DIABETIC VASCULAR DISEASE – CELLULAR AND MOLECULAR APPROACH

DIJABETSKA VASKULARNA BOLEST – ĆELIJSKI I MOLEKULSKI PRISTUP

Danijela Vučević¹, Bojan Jorgačević¹, Drago Đorđević¹, Đorđe Radak^{2,3}, Milica Radosavljević¹, Darija Lalić⁴

Summary

The term diabetes mellitus refers to a state of chronic hyperglycemia due to absolute or relative deficiency of insulin secretion with disordered metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. More than 35 million people in Europe are diagnosed with diabetes. In 2030, it is expected that this figure will rise to 43 million. According to the International diabetes federation (IDF), more than 415 million people around the world are diagnosed with diabetes, and in 2040, IDF estimates that 642 million people will have diabetes. The metabolic syndrome (cluster of more or less related metabolic and cardiovascular derangements including visceral obesity, insulin resistance, dyslipidemia, hypertension and glucose intolerance) significantly contributes to development of diabetes mellitus type 2. This syndrome is characterized by a primary cellular defect in insulin action due to disorders in insulin signal transduction (insulin is unable to achieve its biological effects adequately). Under these conditions, insulin resistance in combination with hyperinsulinemia causes numerous metabolic and cardiovascular disorders that are a leading cause of morbidity and mortality worldwide. Thus, 65% of people with diabetes around the world die from cardiovascular disease. Besides, this serious condition is manifested by development of chronic angiopathic complications, such as microangiopathy and atherosclerosis. Atherosclerosis is a progressive, multifactorial, diffuse, multisystemic, chronic, inflammatory disease, which is manifested by disorders of vascular, immune and metabolic system. Pathogenesis of accelerated atherosclerosis in people with diabetes is not fully understood. Endothelial dysfunction is recognized as the crucial step in atherogenesis. A lot of studies have confirmed the role of dyslipidemia, hyperglycemia, oxidative stress and various mediators of inflammation in initial proatherogenic processes. After foam cell formation, mediators of inflammation initiate a series of intracellular events that include the induction of inflammatory cytokines. Thus, a vicious circle of inflammation, modification of lipoproteins and further inflammation can be maintained in the artery. Inflammatory process, matrix-degrading metalloproteinases activity, platelets aggregation and smooth muscle cells proliferation play a central role in development of fibrotic plaque. It has been shown that inflammation is closely related to the development of atherosclerotic plaque rupture. Having in mind an increase in diabetic vascular disease prevalence in future, it is necessary to take preventive actions to decrease the risk factors (inappropriate diet rich in carbohydrates and saturated fatty acids, smoking, sedentary lifestyle and physical inactivity). Apart from lifestyle changes, the usage of hypocaloric diet and increasing the level of physical activity, in patients with diabetic vascular disease, it is necessary to apply psychoeducation, as well as appropriate cognitive behavioral and medical therapy. However, although various studies related to this health problem have been carried out, scientists are still far from a complete understanding of the cellular and molecular basis of this problem.

Keywords: diabetic vascular disease, insulin resistance, atherosclerosis, inflammation

Sažetak

Šećerna bolest (diabetes mellitus / *diabetes mellitus*) se definiše kao stanje hronične hiperglikemije nastale usled apsolutnog ili relativnog nedostatka insulina, koje dovodi do poremećaja metabolizma ugljenih hidrata, lipida i proteina. Preko 35 miliona ljudi u Evropi boluje od dijabetesa, a procenjuje se da će do 2030. godine 43 miliona ljudi oboleti od ove bolesti. Prema aktuelnim podacima Međunarodnog udruženja za dijabetes (*International diabetes federation / IDF*), od dijabetesa boluje više od 415 miliona ljudi širom sveta, a očekuje se da taj broj do 2040. godine poraste na 642 miliona. Metabolički sindrom (udružena pojava visceralnog tipa gojaznosti, insulinske rezistencije, dislipidemije, hipertenzije i intolerancije glukoze) značajno doprinosi razvoju dijabetesa melitusa tip 2. Ovaj sindrom prevashodno karakteriše primarni ćelijski defekt dejstva insulina, tj. insulin usled defekta u signalnoj transdukciji nije u mogućnosti da ostvari svoje biološke efekte. U takvim uslovima, insulinska rezistencija u kombinaciji sa posledičnom hiperinsulinemijom izaziva brojne metaboličke i kardiovaskularne poremećaje koji predstavljaju vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta u svetu. Tako je ustanovljeno da 65% ljudi sa dijabetesom u svetu umire od kardiovaskularnih oboljenja. Osim toga, ovo teško stanje odlikuje razvoj hroničnih angiopatskih komplikacija, kao što su mikroangiopatija i ateroskleroza. Ateroskleroza je progresivna, višefaktorska, difuzna, multisistemska, hronična, zapaljenjska bolest kod koje postoji poremećaj vaskularnog, imunskog i metaboličkog sistema. Patogeneza ubrzane ateroskleroze u dijabetičara nije do kraja razjašnjena. Disfunkcija endotela ima bitnu ulogu u aterogenezi. Brojne studije su potvrdile ulogu dislipidemije, hiperglikemije, oksidacijskog stresa i različitih medijatora zapaljenja u početnim proaterogenim procesima. Nakon stvaranja penastih ćelija, medijatori zapaljenja iniciraju seriju intracelularnih događaja koji uključuju indukciju inflamacijskih citokina. Tako se može održavati začarani krug zapaljenja, modifikacije lipoproteina i daljeg zapaljenja u arteriji. Inflamacijski proces, aktivnost matriks metaloproteinaza, agregacija trombocita i proliferacija vaskularnih glatkih mišićnih ćelija imaju glavnu ulogu u razvoju fibroznog plaka. Dokazano je da je zapaljenje tesno povezano s razvojem rupture ateroskleroznog plaka. Imajući u vidu tendenciju sve većeg porasta prevalencije dijabetičke vaskularne bolesti u narednim decenijama, neophodno je posebnu pažnju usmeriti na preduzimanje preventivnih mera za suzbijanje faktora rizika na koje se može uticati (neadekvatna ishrana bogata ugljenim hidratima i zasićenim masnim kiselinama, pušenje, sedentarni način života i fizička neaktivnost). Osim promene stila života, primene hipokalorijske dijeta i povećanja fizičke aktivnosti, kod obolelih od dijabetičke vaskularne bolesti važna je i psihoedukacija, kao i primena odgovarajuće kognitivno-bihevioralne i medikamentne terapije. Međutim, uprkos raznim istraživanjima ovog zdravstvenog problema, naučnici su još uvek daleko od potpunog razumevanja njegove ćelijske i molekulske osnove.

Ključne reči: dijabetička vaskularna bolest, insulinska rezistencija, ateroskleroza, inflamacija

Uvod

Ateroskleroza predstavlja zaštitni, zapaljenjsko-proliferacijski odgovor usmeren prema različitim asgensima koji mogu da prouzrokuju bolest. Ako se iritacija (lezija) održava prekomerno dugo, ona postaje naglašena, odnosno postaje bolest sama po sebi.

Rasel Ros (15)

Šećerna bolest (dijabetes melitus /*diabetes mellitus*/) svakih šest sekundi odnese jedan život, a dve osobe u svetu obole od ove bolesti (1). Dijabetes je oboljenje evolutivnog toka, velike učestalosti, zbog čega se u savremenoj literaturi označava kao pandemijski problem morbiditeta i mortaliteta (2). Definiše se kao stanje hronične hiperglikemije, nastale usled apsolutnog ili relativnog nedostatka insulina, koje dovodi do poremećaja metabolizma ugljenih hidrata, lipida i proteina, a kao jednu od dominantnih posledica ima razvoj hroničnih angiopatskih komplikacija u vidu mikroangiopatije i ateroskleroze (Shema 1) (3).

Dijabetes i kardiovaskularne bolesti su uzročnici više od 60% smrtnih slučajeva u svetu (4). Preko 35 miliona ljudi u Evropi boluje od dijabetesa, a procenjuje se da će do 2030. godine 43 miliona ljudi oboleti od ove bolesti (5). U Srbiji 710000 ljudi ima dijabetes, a to je ujedno i peti vodeći uzrok smrti u našoj zemlji. Čak 90% ovih

pacijenata boluje od dijabetesa tip 2, a zbog blagih simptoma bolesti trećina njih i ne zna da su oboleli (6).

