



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Saša P. Radenković

**Evaluacija uticaja terapije insulinskim analogima na
parametre oksidativnog stresa kod bolesnika sa
dijabetesom melitusom tip 1**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2014.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Saša P. Radenković

Evaluation of the effect of the therapy with insulin analogues on oxidative stress in patients with type 1 diabetes mellitus

PhD Thesis

Niš, 2014

Mentor doktorske disertacije:

Prof. dr Radivoj Kocić
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

1. Prof. dr Stevan Ilić, predsednik
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
2. Akademik prof. dr Nebojša M. Lalić, član
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet
3. Prof. dr Milica Pešić, član
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
4. Prof. dr Ivana Stojanović, član
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
5. Prof. dr Radivoj Kocić, mentor i član
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Datum odbrane doktorske disertacije:

2014. godine

I Autor	
Ime i prezime:	Saša P. Radenković
Datum i mesto rođenja:	10. 11. 1966. Niš
Sadašnje zaposlenje:	Asistent za UNO Interna medicina, oblast endokrinologija, na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu, specijalista interne medicine na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma; Klinički centar Niš
II Doktorska disertacija	
Naslov:	Evaluacija uticaja terapije insulinskim analogima na parametre oksidativnog stresa kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 1
Broj stranica:	193
Broj tabela:	52
Broj grafikona:	4
Broj bibliografskih podataka:	538
Ustanova i mesto gde je rad izrađen:	Klinika za Endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma; KC Niš; Centar za medicinsku biohemiju; KC Niš; Institut za biohemiju MF u Nišu
Naučna oblast:	Medicina, Interna medicina, endokrinologija
Mentor:	Prof. dr Radivoj Kocić
III Ocena i odbrana	
Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije:	04-693/07 11.09.2008.
Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata:	Prof. dr Dušica Pavlović, predsednik Prof. dr Radivoj Kocić, član Prof. dr Milica Pešić, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:	Prof. dr Stevan Ilić, predsednik Akademik prof. dr Nebojša M. Lalić, član sa MF Univerziteta u Beogradu Prof. dr Milica Pešić, član Prof. dr Ivana Stojanović, član Prof. dr Radivoj Kocić, mentor i član
Datum odbrane doktorske disertacije:	2014. godine
Naučni doprinos (autorski rad doktoranta na SCI listi): Radenković SP, Pešić MM, Velojić-Golubović MD, Dimić DN, Radojković DB, Ćirić VM, Kocić RD. Continuous subcutaneous insulin infusion vs. multiple daily injections. Cent Eur J Med 2011;6(5):575-81.	

Veliku zahvalnost dugujem svom mentoru, **prof. dr Radivoju Kociću**, ne samo na pomoći pri izradi ovog rada, već i na svoj saradnji do sada, još od vremena mog dolaska na kliniku i početka mog učenja i rada na endokrinologiji.

Sa posebnim zadovoljstvom zahvaljujem se **prof. dr Stevanu Iliću** na velikoj pažnji i vremenu koje mi je posvetio, motivišući me da stremim ostvarenju ciljeva.

Čast mi je i izuzetno zadovoljstvo da se zahvalim **akademiku prof. dr Nebojši M. Laliću** koji me je počastvovao svojom podrškom u izradi ove disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem **prof. dr Milici Pešić** za izuzetnu saradnju i dugogodišnje prijateljstvo, kao i za niz korisnih sugestija i saveta za poboljšanje ovog teksta.

Zahvaljujem se **prof. dr Ivani Stojanović** na saradnji na polju biohemije, kao i na svestranoj pomoći pri konačnom uobličavanju ovog teksta.

Iskrenu zahvalnost upućujem svim kolegama i saradnicima Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Niš, za prijateljski i kolegijalni odnos tokom mog rada, posebno ms. Jasmini Komazec za pomoć oko uzoraka, a kolegi dr Vladi Ćosiću iz Centra za medicinsku biohemiju za pomoć kod realizacije analiza.

Konačno, a ne i na kraju, najtoplije se zahvaljujem porodici i prijateljima:

Roditeljima, od kojih sve počinje, koji su uvek najzaslužniji, koji najviše brinu i vole, i čiji je uvek najveći deo naših uspeha;

Mojoj **Olji**, za ljubav, pažnju, strpljenje i podršku i u dobru i u zlu, koja me čini boljim;

Kćerima **Maši i Staši**, koje su moja sadašnjost i moja budućnost, zbog kojih i za koje je sve što želim i radim, koje mi daju snagu i smisao mog života.

EVALUACIJA UTICAJA TERAPIJE INSULINSKIM ANALOZIMA NA
PARAMETRE OKSIDATIVNOG STRESA KOD BOLESNIKA SA DIJABETESOM
MELITUSOM TIP 1

Sažetak

Dijabetes melitus tip 1 je bolest koja ima veliki značaj koji se ogleda u akutnim i hroničnim komplikacijama do kojih dovodi. Velike studije su pokazale da se dobrom metaboličkom kontrolom može odložiti nastanak, kao i usporiti napredovanje već razvijenih hroničnih komplikacija dijabetesa. Dijabetesno stanje je udruženo sa povećanjem oksidativnog stresa i studije sugerišu da su RVK važne u patogenezi dijabetesne vaskularne disfunkcije i da putevi razvoja dijabetesnih komplikacija imaju bliske veze sa oksidativnim stresom. Povišena glukoza u krvi, pre svega, dovodi do povećane produkcije RVK u mitohondrijama. Intenzivirana insulinska terapija predstavlja kamen temeljac dobre metaboličke kontrole u terapiji T1DM. Osnovni problemi u obezbeđenju striktne metaboličke kontrole su obezbeđenje adekvatnog nivoa glikemije kakav imaju nedijabetičari, uz izbegavanje hipoglikemija i porasta TT bolesnika. Insulinski analozi svojim superiornim farmakokinetiskim profilom mogu da obezbede bolju glikoregulaciju i bolju kontrolu glikemije i našte i postprandijalno.

Cilj ovog istraživanja bio je da se analizira efikasnost IIT analogima humanog insulina (aspart i glargin) kroz analizu glikoregulacije (HbA1c, glikemije našte, postprandijalne glikemije i varijabilnosti glikemije); bezbednost: kroz analizu hipoglikemija, telesne težine, kvaliteta života obolelih i uticaj na markere oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u obolelih.

U ovom kliničkom istraživanju korišćena je komparacija podataka dobijenih prospektivnom analizom anamnestičkih, kliničkih i biohemijskih parametara kod obolelih od T1DM. Izvršena je analiza podataka kod četrdesetdevet pacijenata sa jasnom dijagnozom T1DM i najmanje godinu dana trajanja bolesti i terapije insulinom i koji su bili aktuelno na IIT humanim insulinima. Bolesnicima je uveden brzodelujući analog humanog insulina, insulin aspart, umesto humanog solubilnog insulina, u periodu od tri meseca, a potom je bolesnicima uveden i dugodelujući insulinski analog, insulin glargin, umesto srednjedugodeljućeg humanog insulina u periodu od tri meseca.

Rezultati su pokazali sniženje nivoa HbA1c nakon uvođenja terapije insulinskim analogima, nakon tri meseca terapije insulinom aspart nesignifikantno, a nakon uvođenja i insulina glargin i tromesečne terapije kombinacijom insulinskih analoga (aspart/glargin) signifikantno sniženje nivoa HbA1c. Nakon prva tri meseca terapije zabeleženo je značajno sniženje postprandijalnih glikemija posle sva tri glavna obroka. Značajno je bila niža varijabilnost dnevne glikemije. Srednji porast glikemije nakon obroka značajno se smanjio. Sve vrednosti glikemija u profilima na kraju studije bile su statistički značajno niže u odnosu na početne vrednosti, kao i srednje vrednosti glikemije u profilima i varijabilnost dnevne glikemije. Naši rezultati pokazali su značajno sniženje broja hipoglikemija nakon uvođenja u terapiju insulinskih analoga. Ukupan broj hipoglikemija je manji nakon tri meseca, a smanjuje se naročito nakon uvođenja u terapiju insulina glargin. Značajne su razlike u broju simptomatskih hipoglikemija, broja asimptomatskih hipoglikemija, smanjuje se broj noćnih hipoglikemija. Naši rezultati su pokazali diskretan, ali značajan pad TT i statistički značajno smanjenje nivoa CRP. Rezultati su pokazali da je u populaciji bolesnika sa T1DM nivo oksidativnog stresa, meren nivoom MDA, značajno viši u odnosu na kontrolnu populaciju. Takođe je značajno viši nivo nitrata i nitrita u obolelih od T1DM u odnosu na kontrolu, viša aktivnost XO, postoji značajno manja aktivnosti SOD, a značajno je viša aktivnost katalaze i GPx. Nivo MDA se značajno smanjio nakon terapije analogima insulina, kao i nivo nitrata i nitrita, aktivnost XO, a dolazi do značajnog porasta aktivnosti SOD i postoji značajan pad katalaze i GPx.

Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogima insulinom aspart i insulinom glargin u IIT dovodi do poboljšanja glikoregulacije uz smanjenje broja hipoglikemija i lako smanjenje TT. Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogima insulinom aspart i insulinom glargin u IIT, poboljšanjem glikoregulacije, utiče na poboljšanje parametara oksidativnog stresa.

Ključne reči: dijabetes melitus tip 1, glikemijska kontrola, hipoglikemija, insulin aspart, insulin glargin, oksidativni stres, malondialdehid, nitrati i nitriti, ksantin oksidaza, antioksidantni enzimi.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Interna medicina – endokrinologija

UDK: 616.979-008.64

EVALUATION OF THE EFFECT OF THE THERAPY WITH INSULIN
ANALOGUES ON OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES
MELLITUS

Summary

Significance of Type 1 diabetes mellitus is in its acute and chronic complications. Big studies demonstrated that microvascular complications of diabetes can be avoided or delayed if blood glucose levels are maintained as close to the normal range as possible. Diabetic state is closely related with increase in oxidative stress and studies suggest that ROS are important in pathogenesis of diabetic vascular dysfunction and that pathways of development of diabetic complications are closely connected with oxidative stress. High blood glucose leads to increase generation of ROS in mitochondria. Intensive insulin therapy is the cornerstone for tight glycemic control in type 1 diabetic patients. Basic difficulties in achieving glycemic goals are maintenance of near-euglycemia and avoidance of hypoglycemia and significant weight gain. Insulin analogues have improved pharmacokinetic properties that allow better control of both fasting and postprandial glycaemia.

Aim of this work was to analyze efficacy of intensive insulin therapy with human insulin analogues (aspart and glargine) with analysis of glycoregulation (HbA1c, fasting blood glucose, postprandial glucose and glucose variability), safety with analysis of hypoglycemia, body weight and quality of life, and analysis of markers of oxidative stress.

In this prospective clinical trial we analyzed clinical and laboratory parameters in Type 1 diabetic patients. Study included 49 patients with T1DM and previous therapy with human insulin for at least one year, currently on IIT with four daily doses of human insulin. For the first three months rapid acting insulin analogue (insulin aspart) was introduced instead of regular human insulin, and then in the next three months patients were treated with basal insulin analogue (insulin glargine) instead of intermediate acting human insulin.

The mean HbA1c level fell after introduction of insulin analogues therapy. There was small but no significant decline in HbA1c level during 3 months of therapy with insulin aspart and HbA1c level continued to fall and after 3 month of therapy with combination of insulin analogues (aspart/glargine) was significantly lower than before initiation of therapy with analogues. There was significant decline in all postprandial glycaemia after three main

meals during first 3 months of therapy. Blood glucose variability was significantly lower, as well as mean increment of blood glucose after the meals. At the end of the study all the values of blood glucose in glucose profiles were lower as well as mean blood glucose and glucose variability. Our results show significant reduction in the number of hypoglycemia after introduction of insulin analogues therapy. Number of all hypoglycemic episodes is lower after first three months of therapy and even more so after introduction of insulin glargine in the therapy. There were significant differences in the number of symptomatic, asymptomatic and night hypoglycemia. We recorded small, but significant weight loss and decline of the level of CRP. Our results show that in Type 1 diabetic patients level of oxidative stress (measured as MDA) is significantly higher than in control population. There was also significantly higher level of nitrates and nitrites in patients compared with control subjects, higher activity of XO, there was significantly lower activity of SOD and significantly higher activity of catalase and GPx. Level of MDA is significantly lower after therapy, as was the level of nitrates and nitrites and XO, there was a significant rise in activity of SOD and significant fall of activity of catalase and GPx.

