροξυλικές ρίζες ασκεί προστατευτικό ρόλο έναντι της οξειδωτικής ιστικής βλάβης και τα ελαττωμένα ιστικά αποθέματά του έχουν ενοχοποιηθεί για το μηχανισμό της διαβητικής μικροαγγειοπάθειας^{12,13}. Η χορήγηση ΑΟ μειώνει δραστικά τα αυξημένα ιστικά επίπεδα της σορβιτόλης (αναστέλλοντας την αναγωγή της αλδόζης), στην οποία αποδίδονται επιπλοκές του ΣΔ, συγκεκριμένα ο καταρράκτης και οι ειδικές επιπλοκές του τύπου της μικροαγγειοπάθειας^{14,17}.

Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει η επίδραση του ΑΟ στο μεταβολισμό των λιπιδίων^{18,20} και η συμμετοχή του στους μηχανισμούς άμυνας του οργανισμού^{7,21-25}.

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα τα σχετικά με το μεταβολισμό του ΑΟ στο ΣΔ είναι ελάχιστα. Έχει αναφερθεί, ότι τα επίπεδα του ΑΟ του πλάσματος και των ιστών σε διαβητικούς ποντικούς είναι ελαττωμένα²⁶, καθώς επίσης και ότι η υπεργλυκαιμία ελαττώνει την πρόσληψη του ΑΟ από τα μονοκύτταρα λευκοκύτταρα *in vitro*²⁷.

Σε προηγούμενες μελέτες μας σε διαβητικούς ασθενείς διαπιστώσαμε, ότι τα «ιστικά αποθέματα» του ΑΟ είναι ελαττωμένα, ενώ τα επίπεδα του πλάσματος ήταν φυσιολογικά^{23,28}. Το εύρημα αυτό συσχετίστηκε με ανεπαρκή ρύθμιση του διαβήτη (HbA1).

Τα επίπεδα ΑΟ πλάσματος και λευκοκυττάρων κατόπιν χορήγησης ΑΟ σε διαβητικούς ασθενείς με τιμές γλυκόζης αίματος α) < 200 mg/dl, β) > 200 mg/dl και η σχέση της υπεργλυκαιμίας και της συγκέντρωσης του ΑΟ των λευκοκυττάρων αποτελεί το αντικείμενο μελέτης της παρούσας εργασίας.

Υλικό και μέθοδοι

Υλικό της μελέτης αυτής αποτέλεσαν 15 διαβητικοί τύπου II (9 άνδρες και 6 γυναίκες, ηλικίας 47-61 ετών) οι οποίοι επιλέγησαν ώστε τα επίπεδα γλυκόζης αίματος κατά την εξέτασή τους να είναι χαμηλότερα των 150 mg/dl και να διατηρούνται στα επίπεδα αυτά κατά τη διάρκεια της τριώρης δοκιμασίας. Ο έλεγχος γίνονταν με προσδιορισμούς του σακχάρου του αίματος ανά 30'. Στους ασθενείς επαναλήφθηκε η ίδια δοκιμασία μετά 48 ώρες όταν υπήρχαν υψηλά επίπεδα γλυκόζης αίματος (> 200 mg/dl). Ασθενείς στους οποίους δεν κατέστη δυνατόν να επιτευχθούν σταθερά χαμηλά ή υψηλά επίπεδα κατά τη διάρκεια του τριώρου αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Πρωτόκολλο μελέτης

Προσδιορίσθηκε η πυκνότητα του ΑΟ στο πλάσμα και στα λευκοκύτταρα δεδομένου ότι η συγκέντρωση του ΑΟ στα λευκοκύτταρα αποτελεί δείκτη των «ιστικών αποθεμάτων» του^{29,32}.