Prema aktuelnim podacima Međunarodnog udruženja za dijabetes (*International diabetes federation-IDF*), od dijabetesa boluje više od 415 miliona ljudi širom sveta, a očekuje se da taj broj do 2040. godine poraste na 642 miliona. Svake godine broj obolelih od dijabetesa tip 1 (prema prethodnoj klasifikaciji označen kao insulin zavisni dijabetes) poraste za tri procenta (7). Ovaj tip dijabetesa pogađa decu u najranijem uzrastu (8). Javlja se naglo, često i kod zdravih i vitkih ljudi. Iako još uvek nema prevencije i spada u grupu hroničnih autoimunskih bolesti, stručnjaci u samom startu savetuju insulin-sku terapiju (3, 8).

Najčešća forma dijabetesa je tip 2 (prema prethodnoj klasifikaciji označen kao insulin nezavisni dijabetes), jer devetoro od deset ljudi ima upravo ovaj tip dijabetesa (9). Dijabetes tip 2 je progresivna bolest, koja sve više pogađa mlade i osobe između 35. i 64. godine. Karakteriše se dugim asimptomatskim predijabetesnim stanjem, koje može da traje godinama (3, 9). Za njegov nastanak su, pored starenja populacije, uglavnom odgovorni nepravilna ishrana, sedentarni način života i nasledna osnova (1, 3, 4, 7). Povećana prevalencija dijabetesa kod radno aktivnog stanovništva, zbog dugotrajnog toka bolesti i priranih komplikacija višestruko povećava troškove lečenja (2, 6, 9).

Shema 1. Dijabetska vaskularna bolest

Metabolički sindrom predstavlja udruženu pojavu intolerancije glukoze, arterijske hipertenzije, dislipidemije, centralnog (abdominalnog /visceralnog/) tipa gojaznosti, kao i postojanje drugih metaboličkih poremećaja u čijoj se osnovi nalazi insulinska rezistencija (10). Ovaj sindrom prevashodno odlikuje primarni ćelijski defekt dejstva insulina, tj. insulin usled neadekvatne signalne transdukcije nije u mogućnosti da ostvari svoju biološku ulogu (10, 11). U takvim uslovima insulinska rezistencija u kombinaciji sa posledičnom hiperinsulinemijom izaziva brojne hronične masovne nezarazne bolesti (dijabetes melitus tip 2, arterijska hipertenzija, ubrzana ateroskleroza sa svojim kardiovaskularnim i cerebrovaskularnim komplikacijama /hemodinamičke znatne stenozе krvnih sudova, fisure, rupture, hemoragije, tromboza, embolija, i dr./, nealkoholna masna bolest jetre /NAFLD, engl. *nonalcoholic fatty liver disease*, sindrom policističnih ovarijuma i pojedine maligne bolesti /karcinom dojke, i dr./), koje imaju pandemijski karakter i predstavljaju vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta u svetu (11). Ovaj veoma čest skup patofizioloških poremećaja koji imaju metaboličko poreklo, označen još kao sindrom X i sindrom insulinske rezistencije, prisutan je kod približno svake četvrte odrasle osobe (12). On ujedno predstavlja faktor rizika za razvoj bolesti srca i krvnih sudova, pa se zbog toga naziva "smrtonosni kvartet" (11). Štaviše, metabolički sindrom je najviše odgovoran za razvoj kardiovaskularnih oboljenja u poslednjoj deceniji (12).

Osobe sa metaboličkim sindromom imaju dva puta veći rizik za nastanak mortaliteta usled kardiovaskularnog oboljenja i tri puta veći rizik da obole od infarkta miokarda ili moždanog udara u odnosu na zdrave osobe (11). Uz to, ove osobe imaju i višestruko veći rizik da obole od dijabetesa tip 2 (11, 13). Takođe, sve komponente metaboličkog sindroma su nezavisni uzročnici kardiovaskularnih događaja, kao što su moždani udar, kardiomiopatija, bolest koronarnih arterija, infarkt miokarda, srčana insuficijencija i iznenadna srčana smrt (11). Ustanovljeno je, takođe, da 65% ljudi sa dijabetesom u svetu umire od kardiovaskularnih oboljenja (7).

INSULINSKA REZISTENCIJA I ATEROSKLEROZA

Ateroskleroza je proces koji uzrokuje otvrdnuće i suženje arterija. U zavisnosti od lokalizacije, stepena suženja, anatomskih karakteristika vaskularne mreže i dužine trajanja okluzije, ateroskleroza i ishemija tkiva koju ona izaziva najčešće mogu prouzrokovati infarkt miokarda, moždani udar i perifernu vaskularnu bolest (14). Aterosklerozi se s razlogom pridaje veliki značaj na svim nivoima medicinskog istraživanja, s obzirom da njene posledice prouzrokuju smrt više od 19 miliona ljudi godišnje (4). Međutim, uprkos posebnoj pažnji koja se posvećuje proučavanju ateroskleroze, pokretač primarnog patološkog događaja još uvek je nepoznat. U tom smislu, posebno polje istraživanja predstavlja

Shema 2. Rani događaji u aterogenezi ((15) modifikovano)

inflamacija, imajući u vidu ulogu koju ona ima u svim stadijumima aterogeneze (endotelnoj disfunkciji, masnoj mrlji, tranzitornoj leziji, fibroznom plaku i komplikovanoj leziji) (14). S tim u vezi, prema savremenom poimanju, ateroskleroza se definiše kao progresivna, polifaktorska, difuzna, multiorganska, hronična zapaljenska bolest kod koje postoji poremećaj vaskularnog, imunskog i metaboličkog sistema (14-16).

Moderan način ishrane (visok procenat šećera, masti i razni aditivi u hrani) i njen izmenjen hrononutritivan ritam čine da je ljudska populacija u zemljama u tranziciji i u ekonomski razvijenim zemljama u postprandijalnom stanju tokom celog dana (17). U postprandijalnom periodu dolazi do porasta nivoa inflamacijskih citokina, aktivacije imunskog sistema i oksidacijskog stresa (16, 17). Ova hronična aktivacija imunskog sistema, uzrokovana prekomernom ishranom, može se uočiti i pre kliničkih manifestacija gojaznosti. Pored toga, stanje hronične inflamacije predstavlja zajednički faktor u procesima ubrzane aterogeneze, insulinske rezistencije i gojaznosti. Ova inflamacija je niskog stepena i manifestuje se dvostrukim ili trostrukim porastom nivoa citokina, kao što su faktor tumorske nekroze alfa (TNF α), interleukin-6 (IL-6) i C reaktivni protein (CRP) (16). Povećan broj i kvalitativna izmenjenost ćelija masnog tkiva u gojaznosti može dovesti do hronične aktivacije imunskog sistema sa posledičnim razvojem insulinske rezistencije, metaboličkog sindroma i dijabetes melitusa tip 2 (16, 18).

Pokazano je da je gojaznost kod adolescenata i odraslih osoba povezana sa učestalom pojavom ranih ateroskleroznih lezija (Shema 2) (11, 19).