Intensive insulin therapy of Type 1 diabetic patients with insulin analogues (aspart and glargine) leads to better glycemic control with smaller number of hypoglycemic episodes and small weight loss. Intensive insulin therapy of Type 1 diabetic patients with insulin analogues (aspart and glargine) through improvement of glycemic control improves parameters of oxidative stress.

Key words: diabetes mellitus type 1, glycemic control, hypoglycemia, insulin aspart, insulin glargine, oxidative stress, malondialdehyde, nitrite/nitrate, xanthine oxidase, antioxidant enzymes.

Scientific field: Medicine

Scientific discipline: Internal medicine – endocrinology

UDC: 616.979-008.64

Lista skraćenica

$\cdot\text{HRO}_2^-$	hidroperoksil radikal
$\cdot\text{NO}_2^-$	azot dioksid
$\cdot\text{O}_2^-$	superoksid anjon
$\cdot\text{OH}$	hidroksil radikal
$\cdot\text{RO}_2$	peroksil radikal
AACE	Američko udruženje kliničkih endokrinologa (American Association of Clinical Endocrinologists)
ADA	Američko udruženje za dijabetes (American Diabetes Association)
ADP	adenozin difosfat
AGE	uznapredovali produkti glikozilacije (advanced glycation end products)
ALP	alkalna fosfataza
ALT	alanin aminotransferaza
AST	aspartat aminotransferaza
ATP	adenozin trifosfat
BH4	tetrahidro biopterin
BMI	body mass index
CAT	katalaza
CGMS	kontinuirani subkutani glukozni monitoring
CK/CPK	kreatin kinaza
CRP/hsCRP	C-reaktivni protein
Cu-SOD	bakar superoksid dizmutaza
CV	koeficijent varijacije
DAG	diacilglicerol
DAISY	The Diabetes Autoimmunity Study of the Young
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DKA	dijabetesna ketoacidoza
DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
DTSQ	Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire
EASD	Evropsko udruženje za proučavanje dijabetesa (European Association for the Study of Diabetes)
eNOS	endotelna azot oksid sintaza
ET-1	endotelin 1
FAD	flavin adenin dinukleotid
FADH2	redukovani flavin adenin dinukleotid
FMN	flavin mononukleotid
FPG	glikemija našte (fasting plasma glucose)
GADA	autoantitela na dekarboksilazu glutaminske kiseline
GAPDH	gliceraldehid 3-fosfat dehidrogenaza
GDM	gestacijski dijabetes melitus
GFAT	glutamin: fruktozo-6-fosfat amidotransferaza

GGT	gama glutamil transpeptidaza
GLUT	glukozni transporter
GSH	glutation
GSH-Px	glutation peroksidaza
Hb	hemoglobin
HbA1c	glikozilisani hemoglobin
HDL	lipoproteini visoke gustine
HLA	humani leukocitni antigen (human leukocyte antigen)
HNF	hepatocitni nuklearni transkripcioni faktor
HNO ₂	nitrozni oksid
IA2A	autoantitela na tirozin fosfatazu IA-2
IAA	autoantitela na insulin
ICA	antitela na antigene ćelija ostrvaca (Islet cell antibodies)
IDF	Međunarodna federacija za dijabetes (The International Diabetes Federation)
IFG	povišena glukoza našte (impaired fasting glucose)
IGF-1	insulinu sličan faktor rasta 1
IGT	smanjena tolerancija glukoze (impaired glucose tolerance)
IIT	intenzivirana insulinska terapija
IKIT	intenzivirana konvencionalna insulinska terapija
IL	interelukin
IMT	indeks mase tela
iNOS	inducibilna azot oksid sintaza
IR	insulinska rezistencija
iRNK	informaciona ribonukleinska kiselina
KoA	koenzim A
KSII	kontinuirana subkutana infuzija insulina
KVB	kardiovaskularne bolesti
LBGI	indeks niske glikemije (the low blood glucose index)
LDH	laktat dehidrogenaza
LDL	lipoproteini niske gustine
MAGE	srednja amplituda glikemijskih ekskurzija (the mean amplitude of glycemic excursions)
MBG	srednja vrednost glikemije u dnevnom profilu
Md	medijana
MDA	malondialdehid
MDII	multiple dnevne injekcije insulina
MIME	srednji indeks varijacija uz obroke (the meal-related glycemic excursions)
Mn-SOD	mangan superoksid dizmutaza
MODD	srednja vrednost dnevnih razlika (the absolute mean of daily differences)
MODY	Maturity-onset of diabetes mellitus of the young
NADH	nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NFκB	nuklearni faktor kapa B
nNOS	neuronalna azot oksid sintaza
NO	azot oksid
NO ₂ ⁻	nitriti
NO ₃ ⁻	nitрати
NO _x	nitрати i nitriti
NOS	azot oksid sintaza
NPH	neutral protamin Hagedorn

OGTT	oralni test opterećenja glukozom
ONOO ⁻	peroksinitrit
ox-LDL	oksidisani lipoproteini niske gustine
PAI-1	plazminogen aktivator inhibitor 1
PARP	poli(ADP-ribozo) polimeraza
PG	plazma glukoza
PKC	protein kinaza C
PPG	postprandijalna glikemija (postprandial glucose)
RAGE	receptori za AGE
RONOO	alkil peroksinitrit
RVK	reaktivne vrste kiseonika
RVN	reaktivne vrste azota
SD	standardna devijacija
SMK	slobodne masne kiseline
SOD	superoksid dizmutaza
TBARS	nivo reaktanata sa tiobarbiturnom kiselinom (thiobarbituric acid reacting substance)
TCA	ciklus trikarbonskih kiselina
TNF- α	faktor nekroze tumora alfa
TT	telesna težina
UCPs	„uncoupling“ proteini (uncoupling proteins)
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
V1	vizita 1
V2	vizita 2
V3	vizita 3
VEGF	vaskularni endotelni faktor rasta
VIP	vazoaktivni intestinalni peptid
VSMC	vaskularne glatkomišićne ćelije
WHO	Svetska zdravstvena organizacija (World Health Organization)
XO	ksantin oksidaza
ZnT8A	autoantitela na cink transporter ZnT8

SADRŽAJ

Sažetak.....	iv
Summary.....	vi
Lista skraćenica	viii
SADRŽAJ.....	xi
UVOD.....	1
Šećerna bolest – Dijabetes melitus (Diabetes mellitus – DM).....	1
Definicija dijabetesa melitusa	2
Dijagnoza dijabetesa melitusa.....	3
Podela dijabetesa melitusa	5
Etiološka klasifikacija dijabetesa.....	5
Tip 1 dijabetesa melitusa	6
Tip 2 dijabetesa melitusa	7
Ostali specifični tipovi dijabetesa.....	8
Gestacijski dijabetes melitus	8
Epidemiologija T1DM	9
Etiopatogeneza T1DM	11
Simptomi nekomplikovanog dijabetesa	16
Akutne komplikacije dijabetesa	17
Dijabetesna ketoacidoza	17
Hiperglikemijsko hiperosmolarno neketotsko stanje	18
Laktatna acidoza	18
Hipoglikemija.....	19
Incidencija i uticaj hipoglikemija	19
Definicija hipoglikemije u T1DM	20
Fiziologija glukozne kontraregulacije	21

Patofiziologija glukozne kontraregulacije	22
Faktori rizika za hipoglikemiju u T1DM.....	23
Minimiziranje rizika od hipoglikemije u pacijenata sa T1DM.....	24
Lečenje hipoglikemija u T1DM	28
Postprandijalna hiperglikemija.....	29
Patogeneza komplikacija.....	34
Oksidativni stres.....	41
Zašto su reaktivni metaboliti loši?.....	42
Prirodna odbrana od oksidativnog stresa i antioksidanti	44
Hronične komplikacije dijabetesa melitusa.....	45
Mikroangiopatske komplikacije	45
Makroangiopatske komplikacije	46
Mikroangiopatske komplikacije, etiopatogeneza	47
Dijabetesna retinopatija	50
Dijabetesna nefropatija	51
Dijabetesna neuropatija	53
Makroangiopatske komplikacije, etiopatogeneza	54
Ishemijska bolest srca – koronarna bolest	56
Bolest krvnih sudova CNS-a	57
Ishemijska bolest donjih ekstremiteta.....	58
Terapija T1DM.....	59
DCCT.....	59
UKPDS	60
IIT	61
INSULINI.....	63
Kratkodelujući insulini ili insulini brzog i kratkog dejstva	63
Ultrakratko delujući insulini ili analozi insulina kratkog dejstva.....	64
Humani dugodelujući, bazalni insulini	65
Dugodelujući analozi humanog insulina	67
HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA	69
RADNA HIPOTEZA	69
CILJ ISTRAŽIVANJA	69
ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA	71

ISPITANICI	71
PROTOKOL ISTRAŽIVANJA	71
MESTO ISPITIVANJA	77
STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	77
REZULTATI ISTRAŽIVANJA	79
DEMOGRAFSKI PODACI	79
RUTINSKE BIOHEMIJSKE ANALIZE SERUMA	79
MEDIJATORI ZAPALJENJA I KOMPLETNA KRVNA SLIKA (KKS)	81
PARAMETRI GLIKOREGULACIJE	82
ANALIZA DOPRINOSA GLIKEMIJA NIVOU HbA1c	87
HIPOGLIKEMIJE	90
DOZE INSULINA I TELESNA TEŽINA	90
DTSQ	92
PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA	92
PARAMETRI ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE	94
ANALIZA DOPRINOSA GLIKEMIJA I HbA1c NIVOIMA PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA	95
ANALIZA KORELACIJA GLIKEMIJA, HbA1c I PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA	108
Korelacije parametara oksidativnog stresa sa parametrima glikoregulacije	109
Korelacije parametara antioksidativne zaštite sa parametrima glikoregulacije	110
DISKUSIJA	112
ZAKLJUČCI	139
Opšti zaključci	141
LITERATURA	142
BIOGRAFIJA	194

UVOD

Šećerna bolest – Dijabetes melitus (Diabetes mellitus – DM)

Živimo u eri izrazitog porasta gojaznosti što sa sobom donosi ogroman porast prevalencije i pravu epidemiju Dijabetesa melitusa tip 2 (DM tip 2 ili T2DM). Ta činjenica u izvesnoj meri preti da u potpunosti okupira resurse zdravstvene zaštite i da minimizira značaj i opasnosti koje sa sobom nosi Dijabetes melitus tip 1 (DM tip 1 ili T1DM). Iako oboleli od T1DM predstavljaju samo 5 do 10% svih dijabetesnih bolesnika, ovaj oblik bolesti je značajan i ozbiljan hronični poremećaj, koji obično počinje ranije u životu od T2DM i ima važne i akutne i hronične posledice [Zimmet i sar. 2001].

Međunarodna federacija za Dijabetes (IDF) je objavila četvrto izdanje IDF-dijabetes atlasa na 20. Svetskom kongresu o dijabetesu, u oktobru 2009. godine u Montrealu. IDF-dijabetes atlas ima za cilj da obezbedi informacije zasnovane na dokazima i projekcije o trenutnoj i budućoj veličini epidemije dijabetesa za zdravstvene profesionalce, naučnike, zdravstvene ekonomiste, kreatore politike nacionalnih i međunarodnih vladinih agencija.

Zanimljivo je da je u prvom izdanju IDF-dijabetes atlasa, objavljenom 2000. godine procenjena globalna prevalencija dijabetesa na 151 milion obolelih u svetu. U ovom izdanju, procenjena prevalencija dijabetesa za 2010. je porasla na 285 miliona, što predstavlja 6,4% odraslog stanovništva sveta, uz predviđanje da će do 2030. broj ljudi sa dijabetesom porasti na 438 miliona.