Οι προσδιορισμοί διενεργήθηκαν μετά από ολονύκτια νηστεία, πριν (0') και 180' μετά από ενδοφλέβια έγχυση 4 g ασκορβικού οξέος «Ascorbine 500 mg» μέσα σε 500 cc διάλυμα NaCl 0.95% και εντός 30'. Ο δεύτερος προσδιορισμός έγινε 180' μετά την έγχυση, διότι έχει διαπιστωθεί από προηγούμενες μελέτες μας αλλά και από άλλους ερευνητές, ότι η μέγιστη πυκνότητα ΑΟ στα λευκοκύτταρα επιτυγχάνεται εντός 90'-180' μετά την ενδοφλέβια χορήγησή του.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν είναι: α) για τον προσδιορισμό του ΑΟ του πλάσματος η χρωματομετρική μέθοδος των Roe και Kuether, όπως περιγράφεται από τον Natelson³³ και β) για τον προσδιορισμό της πυκνότητας του ΑΟ στα λευκά αιμοσφαίρια η μέθοδος των Denson και Bowers³⁴.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του Student's test (paired), όπου $p < 0.05$ εκτιμήθηκε ως σημαντική διαφορά.

Αποτελέσματα

Οι τιμές του ΑΟ πλάσματος κυμάνθηκε από 0.81 έως 1.18 mg/dl (μέση τιμή \pm SD = 1.02 ± 0.11) στους διαβητικούς ασθενείς, όταν οι τιμές σακχάρου αίματος κυμαίνονταν κάτω από 150 mg/dl και από 0.90 έως 1.23 mg/dl (μέση τιμή \pm SD = 1.08 ± 0.11) στους ίδιους ασθενείς, όταν οι τιμές του σακχάρου κυμαίνονταν πάνω από 200 mg/dl. Η διαφορά στις τιμές του ΑΟ πλάσματος δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p = NS$). Αντίθετα στατιστικά σημαντική ($p < 0.05$) υπήρξε η διαφορά των επιπέδων ΑΟ των λευκοκυττάρων στους ίδιους ασθενείς με διαφορετικές τιμές σακχάρου αίματος. Έτσι, όταν τα επίπεδα σακχάρου αίματος ήταν κάτω από 150 mg/dl οι τιμές του ΑΟ των λευκοκυττάρων κυμαίνονταν από 20.25 έως 24.95 $\mu\text{g}/10^8$ λευκά (μέση τιμή \pm SD = 22.31 ± 2.20), ενώ με επίπεδα σακχάρου αίματος σταθερά πάνω από 200 mg/dl οι αντίστοιχες τιμές κυμάνθηκαν από 14.00 έως 20.08 $\mu\text{g}/10^8$ λευκά (μέση τιμή \pm SD = 16.87 ± 1.48) (Πίν. 1).

Στον πίνακα 2 φαίνεται η επίδραση της υπεργλυκαιμίας στη συγκέντρωση του ΑΟ εντός των λευκοκυττάρων μετά από την ενδοφλέβια χο-

Πίνακας 1. Επίπεδα ΑΟ πλάσματος (mg/dl) και λευκοκυττάρων ($\mu\text{g}/10^8$ λευκά) πριν από τη φόρτιση με ΑΟ

| Ομάδες Νο | ΑΟ Πλάσματος Γλυκόζη αίματος | | ΑΟ Λευκοκυττάρων Γλυκόζη αίματος | |
|-----------|---------------------------------|----------------|---|------------------------------|
| | (α) <150 mg/dl | (β) >200 mg/dl | (α ₁) <150 mg/dl | (β ₁) >200 mg/dl |
| 15 | Εύρος: 0.81-1.18 | 0.90-1.23 | 20.25-24.95 | 14.00-20.08 |
| | \bar{x} = 1.02 | 1.08 | 22.31 | 16.87 |
| | SD = \pm 0.11 | \pm 0.11 | \pm 2.20 | \pm 1.48 |
| | p = NS για σύγκριση (α) (β) | | p < 0.05 για σύγκριση (α ₁) (β ₁) | |

Πίνακας 2. Επίπεδα ΑΟ πλάσματος (mg/dl) και λευκοκυττάρων ($\mu\text{g}/10^8$ λευκά) μετά από φόρτιση με ΑΟ (4g "Ascorbine", I.V.)