Tako je, na primer, ateroskleroza koronarnih krvnih sudova ubrzana različitim mehanizmima koji su karakteristični za stanja gojaznosti (pojačan tonus simpatičkog autonomnog nervnog sistema, naglašeno prisustvo slobodnih masnih kiselina u cirkulaciji, povećan intravaskularni volumen i napregnutost vaskularnog zida, inflamacija i promene lipoproteina koje povećavaju aterogeni potencijal, i dr.) (11). Pored toga, poznato je da povećane količine insulina kod obolelih od metaboličkog sindroma, trudnica sa gestacijskim dijabetesom i dijabetičara (bolesnika sa dijabetesom tip 2, kao i onih sa tipom 1 ove bolesti, naročito sa manifestnom mikroalbuminurijom) deluju direktno na zid krvnog suda, dovodeći do nakupljanja lipida i bubrenja medije arterijskog zida (10, 11, 18, 20). Istovremeno insulin uzrokuje proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija, pa na taj način deluje kao faktor rasta (11, 21). Takođe, pokazano je da se vazodilatacijsko dejstvo insulina može potpuno blokirati primenom inhibitora azot monoksida sintaze (NOS), što sugeriše da se vazodilatacijski efekat insulina dominantno ostvaruje preko azot monoksida (NO). Tako, u fiziološkim uslovima povećavanjem nivoa NO putem fosfatidil-inozitol-3 (PI3) kinazne aktivacije,

insulin ublažava inflamacijsku reakciju endotela, inhibirajući ekspresiju adhezivnih molekula i smanjujući aktivnost inflamacijskih citokina, što se interpretira kao njegovo antiaterogeno delovanje (11, 13). Međutim, u uslovima insulinske rezistencije stimulisan je *ras* mitogen aktivirani signalni put protein kinaze (MAP), tako da insulin ispoljava svoj aterogeni efekat (stimulacija ekstracelularne produkcije matriksa, ćelijski rast, mutacije u endotelu, i dr.). U takvim uslovima insulin stimuliše i produkciju inhibitora aktivatora plazminogena-1 (PAI-1) u vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama, čime se inhibira fibrinoliza (13). Pokazano je, takođe, da kod osoba sa insulinskom rezistencijom postoji sinergizam između hiperinsulinemije i hiperlipidemije u odnosu na redukovanu elastičnost zida krvnog suda (11, 13, 18). Generalno posmatrano, progresija ateroskleroze kod osoba obolelih od metaboličkog sindroma i šećerne bolesti se objašnjava gubitkom insulinskih efekata koji se ostvaruju posredstvom PI3 kinaznog puta, pri čemu je očuvana stimulacija MAP kinaznog puta, koja dovodi do proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija, povećane produkcije endotelina-1 (ET-1), kolagena, faktora rasta i proinflamacijskih citokina (10, 11, 13, 16).

ENDOTELNA DISFUNKCIJA

Pobornici inflamacijske teorije aterogeneze ističu ulogu disfunkcije endotela u inflamaciji kao ključnog faktora u nastanku ateroskleroze (15). Prema ovom konceptu morfološki i funkcijski očuvan vaskularni endotel predstavlja dinamički autokrini i parakrini organ, koji putem svojih biološki aktivnih produkata (Tabela 1) učestvuje u modulaciji sudovnog tonusa i održavanju vaskularne homeostaze (Shema 3) (14).

Tabela 1. Najznačajnije biološki aktivne supstance koje oslobađa endotel

Vazodilatacijski i vazokonstriksijski faktori	Azot monoksid (NO); Prostaglandin; Bradikinin; Endotelni hiperpolarišući faktor (EDRF); Angiotenzin; Endotelin; Tromboksan
Faktori rasta	Trombocitni faktor rasta (PDGF); Insulinu sličan faktor rasta (IGF); Transformišući faktor rasta (TGF); Bazni faktor rasta fibroblasta (bFGF)
Faktori koagulacije i fibrinolize	Trombomodulin; Heparin; Protein C; Protein S; Glikozaminoglikani; Tkivni aktivator plazminogena (tPA); Urokinaza; fon Vilebrandov faktor (vWF); Faktor V; Inhibitor aktivatora plazminogena (PAI); Tkivni faktor (TF)
Modulatori inflamacijskog i imunskog odgovora	Selektini; Intracelularni adhezivni molekuli (ICAMs); Vaskularni ćelijski adhezivni molekuli (VCAMs); Trombocitni adhezivni molekuli (PECAMs); Citokini; Faktor tumorske nekroze α (TNF α)

Shema 3. Uloga endotela

Nasuprot tome, u patološkim uslovima vaskularna homeostaza je narušena favorizovanjem vazokonstrikcije, tako da se arhitektonika krvnih sudova menja i omogućava nastanak morfoloških promena u njihovim zidovima, odnosno nastanak ateroskleroze (15). U tom smislu najnovija istraživanja ukazuju da morfološki normalne arterije sa funkcijski izmenjenim odgovorom endotela (endotelnom disfunkcijom), predstavljaju ciljno mesto rane ateroskleroze (Shema 1, 2) (11, 13, 14, 16).

Primarno oštećenje endotela može biti izazvano mehaničkim (arterijska hipertenzija), metaboličkim (homocistein), endokrinim (kateholamini), imunskim, inflamacijskim i drugim činiocima (14). Na endotelu se tom prilikom povećava ekspresija specifičnih molekula, koji su odgovorni za adheziju, migraciju i akumulaciju monocita i T limfocita (14, 16).

Tako su u uslovima insulinske rezistencije prisutna početna mikrovaskularna i makrovaskularna oštećenja kojima prethodi endotelna disfunkcija. U takvim uslovima u endotelu se zapaža poremećaj produkcije NO, koji je udružen sa poremećajem ravnoteže vaskularnih faktora, naročito odnosa između NO i ET-1 (11). Zatim početno oštećenje endotela uzrokuje povećanu produkciju solubilnih vaskularnih ćelijskih adhezivnih molekula (sVCAM), intracelularnih adhezivnih molekula (ICAM, /engl. *intercellular adhesion molecules*/), ET-1, selektina, trombomodulina, fon Vilebrandovog (*von Willebrand*) faktora, i dr., koju mnogi naučnici danas vide kao „markere endotelne aktivacije“ (11, 13, 15, 16).

Adhezija mononuklearnih ćelija iz krvi (monocita i T limfocita) za vaskularne endotelne ćelije posredovana je ICAM-1 i VCAM-1 molekulima na endotelnim ćelijama i LFA-1 (leukocitni funkcijski antigen-1) i VLA-4 (engl. *very late antigen-4 molecule*) molekulima na mononuklearnim ćelijama (14, 15). S obzirom na to da se antitelima koja su usmerena protiv ICAM-1 i VCAM-1 ne sprečavaju u potpunosti adhezivni procesi, pretpostavlja se učešće i drugih molekula u ovim procesima (14).

Aktivacija monocita i T limfocita dovodi do ushodne regulacije receptora na njihovoj površini, kao što su mo-

lekuli nalik mucinu (engl. *mucin-like molecules*), koji se vezuju za selektine, integrini, koji se vezuju za adhezivne molekule iz superfamilije imunoglobulina i receptori koji se vezuju za hemotaksijske molekule. Ove ligand-receptor interakcije dalje aktiviraju mononuklearne ćelije, indukuju ćelijsku proliferaciju i pomažu u definisanju i lokalizaciji inflamacijskog odgovora na mestu lezije.

Poznato je, takođe, da adhezija monocita i T limfocita može nastati nakon povećanog ispoljavanja jednog ili više adhezivnih molekula, koji mogu delovati sinergistički sa hemotaksijskim molekulima (monocitnim proteinom hemotakse-1 /MCP-1, engl. *monocyte chemotactic protein-1*/, osteopontinom, interleukinom-8 /IL-8/ ili modifikovanim lipoproteinima male gustine /LDL, engl. *low density lipoproteins*/) (15).

Danas najveći broj naučnika smatra da je aktivacija endotela indukovana dislipidemijom inicijalni stadijum koji pokreće ateroskleroznu kaskadu (1, 11, 13-16, 18). Pokazano je da kada se površina endotelne ćelije izloži povećanim nivoima holesterola, funkcijske promene se prvo javljaju u fokalnim područjima endotela (14). One su praćene povećanim preuzimanjem specifičnih peroksidaza i LDL molekula, čime se zatvara krug pozitivne povratne sprege i započinje aterogeneza (1, 13).

Pokazano je, takođe, da posle uvođenja dijeta bogate holesterolom vrlo brzo dolazi do fokalne ekspresije VCAM-1 na predilekcionim mestima (13, 14). Pored toga, sastojak modifikovanih lipoproteina, lizofosfatidilholin, aktivira prepisivanje gena za VCAM-1 u endotelne ćelije. Lipoprotein(a), međutim, indukuje pojavu ICAM-1 na endotelnim ćelijama, dok ne utiče na ispoljavanje VCAM-1 i E-selektina. Uz to, i nativni LDL molekuli, vezujući se za LDL receptor, povećavaju koncentraciju VCAM-1 i E-selektina na humanim vaskularnim endotelnim ćelijama (14). S druge strane, ekspresiju ovih molekula izazivaju i pojačavaju TNF α i interleukin-1 β (IL-1 β), koji vode poreklo ili iz cirkulacije, ili iz samog vaskularnog zida (16). Ovi molekuli, koji predstavljaju deo postojeće lokalne ili sistemske inflamacijske reakcije, osim podsticanja ekspresije adhezivnih molekula, dovode do promena prokoagulacijskih i fibrinolitičkih karakteristika endotela, pri čemu površina endotela postaje trombogena (14).