U petom izdanju IDF-dijabetes atlasa (2012 update) procena je da u svetu sa dijabetesom već sada živi 371 milion ljudi (8,3% svetske populacije) i da je 50% obolelih nedijagnostikovano, i da se očekuje da će do 2030. godine broj obolelih porasti na 552 miliona [International Diabetes Federation 2012; Whiting i sar. 2011].

Potencijalni uticaj dijabetesa na razvoj čovečanstva je prepoznat od strane Ujedinjenih nacija 2006. godine u Rezoluciji 61/225, kada je rečeno da je „dijabetes

hronična, oštećujuća i skupa bolest povezana sa teškim komplikacijama, što predstavlja ozbiljne rizike za porodice, države članice i celi svet i predstavlja ozbiljan izazov za postizanje međunarodno dogovorenih ciljeva razvoja, uključujući milenijumske ciljeve razvoja“.

Tip 1 dijabetesa rapidno raste kod dece i adolescenata u mnogim zemljama, i dokazi ukazuju da se u sve većem broju zemalja i tip 2 dijabetesa sada takođe dijagnostikuje u detinjstvu.

Tip 1 dijabetesa je jedan od najčešćih endokrinih i metaboličkih poremećaja u detinjstvu, a učestalost mu se ubrzano povećava, posebno kod najmlađe dece. Lečenje insulinom je spasonosno i doživotno. Samodisciplina i poštovanje uravnotežene ishrane su neophodni, ako se želi da se bolest dobro kontroliše [International Diabetes Federation 2011a].

Definicija dijabetesa melitusa

Dijabetes melitus je grupa hroničnih metaboličkih poremećaja koje karakteriše povišen nivo glukoze u krvi (hiperglikemija) koja je posledica neadekvatne kontrole glukoze u krvi od strane hormona pankreasa insulina, a zbog defekta u insulinskoj sekreciji ili u dejstvu insulina ili postoje oba poremećaja [American Diabetes Association 2012a; American Diabetes Association 2012b].

Svetska zdravstvena organizacija definiše dijabetes melitus kao „Metabolički poremećaj višestruke etiologije koji karakterišu hronične hiperglikemije sa poremećajima metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina, koji su rezultat nedostataka u insulinskoj sekreciji, akciji insulina, ili oba“.

Definicija dijabetesa prema grupi za studije dijabetesa Svetske zdravstvene organizacije iz 1980. godine glasi: „Dijabetes melitus je stanje hronične hiperglikemije uzrokovano delovanjem genskih i mnogobrojnih faktora sredine koji najčešće deluju zajednički. Nastaje usled apsolutnog ili relativnog nedostatka insulina, što dovodi do poremećaja u metabolizmu ugljenih hidrata, masti i belančevina. Dijabetes melitus se manifestuje u vidu karakteristične kliničke slike, a u toku bolesti se progresivno razvijaju posledice mikroangiopatije i ateroskleroze.“ [WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus 1980].

Glukoza je glavni izvor energije za ćelijski metabolizam i efikasan metabolizam zavisi od optimalne koncentracije glukoze u krvi. Insulin se luči u β ćelijama ostrvaca pankreasa (Langerhansova ostrvca). Normalno, koncentracija insulina u krvi raste kao odgovor na porast nivoa glukoze u krvi koji se naravno javlja posle jela. Dejstvo insulina na brojne ćelije, uključujući i ćelije mišića i masne ćelije, rezultuje u apsorpciji glukoze iz krvi, čime se održava normalan nivo glukoze u krvi. Hiperglikemija nastaje zbog potpunog ili delimičnog nedostatka insulina na raspolaganju ili neefikasnosti za ovu funkciju. Potencijalne posledice hiperglikemije su oštećenja mnogih sistema u organizmu, a posebno krvnih sudova i nerava. Gubitak glikemijske kontrole povezan je sa dugoročnim komplikacijama i ljudi sa dijabetesom su sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih, perifernih vaskularnih i cerebrovaskularnih oboljenja [Alberti i Zimmet 1998].

Dijagnoza dijabetesa melitusa

Kriterijumi za dijagnozu dijabetesa se baziraju na merenju nivoa glukoze u krvi i prisustvu ili odsustvu simptoma. Tri su načina da se postavi dijagnoza dijabetesa i svaki od njih, u uslovima da ne postoji nedvosmislena hiperglikemija sa karakterističnim simptomima, mora da se potvrdi ponavljanjem narednog dana:

simptomi dijabetesa i plazma glukoza (PG) $\geq 11,1$ mmol/L izmerena u bilo koje doba dana, bez obzira na vreme od poslednjeg obroka;

ili:

vrednost jutarnje glikemije našte (fasting plasma glucose – FPG) $\geq 7,0$ mmol/L, uzorak krvi dobijen nakon perioda od najmanje 8 sati prekonoćnog gladovanja (našte, pacijenti ne jedu ili piju, osim vode za piće);

ili:

2-sata PG $\geq 11,1$ mmol/L u toku oralnog testa opterećenja glukozom (OGTT). Tokom testa prvobitno se izmeri nivo šećera u krvi našte, a potom se osoba zamoli da popije 75 g glukoze rastvorene u vodi. Nivo glukoze u krvi se onda može meriti na svakih 30 minuta za sledeća 2 sata. Nivo šećera u krvi $< 7,8$ mmol/L u 2. satu se smatra normalnim. Nivo šećera u krvi $\geq 11,1$ mmol/L u 2. satu ukazuje na dijabetes. Nivo šećera u krvi od 7,8 mmol/L do 11,1 mmol/L u 2. satu ukazuje na smanjenu toleranciju glukoze.

Ova tri načina za dijagnozu dijabetesa su aktuelne preporuke internacionalnog komiteta eksperata za dijabetes, koji su revidirali prethodne kriterijume. Dijagnoza dijabetesa se može postaviti na osnovu bilo kog od ova tri načina koja su na raspolaganju, ali svaki mora da bude potvrđen sledećeg dana, jednom od tri navedene metode. Merenje FPG je najpoželjniji test zbog svoje niže cene i jednostavnosti upotrebe. Hiperglikemija koja nije dovoljna da zadovolji dijagnostički kriterijum za dijabetes je kategorizovana ili kao povišena glukoza našte, $\geq 6,1$ mmol/L i $< 7,0$ mmol/L (impaired fasting glucose – IFG), ako je identifikovana putem FPG, ili smanjena tolerancija glukoze (impaired glucose tolerance – IGT) ako je identifikovana putem OGTT. Obe kategorije, IFG i IGT su rizik faktori za budući razvoj dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti (KVB).

Određivanje nivoa glikozilisanog hemoglobina (HbA1c) je već godinama široko korišćeni marker hronične glikemije i odslikava nivo prosečnog nivoa glikemije u protekla 2 do 3 meseca. Raniji komiteti eksperata nisu uzimali u obzir nivo HbA1c u preporukama za dijagnozu dijabetesa, delom zbog problema standardizacije eseja za HbA1c. Ali, obzirom na visoku standardizaciju najnovijih eseja za određivanje HbA1c, Internacionalni komitet eksperata je nakon analize postojećih epidemioloških dokaza, preporučio korišćenje HbA1c za dijagnozu DM i to sa pragom od 6,5%, a ovu odluku dalje potvrđuju preporuke drugih udruženja kao što je ADA [International Expert Committee 2009; American Diabetes Association 2010; American Diabetes Association 2012b].

Stoga se najnovije preporuke za dijagnozu DM i u našem nacionalnom vodiču definišu kao:

Dijagnostički kriterijumi za dijabetes prema ADA:

1. HbA1C $\geq 6.5\%$ ili
2. Glikemija našte $\geq 7,0$ mmol/L ili
3. Glikemija u toku OGTT-a sa 75 g glukoze u 120. minutu $\geq 11,1$ mmol/L ili
4. Glikemija u bilo kom slučajnom uzorku krvi (bez obzira na obrok) $\geq 11,1$ mmol/L uz prisustvo tipičnih dijabetesnih simptoma (poliurija, polidipsija, gubitak u telesnoj težini) [Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse 2012].

Podela dijabetesa melitusa

Danas je aktuelna etiološka klasifikacija dijabetesa, kojom su razdvojeni tipovi dijabetesa prema patogenetskim mehanizmima nastanka dijabetesa u 4 osnovne kategorije:

- I. Tip 1 dijabetesa
- II. Tip 2 dijabetesa
- III. Drugi specifični oblici dijabetesa
- IV. Gestacijski dijabetes

Etiološka klasifikacija dijabetesa

[Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse 2012]:

I. Tip 1 dijabetesa (destrukcija β ćelija koja vodi potpunom nedostatku insulinske sekrecije)

- A. Posredovan imunološkim procesom
- B. Idiopatski

II. Tip 2 dijabetesa (može se rangirati od dominantne insulinske rezistencije do dominantnog deficita sekrecije insulina koji je udružen sa insulinskom rezistencijom)

III. Drugi specifični tipovi dijabetesa

A. Genetski deficiti funkcije β ćelija usled mutacija na genu za:

1. Hromozom 12, hepatocitni nuklearni transkripcioni faktor1 (HNF1 α ; MODY3);
2. Hromozom 7, glukokinazu (MODY 2);
3. Hromozom 20, HNF 4 α (MODY 3);
4. Hromozom 13, insulin promotor faktor-1 (IPF-1; MODY 4);
5. Hromozom 17, HNF 1 β (MODY 5);
6. Hromozom 2, Neuro D1 (MODY 6);
7. Mitohondrijalnu DNK

B. Genetski uslovljeni defekt u dejstvu insulina:

1. Tip A insulinska rezistencija;
2. Leprechaunism;
3. Rabson Mendenhall sindrom;
4. Lipoatrofični dijabetes;
5. Ostali

C. Dijabetes melitus usled bolesti egzokrinog pankreasa:

1. Pankreatitis;
2. Trauma/pankreatektomija;
3. Neoplazije;
4. Cistična fibroza;
5. Hemohromatoza;
6. Fibrokalkulozna pankreatopatija;
7. Ostali

D. Dijabetes melitus u okviru endokrinih bolesti:

1. Akromegalija; 2. Kušingov sindrom; 3. Glukagonom; 4. Feohromocitom; 5. Hipertireoza; 6. Somatostatinom; 7. Aldosteronom; 8. Ostali

E. Dijabetes melitus indukovan lekovima ili hemikalijama:

1. Vakor; 2. Pentamidin; 3. Nikotinska kiselina; 4. Glukokortikosteroidi; 5. Tireoidni hormoni; 6. Diazoksid; 7. β adrenergički agonisti; 8. Tiazidi; 9. Dilantin; 10. γ Interferon; 11. Ostali

F. Dijabetes melitus indukovan infekcijama:

1. Kongenitalna rubella; 2. Infekcije prouzrokovane citomegalovirusom; 3. Ostali

G. Retki oblici imunološki posredovanog dijabetes melitusa:

1. "Stiff man sindrom"; 2. Antitela na insulinski receptor; 3. Ostali

H. Druge nasledne bolesti u kojih se može javiti dijabetes mellitus:

1. Downov sindrom; 2. Klinefelterov sindrom; 3. Turnerov sindrom; 4. Wolframov sindrom; 5. Friedreichova ataksija; 6. Huntingova horea; 7. Laurence-Moon-Biedlov sindrom; 8. Miotonična distrofija; 9. Porfirija; 10. Prader Wilijev sindrom; 11. Ostali

IV. Gestacijski dijabetes melitus (GDM)

Tip 1 dijabetesa melitusa

Tip 1 dijabetesa karakteriše destrukcija β ćelija koja obično dovodi do apsolutnog insulinskog deficita.

Imunološki uzrokovan dijabetes (Tip 1A): Ovaj oblik dijabetesa čini od 5 do 10% svih slučajeva dijabetesa, prethodno nazivan insulin-zavisni dijabetes melitus (IZDM odn. IDDM), juvenilni dijabetes i Tip 1 dijabetesa, je stanje u kome pankreas luči malo ili nimalo insulina, jer su β ćelije ostrvaca pankreasa razorene putem autoimunog mehanizma (destrukcija kroz aktivaciju celularnog imuniteta). Markeri imune destrukcije β ćelija su autoantitela protiv struktura ostrvaca i β ćelija i jedno ili više ovih antitela je pozitivno u 85 do 90% osoba, kada se inicijalno detektuje hiperglikemija. Ova je bolest takođe jasno povezana sa određenim HLA genima i prisustvo određenih alela može biti predisponirajuće ili protektivno [Devendra i sar. 2004].