| Ομάδες Νο | ΑΟ Πλάσματος Γλυκόζη αίματος | | ΑΟ Λευκοκυττάρων Γλυκόζη αίματος | |
|-----------|---------------------------------|----------------|--|------------------------------|
| | (α) <150 mg/dl | (β) >200 mg/dl | (α ₁) <150 mg/dl | (β ₁) >200 mg/dl |
| 15 | Εύρος: 5.72-7.29 | 5.85-6.98 | 25.90-42.13 | 15.00-21.30 |
| | \bar{x} = 6.58 | 6.36 | 32.99 | 19.22 |
| | SD = \pm 0.44 | \pm 0.35 | \pm 5.99 | \pm 1.46 |
| | p = NS για σύγκριση (α) (β) | | p < 0.001 για σύγκριση (α ₁) (β ₁) | |

ρήγηση 4g «Ascorbine». Όταν οι τιμές σακχάρου αίματος ήταν κάτω των 150 mg/dl, τα επίπεδα ΑΟ των λευκοκυττάρων κυμάνθηκαν από 25.90 έως 42.13 $\mu\text{g}/10^8$ λευκά (μέση τιμή \pm SD = 32.99 ± 5.99), ενώ με τιμές σακχάρου πάνω από 200 mg/dl τα επίπεδα του ΑΟ των λευκοκυττάρων κυμάνθηκαν σε σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ($p < 0.001$), από 15.00 έως 21.30 $\mu\text{g}/10^8$ λευκά (μέση τιμή \pm SD = 19.22 ± 1.46). Οι τιμές του ΑΟ του πλάσματος, που επιτεύχθηκαν μετά τη χορήγηση «Ascorbine», κυμάνθηκαν από 5.72 έως 7.29 mg/dl (μέση τιμή \pm SD = 6.58 ± 0.44) με τιμές σακχάρου αίματος χαμηλότερες των 150 mg/dl και από 5.85 έως 6.98 mg/dl (μέση τιμή \pm SD = 6.36 ± 0.35) με τιμές σακχάρου αίματος υψηλότερες των 200 mg/dl. Η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p = \text{NS}$).

Συζήτηση

Ο μεταβολισμός του ΑΟ στο ΣΔ παρουσιάζει

ενδιαφέρον, δεδομένου ότι η ελάττωση των «ιστικών επιπέδων» θα μπορούσε να ενοχοποιηθεί για την παθογένεια ορισμένων επιπλοκών της νόσου. Χαμηλά επίπεδα ΑΟ πλάσματος και ελαττωμένα «ιστικά αποθέματα» ΑΟ έχουν ανευρεθεί τόσο στον πειραματικό σακχαρώδη διαβήτη, όσο και σε διαβητικούς τύπου I και II ασθενείς^{23,27,35,37}. Ο μηχανισμός εν τούτοις των χαμηλών επιπέδων του ΑΟ του πλάσματος και των ιστών στο ΣΔ παραμένει αδιευκρίνιστος^{15,38}.

Σε προηγούμενη μελέτη διαπιστώσαμε, ότι τα επίπεδα του ΑΟ του πλάσματος, τα οποία εξαρτώνται κυρίως από τη διαιτητική πρόσληψη, κυμάνθηκαν μέσα στα φυσιολογικά όρια σε διαβητικούς τύπου II ασθενείς. Αντίθετα τα επίπεδα του ΑΟ των λευκοκυττάρων ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε σχέση με αυτά των φυσιολογικών μαρτύρων και σε σχέση με τα επίπεδα του πλάσματος³⁹. Τα χαμηλά επίπεδα του ΑΟ των λευκοκυττάρων, τα οποία θεωρούνται ως δείκτης του «ιστικού κορεσμού» ή των «ιστικών αποθεμά-

των» του ΑΟ^{29,30} παρέμειναν χαμηλά και μετά τη φόρτιση των ασθενών με πολλαπλάσια ποσότητα από αυτή των ολικών αποθεμάτων του οργανισμού⁷ και παρά την επίτευξη υψηλών επιπέδων πλάσματος. Συνεπώς, ούτε η ανεπαρκής πρόσληψη, ούτε ο ταχύς καταβολισμός του ΑΟ είναι δυνατό να ευθύνονται για τα ελαττωμένα ιστικά αποθέματα. Αντίθετα, η κακή ρύθμιση του διαβήτη θα μπορούσε να ενοχοποιηθεί, δεδομένου ότι σταθερό εύρημα στους ασθενείς που είχαν μελετηθεί ήταν οι υψηλές τιμές της HbA1 στο αίμα.