Menjajući morfološke osobine endotela, ovi citokini utiču i na produkciju NO i prostaciklina i indukuju endotel na sintezu drugih citokina, čime se njihovo proinflammacijsko delovanje pojačava (16). Kao aktivatori endotelne ćelije, IL-1 i TNF α indukuju sintezu specifičnih membranskih glikoproteina i dovode do preraspodele citoskeleta endotelne ćelije. IL-1 i TNF α takođe stimulišu endotelne ćelije da stvaraju IL-8, koji snažno privlači i aktivira leukocite. Ulazak leukocita kroz morfološki intaktan endotel uključuje i direktnu migraciju kao odgovor na druge citokine, tzv. hemokine (14). U

ranoj fazi aterogeneze to su MCP-1, koji je lokalizovan u ateroskleroznoj leziji, IL-8, interleukin-16 (IL-16) i peptidni fragment komplementa (C5a), koji se oslobađa u hiperholesterolemiji (14, 16).

U novijoj literaturi se navodi mogućnost aktivacije endotela kao posledice prepoznavanja antigena na endotelnim ćelijama od strane senzibilisanih T limfocita (13, 14, 16). Od velikog značaja u mogućoj specifičnoj imunskoj reakciji je prisustvo molekula glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (MHC–engl. *major histocompatibility complex*) klase II (molekula u okviru koga se prezentuju antigeni) i CD28 molekula (aktivacijskog kostimulacijskog molekula) na endotelnim ćelijama, zahvaljujući kojima one mogu da aktiviraju memorijske T limfocite. Poznato je, takođe, da humane endotelne ćelije podstiču T limfocite da oslobađaju interleukin-2 (IL-2) i interferon g (IFN γ), kao i da taj efekat nije posredovan preko CD28 molekula (14).

HIPERGLIKEMIJA

Hiperglikemija je okidač kaskadnih mehanizama koji dovode do oštećenja endotela krvnih sudova. Ona dovodi do promene funkcije oksidacijskih sistema stvarajući u vaskulaturi milje skon oksidaciji, čime se inhibira proliferacija endotelnih ćelija, tj. ometa reparacija oštećenja endotela. Takođe, hiperglikemija povećava adhezivnost trombocita stimulišući sintezu tromboksana, a smanjujući sintezu prostaciklina (3). Osim toga, hiperglikemija povećava sintezu diacilglicerola (DAG), i na taj način intracelularno dovodi do aktivacije signalnog sistema PKC. Shodno tome, dolazi do povećane produkcije endotelnih faktora rasta, kao što su vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor*), epidermni faktor rasta (EGF, engl. *epidermal growth factor*) i transformišući faktor rasta beta (TGF β , engl. *transforming growth factor β*), koji potom dovode do migracije i proliferacije VGMĆ (11). Uz to, prekomerna ekspresija faktora rasta, koja nastaje pod uplivom hiperglikemije, doprinosi nastanku i razvoju novih krvnih sudova (neovaskularizacija /angiogeneza/) (11, 22). Važna posledica hiperglikemije je i povećana neenzimska glikacija belančevina (proces u kojem se glukoza hemijski veže za proteine bez uticaja enzima). Pokazano je da glikacija belančevina plazme ubrzava razvoj ateroskleroze u bolesnika sa insulinskom rezistencijom i dijabetesom. Kod ovih bolesnika stabilno glicirane belančevine plazme vežu se na odgovarajuće receptore na membranama endotelnih ćelija i monocita, što zatim aktivira ove ćelije (Shema 1) (11).

POREMEĆAJI LIPIDA I LIPOPROTEINA

Dijabetes je često udružen s poremećajem metabolizma lipida, pri čemu mehanizam nastanka tih poremećaja

zavisi od tipa dijabetesa. Kod obolelih od dijabetesa tip 1 lipidi u krvi su obično normalni kada je terapija insulinom odgovarajuća. Međutim, kada je terapija neadekvatna ili pre započinjanja terapije insulinom dolazi do pojave izrazite hipertrigliceridemije, uz relativno često istovremeno povećanje nivoa ukupnog holesterola i LDL (18). U takvim uslovima, u kojima dominira apsolutni i/ili relativni nedostatak insulina povećano je oslobađanje masnih kiselina iz adipocita, iz kojih se u jetri sintetišu trigliceridi (TG), tako da je zbog toga u hepatocitima povećano stvaranje lipoproteina vrlo male gustine (VLDL, engl. *very low density lipoproteins*) (3, 18).

S druge strane, u perifernim tkivima je zbog nedostatka insulina smanjena aktivnost lipoproteinske lipaze (LPL), a time i razgradnja VLDL, što za posledicu ima povećanje VLDL u krvi i nastanak izrazite hipertrigliceridemije (18). Pored toga, glikozilacija (ugradnja šećera u proteine) dovodi do smanjenja aktivnosti receptora za LDL (LDLR) i nagomilavanja LDL čestica u cirkulaciji (Shema 1, 2) (3, 18). Osim toga, hiperglikemija je okidač kaskadnih mehanizama koji dovode do oslobađanja reaktivnih kiseoničkih vrsta (RKV), pa se na taj način dodatno ubrzava i olakšava aterogeneza.

Hipertrigliceridemija je takođe ispoljena u preko 50% bolesnika koji imaju dijabetes tip 2, s obzirom da rezistencija na insulin snažno stimuliše jetru na lučenje povećane količine TG i VLDL (18). Prisutna je i hiperholesterolemija, koja se dovodi u vezu sa smanjenom sposobnošću izmenjenih LDL čestica (najzastupljenija je izrazito aterogena subpopulacija LDL3) za vezivanje za specifične receptore (3, 18).

Aterogenom lipidnom profilu ovih bolesnika pridonosi i naglašeno sniženje lipoproteina velike gustine (HDL, engl. *high density lipoproteins*) u krvi (18). Značajno je da lipoproteinski poremećaji mogu perzistirati i posle postizanja dobre metaboličke kontrole dijabetesa, tj. u fazama bolesti koje odlikuje dobra glikoregulacija. Osim toga, trajno visoki nivo TG viđa se u gojaznih dijabetičara i u onih koji imaju porodičnu formu hipertrigliceridemije (3, 18). U tim slučajevima, pored lečenja dijabetesa, potrebna je i medikamentna terapija hiperlipidemije (18).

Štetan efekat izmenjenog lipidnog i lipoproteinskog profila na endotelnu funkciju obolelih od metaboličkog sindroma i dijabetesa (hipertrigliceridemija, porast LDL i sniženje HDL dokumentovan je nizom istraživanja, koja su pokazala da je vazodilatacija krvnog suda u negativnoj korelaciji sa povišenim nivoom TG i LDL čestica, odnosno sniženim nivoom HDL partikula (3, 11). Ustanovljeno je, takođe, da hipertrigliceridemija dovodi do porasta koncentracije selektina i adhezivnih molekula (VCAM-1 i ICAM-1), kao i poremećaja permeabilnosti endotelnih ćelija (11). Uz to, LDL čestice, postaju podložne oksidacijskoj modifikaciji, inhibirajući stvaranje NO.

Istovremeno, oksidovane LDL čestice (oxLDL) aktivacijom citokina mogu da stimulišu proizvodnju solubilnih adhezivnih molekula (11, 15). Takođe, ove čestice moduliraju prostaglandin I₂/tromboksan A₂ (PGI₂/TXA₂) odnos, uzrokujući protrombogeno stanje (11). Osim toga, u stanjima hiperglikemije nastaje glikacija LDL čestica, koja zatim olakšava vezivanje ovih čestica za receptore čistače na membranama makrofaga i vaskularnih glatkih mišićnih ćelija, što doprinosi ubrzanju aterogenezi (11, 18). Takođe, povećana koncentracija citokina koje proizvode makrofagi i vaskularne glatke mišićne ćelije potom podstiče proliferaciju endotela kapilara i time razvoj mikroangiopatije (11) (Shema 1).