Idiopatski dijabetes tip 1 (Tip 1B): Neki oblici Tip 1 dijabetesa nemaju poznat uzrok. Neki od ovih pacijenata imaju trajni deficit insulina i sklonost ka ketoacidozi, ali

nemaju znakove postojanja autoimunosti. Ovih pacijenata je procentualno jako malo i većina njih je afričkog ili azijskog porekla. Osobe sa ovim oblikom dijabetesa imaju epizode ketoacidoze, a između njih imaju varijabilni nivo deficita insulina. Ovaj oblik dijabetesa ima snažnu naslednu osnovu, nema imunoloških dokaza za β ćelijsku autoimunost i nije povezan sa HLA. Neophodnost nadoknade insulina u terapiji može biti promenljiva [Abiru i sar. 2002].

Tip 2 dijabetesa melitusa

Tip 2 dijabetesa melitusa (u dijapazonu od predominantno insulinske rezistencije sa relativnim insulinskim deficitom do predominantno insulinskog sekretornog deficita sa insulinskom rezistencijom). Ovaj oblik bolesti koji čini približno 90 do 95% od ukupnog broja slučajeva dijabetesa u svetu, prethodno nazivan insulin-nezavisni dijabetes melitus (INZDM odn. NIDDM), tip 2 dijabetesa, adultni dijabetes, nastaje zbog dva faktora: prisustva insulinske rezistencije u skeletnim mišićima i jetri i smanjene proizvodnje insulina, pa postoji relativan, a retko apsolutni deficit insulina. Na početku bolesti, a kod nekih obolelih i tokom čitavog života, nema potrebe za insulinskom terapijom da bi preživeli. Najverovatnije postoji veliki broj uzroka za nastanak tipa 2 dijabetesa. Iako specifični etiološki faktori nisu poznati, autoimuna destrukcija β ćelija se ne dešava, kao ni neki od uzroka koji su pobrojani kod kategorije ostalih specifičnih tipova dijabetesa [American Diabetes Association. 2012b; American Diabetes Association 2013].

Tip 2 dijabetesa je progresivna bolest u kojoj proizvodnja insulina opada kako bolest napreduje, što dovodi do povećanja neuspeha apsorpcije glukoze. U ranim fazama dijabetesa tipa 2, najznačajniji patološki proces je insulinska rezistencija. Insulinska rezistencija se razvija iz nepoznatih genetskih defekata u kombinaciji sa faktorima sredine, pre svega su to gojaznost i fizička neaktivnost. Kako bolest napreduje, insulinska rezistencija ostaje relativno stabilna, a proizvodnja insulina opada progresivno [Kahn 2003].

Većina bolesnika sa ovim oblikom bolesti je gojazna, a gojaznost sama po sebi dovodi do izvesnog stepena insulinske rezistencije. Pacijenti koji nisu gojazni prema tradicionalnim kriterijumima za gojaznost, mogu imati povećani procenat telesne masti raspoređene predominantno u abdominalnoj regiji. Ketoacidoza se retko dešava spontano u ovom obliku dijabetesa, kada se i desi obično je udružena sa stresom od neke postojeće bolesti ili infekcije. Ovaj oblik bolesti obično godinama može da bude nedijagnostikovano, jer

se hiperglikemija razvija postepeno i u početnim fazama nije tako ozbiljna da bi pacijenti primetili karakteristične simptome dijabetesa. Ipak i ovi pacijenti imaju povišen rizik za razvoj makrovaskularnih i mikrovaskularnih komplikacija. Iako je izmereni nivo insulina kod ovih pacijenata naizgled normalan ili i povišen, u poređenju sa glikemijom kod ovih bolesnika bi mogli očekivati i viši nivo insulina da im je funkcija β ćelija normalna. Znači, sekrecija insulina kod ovih bolesnika je oštećena i ne može kompenzovati postojeći nivo insulinske rezistencije [Festa i sar. 2006]. Insulinska rezistencija se može poboljšati redukcijom telesne težine i farmakološkom terapijom i redukcijom hiperglikemija, ali se retko može normalizovati. Rizik od razvoja ovog oblika bolesti raste sa godinama starosti, gojaznošću i nedostatkom fizičke aktivnosti. Češće se dešava kod žena koje su prethodno imale gestacijski dijabetes i u osoba sa hipertenzijom i hiperlipidemijom, a učestalost mu varira i zavisno od rasne i etničke pripadnosti. Često je udružen sa snažnom genetskom predispozicijom, izraženijom nego kod autoimune forme T1DM. Ipak genetska osnova ovog tipa dijabetesa je kompleksna i nije jasno definisana [Frayling 2007; Stumvoll i sar. 2005; American Diabetes Association 2013].

Nazivi „Insulin zavisni dijabetes melitus – IZDM“ (engl. IDDM) i „Insulin nezavisni dijabetes melitus – INZDM“ (engl. NIDDM) su prethodno bili korišćeni za tip 1, odnosno tip 2 dijabetesa melitusa. Međutim, ovi nazivi mogu biti pogrešno shvaćeni i više se ne preporučuju, jer je kod brojnih pacijenata sa T2DM potrebna terapija insulinom.

Ostali specifični tipovi dijabetesa

Brojni su specifični poremećaji koji uzrokuju razvoj dijabetesa melitusa, ali ukupno gledano, odgovorni su za razvoj bolesti kod jako malog broja bolesnika. Podela ovih oblika bolesti je prema grupama potencijalnih uzročnika.

Gestacijski dijabetes melitus

Godinama je gestacijski dijabetes melitus (GDM) definisan kao pojava bilo kakvog stepena glukoze intolerancije tokom trudnoće [International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel 2010]. U većini slučajeva GDM, poremećaj se povlači i spontano rešava sa završetkom trudnoće, pa je i ova činjenica neophodna za definisanje ovog poremećaja, u suprotnom nije isključena mogućnost da se radi o neprepoznatom prethodno postojećem poremećaju ili poremećaju koji je u nastanku

koincidirao sa trudnoćom. Obzirom na postojeću svetsku epidemiju gojaznosti i dijabetesa tipa 2, sve je više žena u reproduktivnom periodu kod kojih se pojavljuje ovaj oblik bolesti, pa ukoliko se dijagnoza postavi tokom trudnoće i proglašeni gestacijskim dijabetesom to dovodi do porasta broja nedijagnostikovanih slučajeva T2DM u žena [Landon i sar. 2009; Crowther i sar. 2005].

Epidemiologija T1DM

Epidemiološke studije pokazale su velike globalne varijacije u incidenci, prevalenci i temporalnim trendovima u T1DM. Izveštaji o trendovima su dostupniji iz zemalja sa razvijenijim sistemom javnog nadzora nad zdravstvenim sistemom i razvijenom istraživačkom infrastrukturom. Stoga su najznačajniji podaci iz velikih multinacionalnih studija, od kojih su značajnije World Health Organization Multinational Project for Childhood Diabetes, poznata kao DIAMOND Project, EURODIAB i SEARCH for Diabetes in Youth (SEARCH) study [DIAMOND Project Group 2006; Karvonen i sar. 2000; EURODIAB ACE Study Group 2000; Levy-Marchal i sar. 2001; SEARCH for Diabetes in Youth Study Group 2006; Dabelea i sar. 2007].

World Health Organization Multinational Project for Childhood Diabetes, poznata kao DIAMOND Project, pokrenuta je 1990. godine sa glavnim ciljem da opiše incidencu T1DM u dece. Inicijalni izveštaj iz 2000. opisuje incidencu T1DM u dece do 14 godina starosti u 50 zemalja širom sveta kroz analizu 19164 slučajeva u ukupnoj populaciji od 75,1 miliona dece (procenjeno da čini oko 4,5% svetske populacije tog uzrasta) iz perioda 1990-1994 [Karvonen i sar. 2000]. Razlika u incidenci T1DM među 100 populacija širom sveta se razlikuje za više od 350 puta i ide od najniže incidence od 0,1/100000 godišnje u Kini i Venecueli do 36,5/100000 godišnje u Finskoj i 36,8/100000 godišnje na Sardiniji. Najmanja incidenca (<1/100000 godišnje) zabeležena je u Kini i Južnoj Americi, a najveća incidenca (>20/100000 godišnje) zabeležena je u Sardiniji, Finskoj, Švedskoj, Norveškoj, Portugaliji, Velikoj Britaniji, Kanadi i Novom Zelandu. Približno u oko polovine Evropske populacije incidenca je 5-10/100000 godišnje a u ostatku Evrope je veća. Incidenca T1DM raste sa godinama, sa najvišom incidencom u populaciji između 10 i 14 godina.

U samo tri centra je saopštena laka predominacija u muškom polu, a ni u jednoj populaciji nije zabeležen eksces u ženskom polu.

Većina podataka ukazuje na porast incidence T1DM u celom svetu od približno 2 do 5% godišnje. Porast je izraženiji u zemljama sa nižom incidencom, ali čak i u zemljama sa najvišom stopom, kao što je Finska, nema usporavanja porasta od kada se beleže statistički podaci od 50-tih godina 20. veka [Gillespie i sar. 2004; Gale 2002a].

Dalja saopštenja iz nastavka DIAMOND projekta analizirala su trend incidence T1DM od 1990-1999. u 114 populacija iz 57 zemalja. Na osnovu analize 43013 slučaja iz populacije od 84 miliona dece do 14 godina starosti saopšten je prosečan godišnji porast incidence tokom ovog perioda od 2,8% sa nešto većim porastom u periodu 1995. do 1999. od 3,4% u odnosu na period 1990. do 1994. od 2,4%. Ovaj trend porasta incidence zabeležen je u celom svetu sa izuzetkom centralne Amerike. Ovakvi rezultati upućuju da ovakav porast ne može biti rezultat promena genetskih faktora u tako kratkom vremenskom periodu, već faktora sredine i odnosa faktora sredine sa genetskim faktorima u nastanku bolesti [DIAMOND Project Group 2006; Gillespie i sar. 2004].

U SAD su podaci iz Colorado IDDM study registry i iz SEARCH study pokazali porast incidence tokom protekle tri decenije. Tokom 26-ogodišnjeg perioda incidenca T1DM je porasla za 2,3% sa značajnim porastom u bele (i non hispano i hispano) populacije. Incidenca T1DM je bila 14,8/100000 godišnje u periodu 1978-1988. i 23,9/100000 godišnje u periodu 2002-2004. u državi Kolorado [Vehik i sar. 2007].

Studija u Evropi (The EURODIAB ACE study group) zabeležila je 16362 slučaja T1DM u 44 centra širom Evrope i u Izraelu, pokrivši populaciju od oko 28 miliona dece tokom perioda od 1989-1995. U ovom periodu standardizovana godišnja incidenca varirala je značajno od 3,2/10000 osoba godišnje (engl. person years) u Makedoniji do 40,2/100000 osoba godišnje u dva regiona u Finskoj. U navedenom periodu godišnji porast stope incidence T1DM bio je 3,4% mada je zabeležena i viša stopa porasta u nekim zemljama Centralne Evrope [EURODIAB ACE Study Group 2000].

Zabeležena je najviša stopa porasta incidence u najmlađoj grupi dece: u dece od 0 do 4 godine 6,3%, od 5 do 9 godina 3,1% i 10 do 14 godina 2,4% čime je teret ove bolesti sve teži jer ranije pojavljivanje znači duži period dijabetesnog staža. Ovaj trend da se smanjuje starost u kojoj se pojavljuje T1DM, koji se naročito odnosi na porast u dece do 5 godina, ističe se u podacima iz Švedske i Belgije. U Švedskoj od 1983. do 1998. godine ukupna incidenca T1DM nije porasla, ali je medijana starosti u trenutku postavljanja dijagnoze

značajno pala. Sličan nalaz je saopšten u Belgiji u periodu od 1989. do 2000. godine u mlađih od 40 godina [Dahlquist i sar. 2000; Weets i sar. 2002].