Στην παρούσα μελέτη προκειμένου να συσχετισθούν η υπεργλυκαιμία και η πυκνότητα του ΑΟ των λευκοκυττάρων, οι ίδιοι ασθενείς μελετήθηκαν με διαφορετικά επίπεδα (<150 mg/dl και >200 mg/dl αντίστοιχα) σακχάρου αίματος, τα οποία διατηρήθηκαν σταθερά κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας (3 ώρες).

Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν, ότι ενώ τα επίπεδα ΑΟ του πλάσματος δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους, υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα του ΑΟ των λευκοκυττάρων. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε, ότι οι τιμές του ΑΟ των λευκοκυττάρων ήταν υψηλότερες, όταν οι τιμές του σακχάρου αίματος κυμαίνονταν σε επίπεδα χαμηλότερα των 150 mg/dl. Ο μέσος όρος των τιμών αυτών βρίσκεται στα κατώτερα φυσιολογικά όρια, ενώ ο αντίστοιχος μέσος όρος κατά τη διάρκεια της υπεργλυκαιμίας είναι σαφώς ελαττωμένος³⁹⁻⁴¹. Δεδομένου ότι το ενδοκυττάριο έλλειμμα του ΑΟ θα μπορούσε να αποδοθεί και σε άλλους παράγοντες εκτός της υπεργλυκαιμίας, όπως ελαττωμένη διαιτητική πρόσληψη, πλημμελής εντερική απορρόφηση, έντονος καταβολισμός και αυξημένη νεφρική αποβολή⁷ χορηγήθηκε ενδοφλεβίως ΑΟ σε μια δόση που υπερβαίνει τα ολικά αποθέματα του οργανισμού, τα οποία έχουν υπολογισθεί σε 1500-2800 mg.

Μετά τη φόρτιση με ΑΟ τα επίπεδα του ΑΟ του πλάσματος αυξήθηκαν σημαντικά ανεξάρτητα από τα επίπεδα του σακχάρου του αίματος. Αντίθετα, τα επίπεδα του ΑΟ των λευκοκυττάρων παρουσίασαν πολύ σημαντική αύξηση 3 ώρες μετά τη φόρτιση με ΑΟ όταν τα επίπεδα του σακχάρου του αίματος κυμαίνονταν κάτω από τα 150 mg/dl, ενώ δεν αυξήθηκαν σημαντικά όταν τα επίπεδα του σακχάρου του αίματος ξεπερνούσαν τα 200 mg/dl.

Τα ευρήματα αυτά δείχνουν μια σαφή συσχέτιση μεταξύ επιπέδων ΑΟ λευκοκυττάρων και επιπέδων γλυκαιμίας. Η επίδραση της υπεργλυκαιμίας στην είσοδο του ΑΟ μέσα στα κύτταρα

καθίσταται σαφέστερη μετά τη φόρτιση ενδοφλεβίως με βιταμίνη C και την επίτευξη υψηλών επιπέδων ΑΟ πλάσματος. Επομένως στους διαβητικούς ασθενείς το ενδοκυττάριο έλλειμμα του ΑΟ θα μπορούσε να αποδοθεί στην υπεργλυκαιμία.