Masne mrlje (žuto prebojene, ravne lezije veličine do nekoliko milimetara), koje se razvijaju na području lokalizovane endotelne disfunkcije, predstavljaju akumulacije penastih ćelija, uglavnom makrofaga bogatih lipidima, a u manjoj meri glatkih mišićnih i endotelnih ćelija (14). Inicijalni događaj u nastanku penastih ćelija, a time i masnih mrlja, izgleda da je vezan za interakciju monocita i makrofaga iz krvi i endotelnih ćelija (Shema 2) (15).

Hiperholesterolemija udružena sa povišenim nivoima aterogenih lipoproteina LDL i VLDL u krvi, vodi ka hroničnom prisustvu LDL čestica u arterijskom zidu (15, 18). Takvo stanje pogoduje stvaranju masnih mrlja, jer je ulazak lipida u subendotel veći od njihovog odstranjivanja iz arterijskog zida (14). Poznato je da nastanak penastih ćelija određuju lokalna sekrecija citokina i dostupnost modifikovanih lipoproteina, koji se vezuju za specifična mesta na površini makrofaga označena kao receptori "čistači" klase A (SRA, engl. *scavenger receptors class A*). Time se naglašava značaj lokalne inflamacijske reakcije u arterijskom zidu, jer RKV, koje se tom prilikom stvaraju, modifikuju kako lipoproteine, tako i produkciju citokina. Pokazano je da mononuklearne fagocitne ćelije još u krvi mogu fagocitovati u manjem obimu native, a u većoj meri izmenjene LDL čestice nakon njihovog vezivanja za SRA. Međutim, ove čestice mogu prodrati direktno u subendotel, gde podležu fagocitozi, pri čemu važnu ulogu imaju SRA. Ovi receptori, koji posreduju u preuzimanju i razgradnji modifikovanih LDL čestica, ne funkcionišu po principu negativne povratne sprege, tako da i kada se akumulira velika količina lipidnih partikula u ćeliji, ona i dalje nastavlja da ih unosi. Na taj način nastaju preko svake mere lipidima opterećene ćelije, koje su zbog svog izgleda nazvane penaste ćelije (14, 15). U ovoj fazi razvoja masnih mrlja veliki broj penastih ćelija migrira nazad u cirkulaciju.

Smatra se da taj proces ima zaštitnu ulogu u inflamacijskom odgovoru i da služi za "čišćenje" zidova krvnih sudova od naslaga lipida koji su iz cirkulacije prodrli u subendotel (15). Do progresije rasta masnih mrlja, a time i progresije procesa ateroskleroze, dolazi u uslovima kontinuirane inflamacije (14, 16). Tada LDL čestice, čija je koncentracija u krvi povećana, procesom pasiv-

ne difuzije prelaze iz cirkulacije u intimu krvnog suda, gde ih "zarobljavaju" glikozaminoglikani, a RKV izlažu svom dejstvu (14, 16). LDL čestice postaju vrlo osetljive na različite stimuluse i mogu biti modifikovane oksidacijom, glikozilacijom ili inkorporacijom u imunske komplekse (14).

U eksperimentalnom modelu ateroskleroze indukovane dijetom bogatom holesterolom monociti su prve ćelije koje se nalaze uz endotel (15). One, zatim, migriraju u subendotelni prostor, "gutaju" oksidovani holesterol i pretvaraju se u penaste ćelije (Shema 2) (14, 15).

Oksidacijska modifikacija LDL čestica, koja se odvija u dve faze, započinje konverzijom holesterol estara i fosfolipida u hidroperokside, izoprostane i aldehide kratkih lanaca. Ovakav LDL molekul se naziva minimalno modifikovan LDL, jer trpi minimalne promene na apolipoproteinu B i vezuje se za receptore koji internalizuju native LDL molekule. Osim toga, minimalno modifikovan LDL može stimulisati endotelne ćelije da sekreciju MCP-1 i faktor stimulacije kolonija makrofaga (M-CSF, engl. *macrophage colony stimulating factor*).

U drugoj fazi oksidacije LDL čestica dolazi do daljih strukturnih promena proteinskih komponenti molekula, uključujući modifikaciju apolipoproteina B i stvaranje lizofosfatidilholina (15). Eksperimentalno je dokazano da oksidovani lipoproteini male gustine (oxLDL) i lizofosfatidilholin mogu aktivirati PKC u endotelnim ćelijama, čime se inhibira stvaranje NO i pogoršava već postojeća endotelna disfunkcija (14, 16).

Sposobnost oxLDL molekula da indukuje akumulaciju holesterola u makrofagima bila je njegova prva opisana proaterogena osobina. Ostali proaterogeni efekti oxLDL čestica, koji se odnose na endotelne ćelije, uključuju ekspresiju faktora rasta koji deluju na vaskularne glatke mišićne ćelije, stvaranje superoksidnih anjona i apoptozu endotelnih ćelija (14).

Potvrđeno je da inflamacijski odgovor utiče na kretanje lipoproteina unutar arterijskog zida. Medijatori inflamacije (TNF α , IL-1 i M-CSF) povećavaju vezivanje LDL za endotel i vaskularne glatke mišićne ćelije. Posle vezivanja za SRA *in vitro*, modifikovana LDL čestica inicira seriju intracelularnih događaja, među kojima aktivacija urokinaze i inflamacijskih citokina ima značajnu ulogu. Na taj način, zahvaljujući prisustvu ovih lipida, u arteriji se može održavati začarani krug inflamacije, modifikacije lipoproteina i dalje inflamacije (14). S tim u vezi, LDL molekuli povećavaju ekspresiju SRA na makrofagima i tako u uslovima inflamacije olakšavaju nastanak penastih ćelija (14, 15) (Shema 2). Takođe, u nastanku penastih ćelija učestvuju i drugi receptori koji vezuju oxLDL (CD36, makrosijalin /CD68/) i HDL receptor, koji se označava kao SB-1 (11).

Pored makrofaga u stvaranju penastih ćelija učestvuju i vaskularne glatke mišićne ćelije, koje stižu osobine lipofaga. Naime, penaste ćelije luče trombocitni faktor rasta (PDGF, engl. *platelet derived growth factor*), osteopontin i druge faktore rasta i citokine koji stimuliraju proliferaciju i migraciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija u intimu krvnog suda (14).

OKSIDACIJSKI STRES

Oksidacijski stres se definiše kao povećano stvaranje oksidanasa i/ili slabljenje antioksidacijskih zaštitnih mehanizama (11). U stanjima insulinske rezistencije RKV nastaju redukcijom molekulskog kiseonika ili redukcijom vode, formirajući pri tom superoksidne anjone i hidroksilne radikale (Tabela 2) (3, 11). Takođe, NO doprinosi povećanom stvaranju RKV i formiranju reaktivnih azotnih intermedijernih jedinjenja (Tabela 3) (11).

Tabela 2. Reaktivne kiseoničke vrste

Vrsta	Ime	Poreklo
3O ₂	Triplet kiseonika	Stabilni atmosferski oblik
1O ₂	Singlet kiseonika	3O ₂ , peroksidacija
RH	Matični molekul	RH
R*	Slobodni radikal	RH
ROO*	Peroksi radikal	R* + O ₂ , ROOH
*O ₂ H	Hidroperoksi radikal	*O ₂ · + H+
*O ₂ ·	Superoksid anjon radikal	O ₂ + e ⁻
*OH·	Hidroksi radikal	H ₂ O ₂ , H ₂ O
H ₂ O ₂	Vodonik-peroksid	*O ₂ ·, biološko nastajanje
RO*	Alkoksi radikal	ROOH, ROOR
ROOH	Hidroperoksid	ROO·, 1O ₂
ROOR	Peroksid	Peroksidacija
>c/O/c<	Epoksid	Nezasićen ROO* ili ROO*
ArO*	Peroksi i aroksi-radikali	Fenolski antioksidansi

Tabela 3. Biološki aktivni azotovi oksidi

Simbol	Oksidacijsko stanje	Ime	Dejstvo
NO-	+1	Nitroksil anjon	Miorelaksacijsko
N ₂ O	+1	Azot suboksid (oksidul)	Anestetičko
NO	+2	Azot monoksid (azotoksid)	Vazodilacijsko
NO+	+3	Nitrozil katjon (nitrozonijum)	Mutageno, RAV
NO ₂ -	+3	Nitrit	Oksidans
N ₂ O ₃	+3	Azot trioksid	Oksidans, RAV
NO ₂	+4	Azot dioksid	Oksidans
N ₂ O ₄	+4	Azot tetraoksid	RAV
ONOO-	+5	Peroksnitrit	Oksidans, antimitokrobno, RAV
NO ₂ +	+5	Nitril katjon (nitronijum)	Oksidans, RAV
NO ₃ -	+5	Nitrat	Završni proizvod oksidacije

RAV-Reaktivna azotna vrsta

Osim toga, do olakšanog nastanka oksidacijskog stresa u bolesnika sa insulinskom rezistencijom dovode hi-

perglikemija, povišen unos slobodnih masnih kiselina, kao i izlaganje ultravioletnom zračenju (3, 11). Štaviše, hiperglikemija predstavlja glavni faktor koji doprinosi nastanku oksidacijskog stresa u dijabetesu, jer je pokazano da stanje hiperglikemije utiče na stvaranje RKV i promenu oksidoredukcijske ravnoteže. Ove promene se događaju kroz nekoliko mehanizama (pojačan metabolizam glukoze preko poliolnog puta i povećanog stvaranja sorbitola, povećano intracelularno formiranje krajnjih produkata glikozilacije /AGE/, aktivacija PKC i povećana produkcija peroksidnih anjona u mitohondrijskom transportnom lancu elektrona) (11) (Shema 1).