Ovaj pomak ka mlađim godištimama kod postavljanja dijagnoze možda označava izlaganje višem nivou faktora okoline u indukciji bolesti ili odgovara porastu telesne težine populacije [Tremblay i Willms 2000; Chinn i sar. 1998].

Ubedljiv je i podatak da se populacije migranata za vrlo kratko vreme uklapaju u stope incidence koje važe za populacije njihovih novih zemalja. Stopa incidence kod dece porekla iz jugoistočne Azije u UK slična je onoj u bele dece i dece ostalih etničkih pripadnosti, iako je to u izrazitom kontrastu sa vrlo niskom stopom koja postoji u Aziji. Ova konvergencija stope incidence u imigrantskim populacijama daje jaku podršku teorijama o značaju faktora okoline u patogenezi [Raymond i sar. 2001].

Etiopatogeneza T1DM

Klasični opisi T1DM govore o bolesti detinjstva i rane mladosti (juvenilni dijabetes) i opisuju obično nagli i buran početak bolesti, često sa opasnim komplikacijama na samom početku (dijabetesnom ketoacidozom), obično pre 20. godine života. Novija saznanja ukazuju da je samo oko 50 do 60% obolelih od T1DM mlađe od 16-18 godina na početku bolesti i da bolest u niskoj incidenci može da se pojavljuje i tokom odraslog doba [Molbak i sar. 1994].

T1DM je stanje u kome destrukcija β ćelija pankreasa obično vodi do apsolutnog insulinskog deficita. Opisane su dve forme T1DM, tip 1A rezultat je celularnog autoimunog napada na β ćelije dok je tip 1B mnogo ređi i nepoznatog je uzroka, uglavnom se beleži u osoba azijskog i afričkog porekla i karakteriše ga različiti stepen insulinskog deficita koji se beleži između sporadičnih epizoda dijabetesne ketoacidoze [Redondo i sar. 2001; Lambert i sar. 2004; Devendra i sar. 2004; Abiru i sar. 2002; American Diabetes Association 2013].

Eisenbarth je 1980-tih predložio model razvoja autoimunog oblika T1DM i iako je od tada razumevanje ovog oboljenja značajno napredovalo i postoje brojne nove informacije, osnovni aspekti ovog modela su i dalje relevantni [Eisenbarth 1986].

Nekoliko je grupa dokaza koji pokazuju da je destrukcija β ćelija autoimune geneze: Postoji infiltracija pankreasnih ostrvaca limfocitima i makrofazima (insulitis) [Gepts 1965]; Prisutna su autoantitela na antigene ćelija ostrvaca (ICA): tirozin fosfatazu IA-2 (IA2A), dekarboksilazu glutaminske kiseline-65 (GADA), insulin (IAA) i cink transporter ZnT8

[Slc30A8] (ZnT8A) [Eisenbarth 1986; Atkinson i Eisenbarth 2001; Wenzlau i sar. 2007]; Sklonost pojavljivanja T1DM u osoba koje nose specifične kombinacije alela u lokusima važnim za imuni odgovor u okviru HLA kompleksa gena [Nepom i Kwok 1998]; Povećana prevalenca organ specifičnih autoimunih poremećaja u obolelih od T1DM [Barker 2006; Eisenbarth i Gottlieb 2004; De Block i sar. 2001; Barker i sar. 2005]; Bolest se može preneti preko ćelija slezine ili kostne srži [Lampeter i sar. 1993]; Animalni modeli T1DM (NOD miševi, BB pacovi) pokazuju defekt u imunoregulaciji koji doprinosi razvoju bolesti.

Ovaj model polazi od premise da se svi rađaju sa izvesnim stepenom predispozicije da razviju T1DM, kod nekih je ova predispozicija izražena i velika, dok je kod drugih vrlo mala. Predispozicija je u velikoj meri nasledna, i ogleda se pretežno u postojanju HLA genotipova [Daneman 2006].

Postojanje konkordantnosti u identičnih blizanaca u nešto manje od 50% ukazuje na ulogu genetskih faktora za razvoj T1DM [Haller i sar. 2005; Kelly i sar. 2001]. Kao i druge organ specifične autoimune bolesti i T1DM ima udruženost sa određenim HLA antigenima (engl. human leukocyte antigen). Genetska predispozicija za razvoj T1DM najpre je dokazana za gene iz HLA kompleksa na 6. Hromozomu, koji se dele u tri regiona, klasu I, klasu II i klasu III. Aleli iz klase II gena DQ i DR (i u manjoj meri DP) su najvažniji u determinisanju sklonosti za T1DM i smatra se da doprinose polovini familijarne osnove T1DM. Označavaju se i kao IDDM1 geni. Molekuli klase II prisutni su na antigen prezentujućim ćelijama (makrofazi, dendritične ćelije i B ćelije) i prezentuju antigene CD4+ T limfocitima. Haplotipovi DR3 i DR4 su najjače povezani sa T1DM i više o 90% obolelih od T1DM ima jedan ili oba ova haplotipa u poređenju sa njihovom rasprostranjenošću od oko 40% u opštoj populaciji [Lie i sar. 2000; Baisch i sar. 1990]. Neke kombinacije HLA alela se nalaze u učestalosti koja je veća nego što bi se očekivalo i nisu ravnomerno i slučajno raspoređene u populaciji. Ovaj fenomen se zove neuravnoteženost vezanosti (engl. linkage disequilibrium). Tako su dve kombinacije HLA gena (ili haplotipa) od posebnog značaja: DR4-DQ8 i DR3-DQ2. Osobe koje imaju kombinaciju ova dva haplotipa imaju najveći rizik. Ove osobe imaju oko 20 puta veći rizik od razvoja T1DM u poređenju sa opštom populacijom. Ovaj visokorizični genotip je prisutan u 2,4% novorođenčadi [Rewers i sar. 1996]. Do 15. godine života 5% dece iz ove grupe razvije autoimunost na ostrvca i T1DM u poređenju sa 0,3% u opštoj populaciji. Još neki dodatni genotipovi HLA klase II doprinose u izvesnoj meri riziku za razvoj T1DM, dok su neki protektivnog karaktera. Ekspresija DR2 je

smanjena u osoba sa T1DM te se vezuje sa protekciju od razvoja bolesti [Eisenbarth i Gottlieb 2004].

Od gena koji nisu HLA samo je jedan sa potpunom sigurnošću vezan za razvoj T1DM, označen kao IDDM2, nalazi se na hromozomu 11 i odgovoran je za oko 10% familijarne agregacije T1DM. Deo je gena za insulin i označava se sa InsulinVNTR gen. Uz ove postoje brojni geni kandidati koji doprinose razvoju T1DM u manjoj meri i brojne studije usmerena njihovu identifikaciju i određivanje njihovog značaja [Todd i sar. 2007].

Sem ovog najčešćeg oligo/poligenskog tipa nasleđivanja, postoje i retke forme T1DM koje imaju monogeno nasleđivanje i deo su naslednih sindroma. Mutacije FoxP3 gena koji reguliše razvoj regulatornih T ćelija rezultuje u razvoju IPEX sindroma (Immune Dysfunction, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked) [Wildin i Freitas 2005]. Mutacija gena AIRE (Autoimmune Regulator) dovodi do razvoja APS-1 (Autoimmune Polyendocrine Syndrome Type 1), označen i APECED (Autoimmune Polyendocrinopathy-Candidiasis-Ectodermal Dystrophy) [Su i Anderson 2004].

Uprkos jasno dokazanim genetskim faktorima za sklonost za razvoj T1DM, jasno je da sem njih mora da postoji neki faktor okoline koji će pokrenuti imunu reakciju, koja će dovesti do destrukcije β ćelija. Studije sa identičnim blizancima pokazuju diskordantnost u oko polovine slučajeva, što naglašava značaj faktora okoline i njihovu interakciju sa imunim sistemom. Porast incidence dijabetesa od 3 do 5% godišnje za poslednjih 50 godina je značajan, odnosno incidenca se duplira svakih 20 godina, što ne može biti objašnjeno promenama genetskih faktora [Harjutsalo i sar. 2008; Vehik i sar. 2007]. U ovom smislu naročito je značajan porast incidence u najmlađim starosnim grupama. Od značaja je i epidemijaska pojava T1DM, kao i sezonski karakter pojave bolesti [Rewers i sar. 1987; Fleegler i sar. 1979]. Stoga su brojna istraživanja usmerena na identifikaciju potencijalnih faktora sredine za razvoj T1DM i fokus je na virusima i faktorima ishrane.

Od virusa najviše pažnje imaju enterovirusi, koksaki, kongenitalna rubela, citomegalovirus, parvovirus B19, rotavirus. Jasna povezanost dokazana je jedino za kongenitalnu rubela infekciju, gde osobe imaju verovatnoću od oko 20% da dobiju T1DM kasnije u životu [Roivainen 2006; Hyöty 2004; Lammi i sar. 2005]. Od dijetalnih faktora pominju se pojedini toksini iz životne sredine, recimo nitrozamini [Helgason i Jonasson 1981], a od hrane se optužuje rano izlaganje nekim proteinima, pre svega iz kravljeg mleka, nekih žitarica i glutena, deficit vitamina D ili omega-3 masnih kiselina [Ziegler i sar. 2003].

Rezultati studije The Diabetes Autoimmunity Study of the Young (DAISY) nisu dokazali da proizvodi od kravljeg mleka, vakcinacije i enterovirusne infekcije doprinose riziku za razvoj dijabetesa, ali su ukazali na smanjeni unos omega-3 masnih kiselina i rani dijetalni unos žitarica [Norris i sar. 2007].

Još jedna hipoteza o uticaju sredine na razvoj autoimunosti nazvana je „Higijenska hipoteza“. Ona proističe iz opažanja da su atopijske bolesti, kao astma, mnogo zastupljenije u razvijenim društvima u poređenju sa tradicionalnim, kao i u dece u manjim porodicama i u dece koja odrastaju u porodicama, u odnosu na onu koja su čuvana u većim grupama, i postoje sličnosti sa ovim i u pojavi dijabetesa. Uprošćeno rečeno, sredina u kojoj ta deca odrastaju je previše „čista“ što vodi u defekte imunoregulacije, odnosno deca su manje izložena infekcijama i ostalim imunološkim izazovima sredine rano u životu, koji predstavljaju zaštitni uticaj sredine [Gale 2002b; Bach 2002; Kaila i Taback 2001].

Abnormalna aktivacija T ćelijskog imunog sistema dovodi do inflamatornog procesa u ostrvcima (insulitis), ali i do humoralnog (B ćelijskog) odgovora sa produkcijom antitela protiv antigena sa β ćelija. Prva opisana su antitela na ćelije ostrvaca (engl. Islet cell antibodies-ICA), ali su potom identifikovana više specifična autoantitela na insulin (IA), tirozin fosfatazu Insulinoma antigen (IA-2), dekarboksilazu glutaminske kiseline (GAD) i cink transporter 8 (ZnT8), koja se određuju pomoću radioimunoeseja [Devendra i sar. 2004]. Insulinska autoantitela (IAA) bivaju maskirana antitelima koja se stvaraju na egzogeni insulin nakon otpočinjanja terapije, pa se teško određuju već nakon 10 do 14 dana. Antitela na ZnT8 (ZnT8A) se takođe relativno brzo gube nakon postavljanja dijagnoze T1DM, dok se antitela protiv GAD (GADA) i IA-2 (IA-2A) održavaju i duži niz godina nakon dijagnoze, mada se retko mogu dokazati nakon 10 godina od postavljanja dijagnoze. Izgleda da se i pojavljuju jedno za drugim, IAA se obično pojavljuju prva i to naročito kod mlađe dece, GADA obično označavaju generalnu sklonost ka autoimunim poremećajima, dok su IA-2A najverovatnije najspecifičniji marker β ćelijske destrukcije. Testiranje na makar dva od ovih antitela smatra se standardom u dijagnostici T1DM [Bonifacio i sar. 2010]. Prisustvo jednog ili više tipova autoantitela može prethoditi kliničkom početku T1DM godinama, čak i decenijama. Prisutvo više autoantitela kod predisponirane osobe povećava verovatnoću da se razvije klinički manifestan T1DM. Nema dokaza da bilo koje od ovih autoantitela ima aktivnu ulogu u patogenezi bolesti kod ljudi [Krischer i sar. 2003; Maclaren i sar. 1999; Barker i sar. 2004].