Πράγματι μελέτες *in vitro* έδειξαν ότι η γλυκόζη ανταγωνίζεται την είσοδο του δεϋδροσκορβικού οξέος μέσα στα ουδετερόφιλα και στους ινοβλάστες, πιθανότατα διότι υπάρχει κοινός μηχανισμός μεταφοράς για τις δύο ουσίες⁴². Σ' αυτό συνηγορούν ακόμη η ομοιότητα της δομής των μορίων των δύο ουσιών και ο μηχανισμός νεφρικής αποβολής των δύο ουσιών⁷ δεδομένου ότι στα επιθηλιακά κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου ο μηχανισμός σωληναριακής μεταφοράς της γλυκόζης και του ασκορβικού είναι παράμοιος. Επιπλέον, έχει δείχθει, ότι η ενδοκυττάρια μεταφορά του ΑΟ αυξάνει με τη δράση της ινσουλίνης^{43,44}. Στην παρούσα μελέτη δεν προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της ινσουλίνης, θεωρητικά όμως τα διαβητικά άτομα με υψηλά επίπεδα γλυκόζης και χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης έχουν διπλό μειονέκτημα όσον αφορά την κυτταρική πρόσληψη και εναποθήκευση του ΑΟ με συνέπεια να υφίστανται τον κίνδυνο να αναπτύξουν «τοπικό σκορβούτο»⁴⁵.

Συμπερασματικά, τα επίπεδα του ΑΟ των ιστών δεν αποκαθίστανται με την παρεντερική χορήγηση μεγάλων δόσεων ΑΟ, όταν συνυπάρχει υπεργλυκαιμία. Συνεπώς, στους διαβητικούς ασθενείς για την πρόληψη της ιστικής ένδειας ΑΟ είναι απαραίτητη εκτός από την ικανοποιητική πρόσληψη της βιταμίνης C και η ρύθμιση της υπεργλυκαιμίας.

Summary

Magoula I, Papaoglou N, Manes H, Skaragkas G, Hagiament A, Tzounas K, Tsapas G. Hellen Diabetol Chron 1991; 1: 52-57.

The aim of this investigation was to evaluate the interrelationships of plasma glucose concentrations and ascorbic acid (AA) entry into the leucocytes.

The disturbance of ascorbic acid (AA) metabolism in diabetes mellitus may be important in the pathogenesis of diabetic microangiopathy. The levels of AA have been reported to be low in leucocytes of uncontrolled diabetics.

We have investigated plasma AA concentrations and leucocytes - an index of tissues' concen-

trations - in 15 diabetics a) before and b) after AA loading (4 gr Ascorbine IV in 30 minutes) in order to obtain high plasma concentrations.

The subjects were studied on two occasions: while plasma glucose levels are a) below 150 mg/dl and b) over 200 mg/dl).

No statistical differences were found in plasma AA levels ($p > 0.05$) after AA loading between these two occasions. On the other hand leucocytes AA levels were significantly decreased in the second occasion (plasma glucose over 200 mg/dl) ($p < 0.001$).

The inverse relationship between the intracellular concentrations of ascorbic acid and plasma glucose levels might imply reduced uptake from the leucocytes. This may be due to the competition between glucose and AA for the transport system into the leucocytes.