U uslovima hiperglikemije postoji pojačano pretvaranje glukoze u sorbitol uz smanjivanje količine redukovani oblika nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (NADPH), koji je ključni kofaktor za stvaranje najvažnijeg intraćelijskog antioksidansa, a to je redukovani glutathion. Aktivacijom poliolnog puta, tj. nagomilavanjem sorbitola i njegove konverzije u fruktozu, kao i povećanjem odnosa NADH/NAD, može doći do aktivacije PKC i inhibicije enzima gliceraldehid 3-fosfat-dehidrogenaze (GAPDH) (Shema 4) (11, 18).

Sledeći mehanizam doprinosi hiperglikemije oksidacijskom stresu predstavlja formiranje krajnjih produkata glikozilacije (AGE) (Shema 1). AGE nastaju kovalentnim vezivanjem aldehida i ketona redukovanih šećerom za slobodne aminogrupe proteina, formirajući Šifove (Schiff) baze, koje spontano prelaze u stabilnije ketoamine ("Amadori product"). Ova jedinjenja mogu biti direktno pretvorena u AGE ili podleći autooksidaciji i formirati karbonilna intermedijerna jedinjenja (kao i sami molekuli glukoze), koja podležu kompleksnim hemijskim reakcijama stvarajući ireverzibilne AGE strukture (11, 13). Utvrđeno je da AGE signalno pobuđuju ćelijske receptore za AGE (RAGE), koji su smešteni na površini ćelija. Ovi receptori su pored AGE zaduženi i za druge proinflammatory molekule. RAGE se nalaze u velikom broju tkiva, a njihov broj i funkcija su naročito izraženi na mestima odvijanja ateroskleroznog procesa ili na mestima žarišta Alchajmerove bolesti u centralnom nervnom sistemu. Jedna od najvažnijih posledica vezivanja RAGE-ligand kompleksa je produkcija intracelularnih RKV preko aktivacije sistema NADPH oksidaze. Produkovane RKV potom aktiviraju put *ras*/MAPK, što dovodi do aktivacije NF-κB sa posledičnim transkripcijskim aktiviranjem RAGE i mnogih drugih genski uslovljenih produkata povezanih sa aterosklerozom (11).

Hiperglikemija dovodi do direktne ili indirektno produkcije RKV preko aktivacije puta DAG-PKC (16). Familija PKC se sastoji od više različitih izoformi, od kojih je najveći deo aktiviran lipidnim "drugim glasnikom" DAG. U uslovima hiperglikemije nastaje pojačano stvaranje dihidroksi-aceton-fosfata, koji se redukuje u glicerol-3 fosfat sa posledičnom pojačanom sintezom DAG (Shema 4). Aktivacija različitih PKC dovodi do niza

Nedostatak NO, heparan-sulfat proteoglikana i drugih inhibitora faktora rasta, koji nastaje usled oštećenja, takođe može doprineti migraciji i proliferaciji vaskularnih glatkih mišićnih ćelija. Nedavno je u kulturi vaskularnih glatkih mišićnih ćelija demonstrirana sposobnost serotonina da poveća sintezu IL-6. Ovaj multifunkcijski proinflamacijski citokin, osim što izaziva kontrakciju i proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija, utiče i na druge komponente tranzitorne lezije (monocite, makrofage i endotelne ćelije) indukcijom oslobađanja VEGF i MCP-1 (14). IL-6 stimuliše sintezu svih reaktanta akutne faze zapaljenja, koji imaju klinički značaj u postavljanju dijagnoze, proceni težine inflamacije i prognozi kardiovaskularnih bolesti (5, 13).

Prisustvo limfocita u ateroskleroznoj leziji pobuđuje veliko interesovanje, jer su oni najčešće pokazatelji antigenom pokrenute specifične inflamacije. S obzirom na to da su B limfociti retko zastupljeni (oko 1%), limfocite u ateroskleroznim promenama praktično čine T limfociti. Faktori rasta koje proizvode T limfociti (HB-EGF i bFGF) podstiču proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija i olakšavaju prokoagulacijsku aktivnost makrofaga (14).

Aktivirani makrofagi eksprimiraju antigene klase II MHC, kao što je HLA-DR, koji im omogućavaju da prezentuju antigene T limfocitima. Vaskularne glatke mišićne ćelije iz aterosklerozne lezije, takođe, poseduju klasu II MHC molekula na svojoj površini, verovatno indukovanu dejstvom INF γ , i mogu prezentovati antigene T limfocitima (14). Jedan od potencijalnih antigena je oxLDL čestica, koju mogu proizvoditi makrofagi (11, 15). Kao indukujući antigeni spominju se, takođe, virusni antigeni i proteini toplotnog šoka (HSPs, engl. *heat shock proteins*) (14). Smatra se da kombinacija prisutnih potencijalnih antigena i medijatora zapaljenja u nastaloj mikrosredini uslovljava ćelijsku interakciju, što dalje određuje sudbinu tranzitorne lezije (11, 14, 15).

U uznapredovalim stadijumima ateroskleroze nastaje **fibrozni plak**, koji predstavlja metabolički veoma dinamičnu tvorevinu sastavljenu iz centralnog lipidnog jezgra, fibroznog omotača i osnove sastavljene od vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (14).

Makrofagi su stožerne ćelije u inflamacijskom procesu koji je udružen sa razvojem fibroznog plaka, pre svega zbog potenciranja inflamacijskog odgovora usled produkcije različitih inflamacijskih medijatora (15). Oni su "čistači" i antigen-prezentujuće ćelije, koje sekretuju hemokine, TNF α , IL-1 i druge citokine, faktore rasta (PDGF, TGF β , bFGF i dr.), RKV i proteolitičke enzime (14-16). Humani makrofagi, takođe, sintetišu i sekretuju IGF-1, koji je unutar fibroznog plaka važan za monocitnu hemotaksu, aktivaciju i oslobađanje TNF α (14).

Prisustvo aktivnog imunskog odgovora u fibroznom plaku potvrđuju i aktivirani T limfociti koji sekretuju

limfokine (IL-1, IL-2, TNF α , INF γ), doprinoseći, na taj način, njegovom razvoju i destabilizaciji (3, 14).

Imunohistohemijskim analizama u fibroznom plaku su identifikovane i vaskularne dendritične ćelije (VDC, engl. *vascular dendritic cells*), za koje se pretpostavlja da su odgovorne za lokalnu aktivaciju i preživljavanje limfocita. Najveći broj VDC, koje su u kontaktu sa T limfocitima, ima u zonama inflamacijskog infiltrata sa postojećom neovaskularizacijom (22). U ostalim zonama ove ćelije su u dodiru sa makrofagima. Ustanovljeno je, takođe, da se VDC nalaze u mediji ispod aterosklerozne lezije i u adventiciji oko *vasa vasorum* (14, 22). Pošto se VDC, koje su u kontaktu sa T limfocitima nalaze u dve zone, moguće je da iz intime VDC migriraju kroz mediju i adventiciju u drenirajući limfni čvor, gde prezentuju antigene nastale u plaku usled dugotrajne inflamacije, indukujući, na taj način, specifičnu reakciju (14).