Prevalencija autoantitela u pacijenata sa T1DM varira od populacije do populacije i zavisno od metoda njihovog određivanja. U multicentričnoj SEARCH studiji

novodijagnostikovanih T1DM i T2DM kod mladih 52% je bilo pozitivno na GADA, 60% je bilo pozitivno na IA-2A a 38% je bilo pozitivno na oba [Dabelea i sar. 2011]. Ova studija nije obavljala testiranje na IAA i ZnT8A i krv je uzimana mesecima, pa čak i godinama nakon postavljanja dijagnoze. Nasuprot ovom Childhood Diabetes in Finland Study Group je pronašla da je među decom sa novodijagnostikovanim T1DM 91% bilo pozitivno na bar dva autoantitela, a 71% na tri ili više. Sem toga IA-2A su detektovana u 86% slučajeva [Savola i sar. 1998].

Eisenbarth je 1980-tih predložio model razvoja autoimunog oblika T1DM, po kome se on odvija kroz šest faza, počev od genetske predodređenosti do kompletnog ili skoro kompletnog razaranja β ćelija pankreasa. U prvoj fazi postoji opisana genetska predispozicija, koja se ogleda u postojanju pre svega određenih HLA haplotipova. U drugoj fazi, neki faktor iz okoline pokreće proces autoimunosti i o ovoj fazi se praktično najmanje zna. U trećoj fazi postoje jasni znaci imunološkog procesa (autoantitela) koji postepeno razara β ćelije, ali je u ovoj fazi sekrecija insulina još uvek dovoljna za normalan metabolizam. U četvrtoj fazi, masa β ćelija se smanjuje, nepoznato tačno koliko, ali se mogu dokazati metaboličke abnormalnosti, pre svega izvođenjem intravenoznog glukozo tolerans testa. Peta faza je faza manifestnog dijabetesa koji obično nastupa naglo, jasnom hiperglikemijom, a ponekad i težim metaboličkim komplikacijama i razvojem ketoze i ketoacidoze. U ovoj fazi sekrecija insulina je mala i nedovoljna za obezbeđenje normalne glikoregulacije, ali i dalje progresivno opada, što se utvrđuje merenjem C-peptida i tako postepeno nastupa poslednja, šesta faza kompletne destrukcije β ćelija, kada praktično nestaje sekrecija insulina, odnosno nivo C-peptida pada na nemeprljiv nivo [Eisenbarth 2010].

Dokaz koji podržava ovakvu autoimunu patogenezu T1DM je i podložnost obolelih od T1DM da obole od drugih autoimunih bolesti kao što su Hašimoto tiroiditis, Grejvsova bolest, Adisonova bolest, celijakija, miastenija gravis i vitiligo [Barker i sar. 2005; Kordonouri i sar. 2005; Skovbjerg i sar. 2005; Norris i sar. 2005]. Kod oko trećine obolelih od T1DM autoimuni napad nije limitiran na β ćelije, već se prezentuje kroz neki od poliglandularnih autoimunih sindroma. Od 15 do 30% obolelih od T1DM ima tiroidnu bolest (Hašimoto tiroiditis ili Grejvsovu bolest), kod 5 do 10% se dijagnostikuje autoimuni gastritis i/ili perniciozna anemija, kod 4 do 9% celijakija, oko 0,5% ima Adisonovu bolest, a 2 do 10% vitiligo [Barker 2006; Eisenbarth i Gottlieb 2004; De Block i sar. 2001; Barker i sar. 2005; Landin-Olsson i sar. 1992; Maclaren i Riley 1985; Betterle i sar. 1984].

Iako su skorašnja istraživanja dodatno doprinela razumevanju patogeneze T1DM i po nekima je sve više dokaza koji podržavaju ovaj Eisenbarthov model [Daneman 2005], još uvek to nije jedinstvena teorija o uzrocima bolesti. Najviše se govori o „akceleratorskoj hipotezi“.

Po ovoj hipotezi, smatra se da je dijabetes melitus jedna jedinstvena bolest, a ne dva entiteta T1DM i T2DM. Razlika između dva oblika je samo u stopi gubitka β ćelija i u tome koji je akcelerator odgovoran. Opisuju se tri akceleratora, prvi je osnovni unutrašnji (engl. intrinsic) i predstavlja ga potencijal za visoku stopu apoptoze β ćelija. Ovo je esencijalni, ali ne i dovoljni korak u razvoju dijabetesa. Druga dva akceleratora su stečena i to su insulinska rezistencija i β ćelijska autoimunost. Insulinska rezistencija je obično posledica porasta telesne težine i fizičke neaktivnosti i ona je centralna povezujuća karika između dva tipa dijabetesa. Insulinska rezistencija vrši pritisak na β ćeliju koja je već predodređena za ubrzanu apoptozu i tako doprinosi pojavi dijabetesa. Treći akcelerator je prisutan samo kod osoba koje su genetski predisponirane za β ćelijsku autoimunost. Kada je prisutan i ovaj treći akcelerator β ćelija sklona apoptozi, a metabolički više aktivna jer je opterećena insulinskom rezistencijom, pod velikim je rizikom da pod uticajem autoimunog procesa naglo propada i da dođe do prezentacije tipičnog T1DM. U odsustvu ovog trećeg akceleratora, apoptoza β ćelije je sporija i progresija ide ka razvoju T2DM. Zagovornici ove hipoteze tvrde da je porast gojaznosti u dece rezultovao u paralelnom rastu oba tipa dijabetesa u detinjstvu i da sve ranija pojava T1DM u teže dece podržava ovu hipotezu [Wilkin 2001; Betts i sar. 2005; Gale 2006]. O akceleratorskoj hipotezi se i dalje istražuje i ima nekih dokaza da insulinska rezistencija može igrati ulogu u T1DM, ali još uvek nema dokaza da insulinska rezistencija može da utiče na razvoj autoimunosti na ostrvcu [Rewers 2012].

Simptomi nekomplikovanog dijabetesa

Glavni simptomi dijabetesa su sledeći:

neobjašnjiv gubitak telesne težine (iako je apetit često povećan);

polifagija (poliphagia) – glad i unošenje veće količine hrane;

poliurija (polyuria) – često mokrenje;

polidipsija (polydipsia) – žeđanje;

zamućen vid;
umor i malakslost;
loše zarastanje rana (posekotine, ogrebotine i sl);
suvoća ili svrab kože;
rekurentne infekcije, kao što su vaginalna kandidijaza, infekcije prepona (osip) ili spoljne infekcije uha;
osetljivost na infekcije, na primer, mokraćnog trakta.

Akutne komplikacije dijabetesa

Dijabetesna ketoacidoza

Ova akutna komplikacija može biti prva manifestacija prethodno nedijagnostikovanog T1DM ili može biti rezultat povećane potrebe za insulinom koja se dešava tokom infekcije, traume, infarkta miokarda ili hirurškog zahvata. Ovo je po život opasna komplikacija koja ima stopu mortaliteta manju od 5% kod mlađih od 40 godina, ali i preko 20% kod starijih bolesnika. U svih slučajeva potrebno je aktivno tražiti precipitirajući faktor i adekvatno ga lečiti. Loša komplijansa, psihološki faktori i loša edukacija su možda i najčešći faktori učestalih dijabetesnih ketoacidoza. Dijabetesna ketoacidoza se opisuje i kao češća pojava kod bolesnika koji se leče insulinskom pumpom, što je još jedan od razloga za pojačanu samokontrolu kod ovih bolesnika [Rewers i sar. 2002; Roche i sar. 2005; Bui i sar.. 2002].

Akutni deficit insulina kod bolesnika rezultuje u nagloj mobilizaciji energije iz depoa u mišićima i masnom tkivu, što dovodi do pojačanog influksa amino-kiselina i masnih kiselina u jetru koje se konvertuju u glukozu i ketonska tela (acetosirćetnu kiselinu, betaoksibuternu kiselinu i aceton). U odsustvu insulina naravno postoji smanjena potrošnja glukoze i ketona na periferiji. Kombinacija pojačane produkcije i smanjene utilizacije glukoze i ketonskih tela vodi u akumulaciju ovih supstanci u krvi, tako da glukoza u plazmi dostiže visoke vrednosti, kao i ketoni u plazmi. Hiperglikemija osmotskom diurezom dovodi do smanjenja cirkulišućeg volumena, pa smanjenje protoka kroz bubrežne pogoršava hiperglikemiju, a na isti način smanjenje bubrežne ekskrecije vodonikovih jona, koji se

akumuliraju sa porastom ketonskih kiselina, pogoršava stanje metaboličke acidoze. Ozbiljna hiperosmolarnost direktno koreliše sa depresijom centralnog nervnog sistema i komom. Akumulacija ketona uzokuje povraćanje, što doprinosi dehidraciji, a sve zajedno produbljuje stanje kardiovaskularnog kolapsa koji može nastati [Felner i White 2001; Koves i sar. 2004; Kitabchi i sar. 2006].

Hiperglikemijsko hiperosmolarno neketotsko stanje

Ovaj oblik hiperglikemijske kome karakteriše se teškom hiperglikemijom, hiperosmolarnošću, dehidracijom uz odsustvo značajne ketonemije. Obično se pojavljuje kod starijih bolesnika sa T2DM. Letargija i konfuznost nastaju sa porastom osmolarnosti preko 300 mosm/kg, a koma kada osmolarnost raste preko 330 mosm/kg. Ovo stanje nastaje često uz postojanje bubrežne insuficijencije ili kongestivne srčane slabosti koje ga pogoršavaju, a precipitirajući faktor se takođe često može definisati i najčešći su pneumonije, cerebrovaskularni insult, infarkt miokarda, opekotine ili skorašnje operacije. Neki lekovi, kao što su kortikosteroidi i tijazidni diuretici ili procedure sa prevelikim unosom glukoze, kao što je peritonealna dijaliza, se mogu povezati sa nastankom ove komplikacije [Stoner 2005].

Parcijalni, odnosno relativni insulinski deficit dovodi do smanjenja iskorišćenosti glukoze u mišićima, jetri i masnom tkivu, uz paralelni porast glukagona koji vodi do pojačane hepatične produkcije glukoze. Rezultat je hiperglikemija koja dovodi do glikozurije, osmotske diureze i gubitka tečnosti. Prisustvo manjih količina insulina ipak inhibiše lipolizu u adipocitima i samim tim, smanjena dostupnost prekursora (slobodnih masnih kiselina) u jetri limitira produkciju ketona. Smanjena mogućnost nadoknade tečnosti koja kod bolesnika može biti posledica nabrojanih čestih komorbiditeta dovodi do izražene dehidracije, dolazi do jakog porasta osmolalnosti što izvlači vodu iz cerebralnih neurona i dolazi do mentalne depresije sve do kome [Kitabchi i sar. 2009].

Laktatna acidoza

Mlečna kiselina je krajnji proizvod anaerobnog metabolizma glukoze. Normalno, osnovni izvor laktata su eritrociti (koji nemaju enzime za aerobni metabolizam glukoze), skeletni mišići, koža i mozak. Glavni put uklanjanja laktata iz cirkulacije je njihovo preuzimanje u jetri, i u manjoj meri u bubrezima i konverzija u piruvat i eventualno nazad u glukozu procesom za koji je neophodan kiseonik. Laktatna acidoza nastaje kada se akumulira

previše mlečne kiseline u krvi. To može biti rezultat prekomerne produkcije mlečne kiseline (kod hipoksije) ili nedovoljnog uklanjanja (jetrena slabost) ili postoje oba (u cirkulatornom kolapsu). Laktatna acidoza nije retka kod pacijenata sa dekompenzacijom srca, respiratornom i hepatičnom insuficijencijom ili infarktom creva ili ekstremiteta [Woods i Cohen 1999; Ashall i Dawes 2008].