Βιβλιογραφία

1. Staudinger H, Krisch K, Leonhauser S. Role of ascorbic acid in microsomal electron transport and the possible relationship to hydroxylation reactions. *Ann NY Acad Sci* 1961; 92: 195-8.
2. Mapson LW. Ascorbic acid. IX Biochemical systems. *The vitamins* 1967; 1: 386-92.
3. Barnes MJ. Function of ascorbic acid in collagen metabolism. *Ann NY Acad Sci* 1976; 258: 264-75.
4. Myllyla R, Kuuti-Savolainen ER, Kivirikko KI. The role of ascorbate in the prolyl hydroxylase reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 1978; 83: 441-8.
5. Levene CI, Aleo JJ, Prynne CJ, Bates CJ. The activation of proline hydroxylase by ascorbic acid in cultured 3T3 fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 1974; 338: 29-36.
6. Puustola V, Turpeenniemi-Hujanen JM, Myllyla R, Kivirikko KI. Studies on the lysyl hydroxylase reaction. *Biochim Biophys Acta* 1980; 611: 40-50.
7. Levine M. New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N Engl J Med* 1986; 314: 892-902.
8. McLennan S, Yue DK, Fisher E, Capogreco C, et al. Deficiency of ascorbic acid in experimental diabetes: relationship with collagen and polyol pathway abnormalities. *Diabetes* 1988; 37: 359-61.
9. Yue DK, McLennan S, Marsh M, Mai YM, et al. Effects of experimental diabetes, uremia, and malnutrition on wound healing. *Diabetes* 1987; 36: 295-99.
10. Yue DK, Swanson S, McLennan S, Marsh M, et al. Abnormalities of granulation tissue and collagen formation in experimental diabetes, uremia and malnutrition. *Diabetic Med* 1986; 3: 221-5.
11. Yue DK, McLennan SV, Dunwoodie SL, Turtle JR. Prolyl hydroxylase deficiency in diabetic collagen (Abstract) *Diabetes* 1987; 36 (Suppl. 1): 101A.
12. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-26.
13. Jennings PE, Chirico S, Jones AF, et al. Vitamin C metabolites and micro-angiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1987; 6: 131-4.
14. Kador PF, Robison WG, Kinoshita JH. The pharmacology of aldolase reductase inhibitors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25: 691-714.
15. Kador PF, Sharpless WG, Kinoshita JH. Aldose reductase inhibitors: a potent new class of agents for the pharmacological control of certain diabetic complications. *J Med Chem* 1985; 28: 847-9.
16. Kador PF, Kinoshita JH. Role of aldose reductase in the development of diabetes-associated complications. *Am J Med* 1985; 79: 8-12.
17. Vinson JA, Staretz ME, Bose P, Kassim HM, Basalya BS. In vitro and in vivo reduction of erythrocyte sorbitol by ascorbic acid. *Diabetes* 1989; 38: 1036-1041.
18. Ginter E, Zdichynec B, Holzerova O, et al. Hypocholesterolemic effects of ascorbic acid in maturity-onset diabetes mellitus. *Inter J Vit Nutr Res* 1978; 48: 368-71.
19. Κουντουράς Ι, Μαγούλα Ι, Τσάπας Γ. Επίδραση ασκορβικού οξέος στη στάθμη των χολικών αλάτων του ορού ασθενών με χρόνια ηπατική νόσο και μαρτύρων. *Πρακτικά 8ου Παν Συν Γαστρεντερολογίας* 1985: 103-5.
20. Κουντουράς Ι, Μαγούλα Ι, Γουβιάς Α, Τσάπας Γ. Επίδραση ασκορβικού οξέος στη στάθμη των χολικών αλάτων και λιπιδίων ορού ασθενών με χολολιθίαση. *Ιατρική Εν Δυν* 1986; 21: 13-6.
21. Goetz FJ, Wasserman SI, Gight I, Austen KF. Enhancement of random migration and chemotactic response of human leucocytes by ascorbic acid. *J Clin Invest* 1974; 53: 813-8.
22. Anderson R. Ascorbic acid and immune functions. In: Counsell N, Horning DH, eds. *Vitamin C*. London: Applied Science Publishers 1981: 249-72.
23. Μπούρα Π, Παπάζογλου Ν, Μανές Χ, Μαγούλα Ι. Η κινητικότητα των περιφερικών μονοπυρήνων (ΠΜ) ασθενών με ινσουλινοεξαρτώμενο διαβήτη τύπου I (IDDM) και η in vitro επίδραση του ασκορβικού οξέος (ΑΟ). *Ελλ Διαβ Χρονικά* 1989; 2,1: 55-9.
24. Βούρα Ρ, Τσάπας Γ, Παπαδοπούλου Α, Μαγούλα Ι, Κουντουράς Ι. Monocyte locomotion in anergic chronic brucellosis patients: the in vivo effect of ascorbic acid. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 1989; ii: 119-29.
25. Μπούρα Π, Τσάπας Γ, Κουντουράς Ι, Μαγούλα Ι. και συν Η μη ειδική ανοσία και το ασκορβικό οξύ (ΑΟ) στην 3η ηλικία. *1ο Παν Γερ Γηριατ Συν* 1989.
26. Yue DK, McLennan S, Fisher E, Hefferman S, et al. Ascorbic acid metabolism and polyol pathway in diabetics. *Diabetes* 1989; 38: 257-61.
27. Moser U, Weber F. Uptake of ascorbic acid by human granulocytes. *Int J Vit Nutr Res* 1984; 54: 47-53.
28. Μαγούλα Ι, Παπάζογλου Ν, Μανές Χ, Κουντουράς Ι. και συν Ιστοικά αποθέματα της βιταμίνης C στους διαβητικούς ασθενείς: Παρατηρήσεις στην απορρόφησή της από το γαστρεντερικό σύστημα. *Ελλ Διαβ Χρονικά* 1990; 3,2: 92-8.