Ćelije u fibroznom plaku (makrofagi, trombociti, ćelije endotela i vaskularne glatke mišićne ćelije) predstavljaju bogat izvor različitih oksidacijskih produkata metabolizma arahidonske kiseline (eikosanoida), koji kao moćni medijatori zapaljenja mogu imati značajnu ulogu u progresiji aterosklerozne lezije.

Ćelije endotela prvenstveno proizvode prostaciklin (PGI $_2$), trombociti stvaraju TXA $_2$ i 12-hidroksieikosatetraenoičnu kiselinu (12-HETE), dok makrofagi i vaskularne glatke mišićne ćelije sintetišu prostaglandine (PGE $_2$ i PGI $_2$) i monohidroksi masne kiseline (HETES) (14). Ubrzanom razvoju fibroznog plaka mogu doprineti i RKV čiji je izvor metabolička kaskada arahidonske kiseline (11). U uslovima progredirajuće hipoksije, ovi oksidansi su u stanju da na ćelijskom nivou prouzrokuju poremećaje u prenosu signala kao i poremećaje funkcije plazma membrane i membrana ćelijskih organela, čime se umanjuje sposobnost ćelijske samoregulacije (14, 22).

Vanćelijski matriks je zapreminski najznačajniji deo fibroznog plaka (14). Dominantnu ulogu u nastanku poremećaja njegove građe imaju monocitno-makrofagne ćelije, a u mnogo manjoj meri i vaskularne glatke mišićne ćelije, koje luče matriks metaloproteinaze (MMP, engl. *matrix-degrading metalloproteinases*), čime učestvuju u remodelovanju oštećene intime tokom rasta plaka (13, 14). U razgradnji matriksa ovi enzimi iz grupe endopeptidaza imaju najznačajniju ulogu. MMP (želatinaze, kolagenaze, stromelizini), koje imaju ulogu i u migraciji vaskularnih glatkih mišićnih ćelija iz medije u intimu, se obično luče u inaktivnom (zimogenu) obliku.

U uslovima hroničnog zapaljenja njihovu aktivaciju, koja se odvija izvan ćelija, stimulišu mnogobrojni agensi (fagocitoza lipida, oxLDL, oksidacijski stres, solubilni produkti aktiviranih T limfocita, IL-1, TNF α i drugi citokini) (14-16). Treba istaći da neravnoteža između faktora sinteze i razgradnje ekstraćelijskog matriksa ima

glavnu ulogu u rupturi ateroskleroznog plaka i njenim kasnijim posledicama (14).

Patofiziološku osnovu nastanka **komplikovanih aterosogenih plakova** čini fisura ili ruptura fibroznog sloja koja nastaje zbog smanjene sinteze i povećane razgradnje matriksa (14, 15).

Najčešći vid rupture je pucanje fibrozne kape sa posledičnom trombozom na mestu kontakta krvi sa sadržajem plaka (15).

Plakovi koji su skloni rupturi imaju tanku fibroznju kapu u kojoj se nalazi veliki broj inflamacijskih ćelija i lipidni centralni deo, koji zauzima više od 50% zapremine plaka. Predilekciono mesto za rupturu plaka je rubni region, gde je fibrozna kapa najtanja, koncentracija penastih ćelija najviša i pritisak lipidne srži najveći (14).

Poznato je da je zapaljenje blisko povezano sa rupturom ateromatozne ploče. U humanom ateromu uočeno je prisustvo aktiviranih T limfocita, koji su prisutni u većem broju zajedno sa makrofagima na mestu rupture. Postoje dokazi da hronična imunska stimulacija unutar ateroma vodi produkciji INF γ iz T limfocita, koji inhibira sintezu kolagena u vulnerabilnom regionu fibrozne kape (14, 16). Produkcija INF γ se takođe povezuje sa aktivacijom makrofagnih funkcija, koje su odgovorne za vulnerabilnost plaka (15).

Pokazano je da vaskularne glatke mišićne ćelije u ateroskleroznom plaku mogu eksprimirati na svojoj površini fas receptor, koji je neophodan za pokretanje procesa apoptoze, vezivanjem za fas ligand smešten na membrani pojedinih T ćelija (14). U daljoj evoluciji plaka ma-

krofagi i vaskularne glatke mišićne ćelije podležu apoptozi, naročito u prisustvu visokih koncentracija oxLDL molekula. Uz to, makrofagi su sposobni da razgrade ekstracelularni matriks fagocitozom ili sekrecijom aktivatora plazminogena i MMP, koji mogu oslabiti fibroznju kapu, predisponirajući je za rupturu (14, 15).

Aktivirani mastociti, koji su prisutni u malom broju u rubnom regionu plaka, mogu da sekrecuju moćne proteolitike enzime, kao što su triptaze i himaze, koje učestvuju u aktivaciji pro-MMP (14-16). Neutrofili su takođe sposobni da razaraju tkivo sekrecijom proteolitičkih enzima. Pored toga, dosadašnja saznanja jasno ukazuju da interakcije između neutrofila i T limfocita, koje se ostvaruju putem citokina ili njihovim međusobnim kontaktom doprinose olakšanom odvijanju inflamacije i slabljenju vezivne kape (Tabela 4) (14). Vezivna kapa takođe može da bude oslabljena pritiskom i istezanjem zbog naglog porasta ateromskog jezgra ili krvavljenja u ploču (15).

TERAPIJSKI PRISTUP

Imajući u vidu tendenciju sve većeg porasta prevalencije dijabetičke vaskularne bolesti u narednim decenijama, neophodno je posebnu pažnju usmeriti na preduzimanje preventivnih mera za suzbijanje faktora rizika na koje se može uticati (neadekvatna ishrana bogata ugljenim hidratima i zasićenim masnim kiselinama, pušenje, sedentarni način života i fizička neaktivnost) (1-4, 13, 27-29). Osim promene stila života, primene hipokalorijske dijeta i povećanja fizičke aktivnosti (preporučuje se svakodnevno praktikovanje pola sata bržeg hodanja ili plivanja, odnosno vožnje bicikla), važna je i primena odgovarajuće medikamentne terapije (3, 5, 7, 13).

Tabela 4. Interakcije između neutrofila i T limfocita u hroničnom inflamacijskom odgovoru

Citokini koje stvaraju neutrofili	Efekat na T limfocite
Hemokini: CXCL1, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, IL-8	Hemoatraktanti T limfocita
IL-4	Th2 ćelijska diferencijacija
IL-12	Th1 ćelijska diferencijacija
TNF α	Kostimulator T ćelijske aktivacije
IL-10	Inhibicija T ćelijske proliferacije i aktivacije
IL-6	Doprinos Th2 i Th17 ćelijskoj diferencijaciji
TGF β	Inhibicija T ćelijske proliferacije
Citokini koje stvaraju T limfociti	Efekat na neutrofile
IFN γ	Produženje životnog veka
	De novo sinteza molekula MHC II klase
	De novo sinteza CD80 i CD86 molekula
	Pojačana aktivnost fagocita
IL-2	Aktivacija neutrofila
TNF α	Ushodna regulacija ekspresije CD83 molekula
	Produženje životnog veka
	Degranulacija
	De novo sinteza proteina
Kontakt između neutrofila i T limfocita	Efekat na neutrofile
	Stvaranje RKV
	Ushodna regulacija MHC II klase i CD69
	Efekat na T ćelije
	Indukcija sinteze IFN

Tabela 5. Glavne karakteristike procene distresa i depresije u dijabetičara

Procena vlastitih osećanja i iskustava u periodu dužem od dve nedelje
Disfunkcija vegetativnog nervnog sistema (poremećaji spavanja, apetita i energetskeg bilansa)
Izmenjeno emocionalno reagovanje (manjak životne energije i smanjeno interesovanje za svakodnevne aktivnosti)
Poremećaji ponašanja (uznemirenost i hipodinamija)
Kognitivni simptomi (slabije pamćenje ili gubitak koncentracije); osim toga, mogu da se jave osećanje krivice i autodestruktivne misli

Tabela 6. Kognitivne komponente kognitivno-bihevioralne terapije dijabetesa

Usvajanje ideje da napetost i potiskivanje negativnih emocija mogu da izazovu simptome bolesti
Razumevanje povezanosti misli i osećanja
Prepoznavanje i eliminisanje „grešaka u razmišljanju“ (npr., „razmišljanje po obrascu sve ili ništa“, personalizacija, preuveličavanje, minimalizovanje, itd.)
Analiza negativnih misli i njihova zamena svrsishodnijim mislima postavljenjem sebi sledećih pitanja: Šta ne mogu ili neću da progutam? Da li se jedem u sebi? Kako postupam sa svojim osećanjima? Zbog čega sam ljut (ljuta)? Kako postupam sa svojom agresivnošću? U kojoj meri izbegavam sukobe? Postoji li u meni potisnuta čežnja za rajem detinjstva lišenim sukoba, u kojem bih bio (bila) samo voljen (voljena), zbrinut (zbrinuta) i zaštićen (zaštićena), a ne bih morao (morala) da se zubima i noktima probijam kroz život?