Hipoglikemija

Hipoglikemija je česta komplikacija insulinske terapije u dijabetesnih bolesnika. U najvećem broju slučajeva biva otkrivena i lečena od strane samih pacijenata ili članova njihove porodice, pre nego što napreduje. Uprkos tome hipoglikemija ostaje najčešći uzrok kome u obolelih koji se leče insulinom. Može da se javi i u pacijenata koji uzimaju oralna sredstva koja stimulišu β ćelijsku sekreciju (naročito kod starijih pacijenata, onih sa bubrežnom i jetrenom slabošću).

Hipoglikemija predstavlja limitirajući faktor za postizanje optimalne glikemijske kontrole. Ona predstavlja rekurentni faktor morbiditeta u T1DM, koji u izvesnom broju slučajeva može biti i fatalan. Hipoglikemija oslabljuje odbranu od narednih hipoglikemija i tako uzrokuje začarani krug rekurentnih hipoglikemija. Hipoglikemija sprečava održavanje euglikemija tokom života dijabetesnih bolesnika i samim tim postizanje benefita od dobre glikemijske kontrole. Zato se kaže da euglikemija nije prigodan glikemijski cilj kod velike većine obolelih od T1DM. Možda je razuman cilj da se podešavanjem delovanja egzogeno datog insulina postigne najniža srednja vrednost glikemije (merena recimo HbA1c), a da se ne uzrokuju teške hipoglikemije, omogućiti kontinuirano prepoznavanje hipoglikemija i da se uzrokuje podnošljiv broj simptomatskih hipoglikemijskih epizoda [Cryer 2010].

Incidencija i uticaj hipoglikemija

Jatrogena hipoglikemija je sastavni deo života obolelih od T1DM [Cryer 2008]. Oni prežive nebrojeno mnogo asimptomatskih hipoglikemija. U jednoj studiji sa kontinuiranim subkutanom monitoringom glikemije u T1DM nivo glukoze manji od 3,9 mmol/L bio je zabeležen 1,5 sat dnevno (odnosno 6,3% vremena) [Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group 2009]. U studiji koja je uključivala noćno merenje glikemije svakih 15 minuta u T1DM vrednosti manje od 3,9 mmol/L bile su

zabeležene kod 57% bolesnika (12 od 21) [Raju i sar. 2006]. Mnoge od ovih epizoda su asimptomatske, ali nisu i benigne jer one menjaju fiziološki i bihevioralni odgovor na sledeću hipoglikemiju. Ljudi sa T1DM imaju prosečno dve simptomatske hipoglikemije nedeljno, odnosno na hiljade tokom života sa T1DM. Oni aproksimativno imaju prosečno jednom godišnje tešku hipoglikemiju, koja je često sa komom [Cryer 2008].

Pad glikemije je normalno signal za seriju odgovora koji uključuju pad sekrecije insulina dok nivo glukoze pada u nivou fizioloških granica, porast sekrecije glukagona i adrenalina kako nivo glukoze pada ispod fiziološkog nivoa i još intenzivniji simpatoadrenalni odgovor sa simptomima kod nivoa glukoze od 2,8 mmol/L do 3,0 mmol/L. Neurogeni (autonomni) simptomi (uzrokovani kateholaminima odn. adrenergički: tremor palpitacije i anksioznost ili acetilholinom odn. holinergički: prenojavanje, glad, parestezije) su rezultat percepcije fizioloških promena uzrokovanih simpatoadrenalnim odgovorom, uglavnom aktivacijom simpatičkog nervnog sistema [DeRosa i Cryer 2004]. Neuroglikopenijski simptomi (kognitivni ispadi, promene ponašanja, psihomotorne abnormalnosti i kod nižih glikemija grčevi i koma) su rezultat nedostatka glukoze u mozgu. Prag glikemije za ove odgovore je dinamičan. On se pomera ka višim glikemijama kod ljudi sa loše kontrolisanim T1DM, a prema nižim glikemijama kod onih sa dobro kontrolisanim T1DM [Towler i sar. 1993; Boyle i sar. 1988].

Funkcionalno oštećenje mozga uzrokovano hipoglikemijom se tipično koriguje kada se nivo glikemije podigne. Retko hipoglikemija uzrokuje iznenadnu smrt, verovatno zbog kardijalne aritmije, ili ako je prolongirana i izrazita, moždanu smrt [Cryer 2007]. Nalazi istraživanja da je smrt u T1DM rezultat hipoglikemije variraju od 2% do 4% pa sve do 6% do 10% [Skrivarhaug i sar. 2006]. Rizik od kardiovaskularne smrti može biti povećan usled teških hipoglikemija, naročito kad postoji prethodna kardiovaskularna bolest i naročito se produbljuje kada se razvije neprepoznavanje hipoglikemija, naročito u pacijenata kada je udruženo sa autonomnom dijabetesnom neuropatijom, koja je snažan faktor rizika za iznenadnu smrt [Lalić 2013].

Definicija hipoglikemije u T1DM

Prema definiciji The American Diabetes Association (ADA) Workgroup on Hypoglycemia hipoglikemiju u obolelih od dijabetesa predstavljaju „sve epizode abnormalno niske glikemije koje izlažu obolelog potencijalnom riziku.“ Ovo uključuje i epizode

asimptomatske hipoglikemije jer one remete odbranu od sledećih hipoglikemija [American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia 2005]. Nije moguće odrediti specifičnu glikemiju koja definiše hipoglikemiju, jer je glikemijski prag za simptome, među drugim manifestacijama, dinamičan [Amiel i sar. 1988]. U svakom slučaju, ADA Workgroup preporučuje da se oboleli od T1DM zabrinu o mogućnosti hipoglikemije ako samokontrolom izmere glikemiju $\leq 3,9$ mmol/L. Ovo je stoga što je pokazano da je nivo od 3,9 mmol/L aproksimativno donja granica postapsorptivne koncentracije glukoze i glikemijski prag za aktivaciju glukoznih kontraregulatornih sistema i to je najviši niski nivo glikemije za koji je pokazano da redukuje kontraregulatorni odgovor na sledstvene hipoglikemije kod nedijabetičara [American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia 2005]. Ipak, ova preporuka ne znači obavezu da pacijenti sa glikemijom $< 3,9$ mmol/L uvek odmah otpočnu samotretman, preporučuje se ponavljanje merenja za adekvatno kratko vreme, uz izbegavanje kritičnih zadataka, kao što je vožnja automobila [Cryer 2009].

ADA Workgroup predlaže i klasifikaciju hipoglikemija u dijabetesu [American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia 2005]. Ona uključuje 1) tešku hipoglikemiju (događaj koji zahteva asistenciju trećeg lica da bi se podigao nivo glikemije i popravilo neurološko oštećenje), 2) dokumentovanu simptomatsku hipoglikemiju (simptomi plus nisko izmerena glikemija), 3) asimptomatsku hipoglikemiju (niska glikemija bez simptoma) i 4) verovatnu simptomatsku hipoglikemiju (simptomi bez merenja glikemije), kao i relativnu hipoglikemiju (simptomi sa nivoom glukoze koji nije nizak, ali se približava tom nivou).

Fiziologija glukozne kontraregulacije

Fiziološku odbranu od pada glikemije u nedijabetičara čine 1) pad u pankreasnoj β ćelijskoj sekreciji insulina, 2) porast sekrecije glukagona iz α ćelija i 3) porast adrenomedularne produkcije adrenalina. Niži nivo insulina pomaže povećanu produkciju glukoze koja je stimulisana glukagonom i adrenalinom. Adrenalin takođe limitira utilizaciju glukoze i pokreće mobilizaciju prekusora glikoneogeneze, a normalno i smanjuje sekreciju insulina što ne može u T1DM. Uobičajeno ponašanje i odbrana od hipoglikemije, koju izazivaju simptomi koji su predominantno simpatoadrenalnog porekla, jeste unošenje ugljenih hidrata [Cryer 2008]. Sve ove odbrane su tipično kompromitovane kod osoba sa T1DM [Cryer 2006].

Patofiziologija glukozne kontraregulacije

Sve preparacije insulina su farmakokinetički nesavršene, pa se stoga epizode terapijske hiperinsulinemije dešavaju s vremena na vreme kod obolelih od T1DM. Ovo uzrokuje sniženje glikemije koje, ako mu se nije efikasno suprotstavilo, rezultuje hipoglikemijom. Apsolutni terapijski insulinski eksces dovoljnog intenziteta može izazvati izolovanu epizodu hipoglikemije uprkos intaktnim kontraregulatornim odbranama [Cryer 2008]. Ali, hipoglikemija je mnogo češće rezultat međusobnog odnosa relativnog i blagog do umerenog apsolutnog terapijskog insulinskog ekscesa i kompromitovanih fizioloških i bihevioralnih odbrana od pada glukoze u plazmi kod obolelih od T1DM [Cryer 2006].

U T1DM prvi i drugi fiziološki odgovor na hipoglikemiju (pad u sekreciji insulina i porast sekrecije glukagona) nisu prisutni. Treći fiziološki odgovor, porast sekrecije adrenalina, često je oslabljen. Gubitak endogenog odgovora insulina je rezultat destrukcije β ćelija što je bazični uzrok T1DM. Gubitak odgovora glukagona je takođe verovatno uzrokovan β ćelijskom destrukcijom, jer pad β ćelijske sekrecije insulina je među ostalim sekretornim odgovorima na pad glikemije, osnovni signal za α ćelijsku sekreciju glukagona [Raju i Cryer 2005]. Iako može biti uzrokovan prethodnim hipoglikemijama, ili prethodnim fizičkim vežbanjem ili spavanjem, sam mehanizam slabljenja simpatoadrenalnog odgovora na pad glikemije nije poznat. Tako u uslovima terapijske hiperinsulinemije i sniženja koncentracije glukoze u plazmi, a uz odsutan sekretorni odgovor insulina i glukagona, smanjenje odgovora adrenalina uzrokuje klinički sindrom defektne glukozne kontraregulacije koji nosi i 25 puta, pa i viši porast rizika od teških jatrogenih hipoglikemija [Heller i Cryer 1991; Bolli i sar. 1984]. Slabljenje simpatoadrenalnog odgovora, pre svega slabljenje njegove simpatičke neuralne komponente, uzrokuje klinički sindrom neprepoznavanja (ili slabijeg prepoznavanja) hipoglikemije i samim tim se gubi osnovna bihevioralna odbrana od hipoglikemije – uzimanje hrane bogate ugljenim hidratima. Neprepoznavanje hipoglikemije je udruženo sa šestostrukim porastom rizika od jatrogenih hipoglikemija [Geddes i sar. 2008].

Koncept slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema udružen sa hipoglikemijom polazi od pretpostavke da skorašnja hipoglikemija ili pređašnje vežbanje ili spavanje uzrokuje i defekt u glukoznoj kontraregulaciji (time što smanjuje porast adrenalina u uslovima odsutnog smanjenja nivoa insulina i odsutnog porasta nivoa glukagona tokom sledeće hipoglikemije) i neprepoznavanje hipoglikemija (zbog smanjenja simpatoadrenalnog odgovora i neurogenih simptoma tokom sledeće hipoglikemije), čime se formira začarani krug za razvoj ponavljanih hipoglikemija. Možda je najubedljiviji dokaz za klinički značaj

slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema kod hipoglikemija nalaz u tri nezavisne laboratorije, da je dovoljno i samo dve do tri nedelje brižljivog izbegavanja hipoglikemija da bi se postigla reverzija i ponovo prepoznavanje hipoglikemija i poboljšanje deficijentnog odgovora adrenalina u glukoznoj kontraregulaciji u većine pacijenata [Fanelli i sar. 1993; Fanelli i sar. 1994; Cranston i sar. 1994; Dagogo-Jack i sar. 1994].

Mehanizam (ili mehanizmi) oslabljenog simpatoadrenalnog odgovora na opadajući nivo glukoze u plazmi koji stoje u osnovi slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom su nepoznati. Razne teorije pominju efekte sistemskih medijatora, kao što je kortizol, na mozak, porast transporta metaboličkih goriva kroz krvnomoždanu barijeru, među kojima je glukoza glavna, promene u hipotalamičnim mehanizmima reagovanja ili aktivaciju inhibitornog centralnog sistema preko talamusa [Arbelaez i sar. 2008].