29. *Hornig D.* Distribution of ascorbic acid, metabolites and analogues in man and animals. *Ann NY Acad Sci* 1975; 258: 103-18.
30. *Kallner A, Hartmann D, Hering D.* Steady-state turnover and body pool of ascorbic acid in man. *Ain J Clin Nutr* 1979; 32: 530-9.
31. *Μαγούλα Ι.* Η επίδραση της περιτοναϊκής διύλισης επί των επιπέδων του ασκορβικού οξέος πλάσματος πασχόντων εκ χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Διδ Διατριβή Θεσ/νίκη 1979.
32. *Tsapas G, Magoula I, Paletas K, Manitsa A, Concouris L.* The effect of peritoneal dialysis (PD) on tissue levels of ascorbic acid (AA). VIII Int Congress of Nephrology (Abstract) 1981; DI-107: 419.
33. *Natelson S.* Microtechniques of clinical chemistry. 2nd eds Springfield Ill. Charles C Thomas 1961; 121.
34. *Denson KW, Bowers EF.* *Clinical Science* 1961; 21: 157-60.
35. *Soni S, Besu D, Mukherjee S, Deb S, et al.* Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. *Metabolism* 1981; 30: 572-7.
36. *Yew MS.* Effect of streptozotocin diabetes of tissue ascorbic acid and dehydroascorbic acid. *Horm Metab Res* 1983; 15: 158.
37. *Chen MS, Hutchinson ML, Pecoraro RE, Lee WYL, Labbé RF.* Hyperglycemia induced intracellular depletion of ascorbic acid in human mononuclear leucocytes. *Diabetes* 1983; 32: 1078-81.
38. *Stankova L, Riddle M, Larned J, Burry K, et al.* Plasma ascorbate concentrations and blood cell dehydroascorbate transport in patients with diabetes mellitus. *Metabolism* 1984; 33: 347-53.
39. *Μαγούλα Ι, Τσάπας Γ, Γαρυφαλλός Α, Παλέτας Κ, Κονκουρής Α.* Τα επίπεδα του ΑΟ πλάσματος και λευκών αιμοσφαιρίων στους ουραιμικούς ασθενείς. *Γαληνός* 1983; 25: 437-44.
40. *Μαγούλα Ι, Τσάπας Γ, Γαρυφαλλός Α, Χαράλαμπίδου Σ, Κλωνιάκης Ι.* L'acide ascorbique leucocytaire chez des malades atteints de leucémie. *Arch Un Méd Bal* 1983; 451.
41. *Μαγούλα Ι, Τσάπας Γ, Γαρυφαλλός Α, Χαράλαμπίδου Σ, Κλωνιάκης Ι.* Το ασκορβικό οξύ των λευκοκυττάρων σε ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία. *Γαληνός* 1990; 32: 159-67.
42. *Bigley R, Wirth M, Layman M, Riddle M, Stankova L.* Interaction between glucose and dehydroascorbate transport in human neutrophils and fibroblasts. *Diabetes* 1983; 32: 545-8.
43. *Verlangieri AJ, Sessito J.* Effect of insulin on ascorbic acid uptake by heart endothelial cell: possible relationship to retinal atherogenesis. *Life Sci* 1981; 29: 1-5.
44. *Berhanu P, Olefsky JM.* Effects of insulin and insulin-like agents on the glucose transport system of cultured human fibroblasts. *Diabetes* 1981; 30: 523-9.
45. *Mann GV, Newton P.* Hypothesis: the role of vit C in diabetic angiopathy. *Percept Biol Med* 1974; 17: 210-7.