Psihijatrijski poremećaji (depresija i anksiozna stanja) se češće javljaju u dijabetičara u odnosu na opštu populaciju. Pored toga, ustanovljeno je i da osobe koje pate od depresije, bipolarnih psihoza i shizofrenije imaju veći rizik da obole od dijabetesa u poređenju sa opštom populacijom. Stoga svi dijabetičari treba da ispituju prisustvo simptoma depresije i anksioznih stanja (Tabela 5) (30). Poznato je da se emocije o kojima se nerado govori (veliki emocionalni lomovi), ili se ne razumeju na pravi način, često izraze na telesnom planu (somatizacija). Zato je veoma važno da ljudi skloni somatizaciji nauče kako da neprijatne emocije prihvate, razumeju i izraze kroz motorno, verbalno ili socijalno ponašanje (30-32).

U Tabeli 6 navedene su kognitivne komponente kognitivno-bihevioralne terapije koje se smatraju pogodnim za primenu kod dijabetičara (30, 31). Psihoterapijski rad se najviše bazira na povećanju kapaciteta dijabetičara da razume i obradi svoja osećanja, a ne da ih direktno prazni kroz telo (30). Kroz odnos koji se razvija s psihoterapeutom i povezivanje telesnih smetnji i psihičkog stanja, kao i kroz ispoljavanje i prihvatanje emocija u sigurnoj sredini, simptomi se smanju-

ju ili potpuno nestaju, i postiže se psihološki i telesni oporavak (30, 32).

ZAKLJUČAK

Kod pacijenata sa dijabetesom tip 2 rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti je izuzetno veliki. Ateroskleroza, odnosno oštećenja velikih krvnih sudova srca i oboljenja koja nastaju zbog oštećenja samog srčanog mišića najčešće su kardiovaskularne bolesti kod dijabetičara. Zato bi pacijenta sa dijabetesom u startu trebalo lečiti kao kardiovaskularnog bolesnika. Uz to, potrebna su i dalja istraživanja molekulskih mehanizama dijabeteske vaskularne bolesti, kako bi se sprečio njen nastanak, odnosno pronašao efikasniji terapijski pristup.

NAPOMENA

Ovaj rad je finansiran sredstvima iz projekta broj 175015 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

1. American Diabetes Association <http://www.diabetes.org/home>
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2015. Diabetes Care 2015;38(Suppl 1):S11-90.
3. Masharani U. Diabetes mellitus and hypoglycemia. In: McPhee SJ, Papadakis MA, eds. Current medical diagnosis and treatment. Mc Graw Hill, New York, 2016, p. 1190-238.
4. Stone NJ. Treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular disease risk in adults: synopsis of the 2013 American College of Cardiology/American Heart Association Cholesterol Guideline. Ann Intern Med 2014;160:339-43.
5. Inzucchi SE. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. Diabetes Care 2015;38(1):140-9.
6. Naučna konferencija "Epidemija gojaznosti i Srbija", SANU, Beograd, 2016.
7. International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation; 2015.
8. Juvenile Diabetes Foundation <http://www.jdf.org/index.html>
9. Vučević D, Radosavljević T. Priča o insulinu – 90 godina od otkrića koje je promenilo svet. Med Podmladak 2012;63(1-2):107-11.
10. Harris MF. The metabolic syndrome. Aust Fam Physician 2013;42(8):524-7.
11. Vučević D, Đorđević D, Jorgačević B, Radosavljević T, Radak Đ, Kovačević D. Povezanost insulinske rezistencije i poremećaja kardiovaskularnog sistema. Med Istraživ 2015;49:5-15.
12. The metabolic syndrome. <http://www.eufic.org/article/en/artid/metabolic-syndrome-epidemic>

13. Chin JA. Diabetes mellitus and peripheral vascular disease: diagnosis and management. *Clin Podiatr Med Surg* 2014;31(1):11-26.
14. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Zapaljenjski proces u aterogenezi: nove činjenice o starom plamenu. *Med Pregl* 2012;65(9-10):388-395.
15. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
16. Iantorno M, Campia U, Di Daniele N, Nisticó S, Forleo GB, Cardillo C, et al. Obesity, inflammation and endothelial dysfunction. *J Biol Regul Homeost Agents* 2014;28(2):169-76.
17. Jackson KG, Poppitt SD, Minihane AM. Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants. *Atherosclerosis* 2012;220(1):22-33.
18. Vučević D, Đorđević D, Stanojević M, Jorgačević B, Đorović D, Radak Đ, i sar. Hiperholesterolemije: mehanizmi nastanka i patofiziološke implikacije. *Med Istraživ* 2016;50:30-43.
19. Sudar E, Zafirović S, Obradović M, Soskić S, Jovanović A, Stokić E, i sar. Gojaznost, rezistencija na insulin i kardiovaskularna oboljenja. *Med Istraživ* 2012;46(2):54-9.
20. Blumer I. Diabetes and pregnancy: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(11):4227-49.
21. Kadić I, Kosi L. Povezanost odnosa TG/HDL, insulinske rezistencije i pojave i intenziteta koronarne bolesti kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i nedijabetičara. *Med Podmladak* 2012;63(1-2):78-82.
22. Vučević D, Radak Đ, Milovanović I, Radosavljević T, Mladenović D. Patofiziološki mehanizmi angiogeneze u aterogenezi. *Med Pregl* 2013;66(7-8):297-306.
23. Vučević D, Mladenović D, Ninković M, Aleksić V, Stanković MN, Stanković M, et al. The effects of caloric restriction against ethanol-induced oxidative and nitrosative cardiotoxicity and plasma lipids in rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2013;238:1396-1405.
24. Stanković M, Mladenović D, Ninković M, Vučević D, Tomašević T, Radosavljević T. Effects of caloric restriction on oxidative stress parameters. *Gen Physiol Biophys* 2013;32:277-83.
25. Mladenović D, Ninković M, Aleksić V, Šljivančanin T, Vučević D, Todorović V, et al. The effect of calorie restriction on acute ethanol-induced oxidative and nitrosative liver injury in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013;36(2):296-302.
26. Jorgačević B, Mladenović D, Ninković M, Prokić V, Stanković MN, Aleksić V, et al. Dynamics of oxidative/nitrosative stress in mice with methionine-choline-deficient diet-induced nonalcoholic fatty liver disease. *Hum Exp Toxicol* 2014;33(7):701-9.
27. Sigal RJ, Armstrong MJ, Colby P, Kenny GP, Plotnikoff RC, Reichert SM, et al. Canadian Diabetes Association 2013. Clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada: physical activity and diabetes. *Can J Diabetes* 2013;37(suppl 1):S40-4.
28. Dworatzek PD, Arcudi K, Gougeon R, Husein N, Sievenpiper JL, Williams SL. Canadian Diabetes Association 2013. Clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada: nutrition therapy. *Can J Diabetes* 2013;37(suppl 1):S45-55.
29. Stone JA, Fitchett D, Grover S, Lewanczuk R, Lin P. Canadian Diabetes Association 2013. Clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada: vascular protection in people with diabetes. *Can J Diabetes* 2013;37(suppl 1):S100-4.
30. Robinson DJ, Luthra M, Vallis M. Canadian Diabetes Association 2013. Clinical practice guidelines for the prevention and management of diabetes in Canada: diabetes and mental health. *Can J Diabetes* 2013;37(suppl 1):S87-92.
31. Detlefsen T, Dalke R. Bolest kao put. Značenje i tumačenje bolesti i njihovih simptoma. Laguna, Beograd, 2013.
32. Lund H, Lund J. Stres. Arhipelag, Beograd, 2016.