Faktori rizika za hipoglikemiju u T1DM

Konvencionalni faktori rizika za hipoglikemiju u dijabetesu polaze od premise da je relativna ili apsolutna terapijska hiperinsulinemija jedina determinanta rizika [Cryer i sar. 2003]. Relativna hiperinsulinemija u odnosu na nisku stopu pristizanja glukoze u cirkulaciju ili u odnosu na visoku stopu izlaska glukoze iz cirkulacije, ili apsolutna terapijska hiperinsulinemija dešava se kad su 1) doze insulina visoke, date u pogrešno vreme ili su pogrešnog tipa insulina; 2) kada je egzogeni unos glukoze smanjen, kao kod preskakanja obroka, tokom noćnog perioda gladovanja ili kada je resorpcija smanjena i odložena, kao u gastroparezi ili celijačnoj bolesti; 3) kada je potrošnja glukoze povećana, tokom i neposredno nakon fizičkog vežbanja; 4) kada je smanjena endogena produkcija glukoze, kao nakon uzimanja alkohola; 5) kada je povećana osetljivost na insulin, kao tokom sredine noći, ili nakon gubitka telesne težine, poboljšanja fizičke spremnosti ili poboljšanja glikemijske kontrole; 6) kada je smanjen klirens insulina u bubrežnoj slabosti. Ovi faktori rizika moraju da se detaljno analiziraju kada postoji problem hipoglikemija. Ipak ako se izuzme prvi, ovi faktori rizika objašnjavaju samo manji broj hipoglikemija [DCCT Research Group 1991].

Faktori rizika za slabljenje odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom uključuju: 1) stepen apsolutnog endogenog deficita insulina. Ovo određuje stepen do koga nema pada endogenog insulina odnosno do koga nema porasta glukagona kod pada glukoze nakon terapijske hiperinsulinemije; 2) postojanje prethodnih teških

hipoglikemija, neprepoznavanje hipoglikemija, kao i skorašnje hipoglikemije, prethodno vežbanje ili spavanje, jer sve ovo ukazuje odnosno utiče da se smanji simpatoadrenalni i simptomatski odgovor na sledeću hipoglikemiju, što je osnovno svojstvo slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom; 3) striktna glikemijska kontrola per se (niži ciljevi terapije, niski nivo željenog HbA1c), naime hipoglikemija se može javiti kod pacijenata pri svakom nivou HbA1c, ali je niži srednji nivo glikemije faktor rizika za hipoglikemiju (studije sa grupama u kojima je postizan različit nivo HbA1c kontinuirano pokazuju da je veći broj hipoglikemija kod pacijenata koji su lečeni da se postigne niži HbA1c), mada ovo svakako ne znači da se kod individualnih pacijenata sa T1DM ne može postići dobra metabolička kontrola i da se minimizira rizik od jatrogenih hipoglikemija [Cryer 2008; Cryer i sar. 2003].

Minimiziranje rizika od hipoglikemije u pacijenata sa T1DM

Minimiziranje rizika od hipoglikemije u pacijenata sa T1DM podrazumeva pokušaj redukcije faktora rizika za hipoglikemiju. To podrazumeva 1) prepoznavanje problema; 2) primenu principa terapije za postizanje striktno glikemijske kontrole; 3) razmatranje konvencionalnih faktora rizika za razvoj hipoglikemije; 4) razmatranje faktora rizika za postojanje slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom.

1) Prepoznavanje problema

Zabrinutost pacijenata zbog postojanja hipoglikemija i strah od mogućih hipoglikemija mogu biti prepreka za postizanje dobre glikemijske kontrole [Gonder-Frederick i sar. 2006]. Neki pacijenti odbijaju korekciju i povećanje doze insulina, ali sa druge strane odbijaju i razmatranje problema hipoglikemije, iako imaju izrazitu zabrinutost zbog njega. Stoga se problem hipoglikemija treba razmotriti prilikom svakog kontakta sa obolelim od T1DM. Sem razgovora sa obolelim, od velike koristi je i detaljna analiza dnevnika samokontrole glikemija, kao i razgovor sa onima koji su najbliži obolelom, najčešće sa ukućanima.

2) Primena principa terapije za postizanje striktno glikemijske kontrole

Za primenu principa terapije za postizanje striktno glikemijske kontrole potrebno je: 1-edukacija i osposobljavanje pacijenata; 2-česte samokontrole glikemije; 3-fleksibilni i adekvatni režimi insulinske terapije; 4-individualizacija ciljeva glikemijske kontrole i 5-

kontinuirana dalja profesionalna podrška i vođenje [Davis i Alonso 2004; Rossetti i sar. 2008].

1-edukacija i osposobljavanje pacijenata;

Savremeni terapijski režimi za T1DM su složeni i regulacija glikemije postaje vremenom sve veći izazov [UK Hypoglycaemia Study Group 2007]. Uspešna glikemijska kontrola u velikoj meri zavisi od veština i odluka dobro edukovane osobe sa T1DM. Stoga su nedvosmisleno edukacija i osposobljavanje pacijenata od fundamentalnog značaja.

Obzirom na stalno potrebnu ravnotežu između akcije egzogeno datog insulina i prisutnosti i dostupnosti glukoze u plazmi, oboleli sa T1DM moraju da uče o predviđanju, prepoznavanju i lečenju hipoglikemija. Moraju da znaju uobičajene simptome hipoglikemije, da znaju koji su najznačajniji simptomi hipoglikemije i da znaju kako da leče hipoglikemiju (ali i kako da ne leče prekomerno), kao i da znaju faktore rizika za hipoglikemiju [Cox i sar. 2007]. Oni koji žive sa obolelim moraju da znaju kako da prepoznaju tešku hipoglikemiju i kako da primene injekciju glukagona. Oboleli moraju da znaju da ponavljanje hipoglikemija predstavlja signal da ubuduće raste rizik od novih i težih hipoglikemija i da znaju kako da iskoriste podatke dobijene samokontrolama glikemije da bi korigovali svoju dalju terapiju.

2-česte samokontrole glikemije;

Oboleli od T1DM bi trebalo da redovno sprovode samokontrole glikemije, a uz to i uvek kada posumnjaju na hipoglikemiju. Naročito je važno da provere nivo glikemije pre nego otpočnu neku kritičnu aktivnost kakva je recimo vožnja automobila. Samokontrole glikemije pružaju podatke koji služe za dokumentaciju hipoglikemija, ali i hiperglikemija koji zajedno čine osnovu za prilagođavanje terapijskog režima da bi se prevenirale dalje hipoglikemije [Cox i sar. 2007]. Kontinuirani subkutani glukozni monitoring bi trebalo da smanjuje rizik od hipoglikemija, a da ne kompromituje glikemijsku kontrolu obzirom da daje podatke da li je nivo glukoze stabilan, raste ili pada. Postoji trend stalnog poboljšanja uređaja za CGMS, ali nema još uvek jasnih dokaza o ukupnom benefitu koji donose. U krajnjem se očekuje da jednog dana uređaj za CGMS bude deo zatvorene petlje sa uređajem za administriranje insulina obolelom [Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group 2008]

3-fleksibilni i adekvatni režimi insulinske terapije;

Iako se koristi više terapijskih režima, savremena insulinska terapija je prvenstveno bazal bolus terapija odn. IIT, koja se obezbeđuje kroz više injekcija insulina dnevno (MDII)

ili terapiju pumpom (kontinuirana subkutana insulinska infuzija – KSII). O prednostima upotrebe brzodelujućih insulinskih analoga umesto regular humanog insulina, kao i o prednostima dugodelujućih bazalnih analoga umesto NPH insulina ima više navoda [Hirsch 2005; Gough 2007], a biće i više reči kasnije.

Jatrogena hipoglikemija se često dešava noću, specifično tokom spavanja. U jednoj studiji četvrtina mladih sa T1DM imala je noćne hipoglikemije [Tsalikian i sar. 2005]. U drugoj preko polovine odraslih sa T1DM je imalo noćni nivo glikemije $<3,9$ mmol/L [Raju i sar. 2006]. Noćni period je tipično najduži period između dva obroka i između dve samokontrole glikemije, a predstavlja vreme kada je maksimalna senzitivnost na insulin. Spavanje uzrokuje smanjenje simpatoadrenalnog odgovora na hipoglikemiju. Tako oboleli od T1DM koji spava ima i smanjeni odgovor adrenalina na hipoglikemiju što je osnovna komponenta defektne glukozne kontraregulacije, a ima i otežano buđenje iz sna što predstavlja jednu formu neprepoznavanja hipoglikemije [Banarer i Cryer 2003]. Oboleli imaju za san vezano slabljenje odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom i u visokom su riziku za razvoj hipoglikemije. Pokušaji da se preveniraju noćne hipoglikemije podrazumevaju upotrebu analoga insulina, na način koji će biti objašnjen. Ostali postupci podrazumevaju pokušaje da se obezbedi dugotrajni izvor egzogenih ugljenih hidrata tokom noći. To podrazumeva užine pred spavanje sa skrobnom hranom koja se sporije resorbuje, što je dovodilo samo do pomeranja hipoglikemija za kasnije tokom noći. Alternativno se pokušavalo da se obezbedi da se tokom noći oslobađa dovoljno endogeno stvorene glukoze. To se obezbeđivalo oralnom terapijom β 2-adrenergičkim agonistom terbutalinom pred spavanje koji imitira dejstvo adrenalina, ili prekonoćnom infuzijom glukagona [Cooperberg i sar. 2008]. Oba postupka su efikasna, ali nose rizik od hiperglikemije, i nijedan nije pogodan za veće randomizovane studije koje bi dokazale koliki je stvarno benefit od njih, odnosno koliko smanjuju hipoglikemije bez da remete i pogoršavaju glikemijsku kontrolu.

Fizička aktivnost tokom popodneva je takođe značajan potencijalni uzrok za noćne hipoglikemije. Fizička aktivnost povećava utilizaciju glukoze (od strane mišića koji rade), ali sniženje insulina i porast glukagona normalno preveniraju hipoglikemiju [Ertl i Davis 2004]. Kod obolelih od T1DM uglavnom zbog izostanka pada insulina hipoglikemija nastaje obično tokom ili neposredno nakon fizičke aktivnosti. Ovaj rizik je obično uvek prepoznat i sračunat, ali se zato rizik od kasnih hipoglikemija posle fizičke aktivnosti ređe uzima u obzir. Kasne hipoglikemije posle fizičke aktivnosti u T1DM se dešavaju tipično 6 do 15 sati nakon

napornog vežbanja, pa su samim tim često tokom noći. U jednoj studiji približno polovina mladih sa T1DM je imalo noćnu hipoglikemiju nakon popodnevne fizičke aktivnosti, dok je oko jedne četvrtine iz te grupe imalo noćnu hipoglikemiju u odsustvu popodnevne aktivnosti. Fizička aktivnost smanjuje simpatoadrenalni odgovor na hipoglikemiju nekoliko sati kasnije u T1DM. Tako oboleli od T1DM razvijaju za fiziku aktivnost vezano slabljenje odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom i pate od kasnih hipoglikemija posle vežbanja [Tansey i sar. 2006; Sandoval i sar. 2004].

4-individualizacija ciljeva glikemijske kontrole

Obzirom na dobrobit od striktno glikemijske kontrole u T1DM, postizanje srednje glikemije što je moguće bliže onoj kod nedijabetičara, ukoliko je to moguće postići bezbedno, u najboljem je interesu svakog obolelog. Generalno mereno nivoom HbA1c to je nivo od <7%. Taj cilj je moguće relativno često postići rano nakon dijagnoze T1DM, ali ponekad je to nemoguće bez pojave brojnih hipoglikemija [UK Hypoglycaemia Study Group. 2007]. Dugotrajna korist se postiže svakim sniženjem nivoa HbA1c, makar on bio još uvek iznad željenih ciljnih vrednosti [Lachin i sar. 2008]. Ali, u osoba sa skraćenim očekivanim trajanjem života i sa oštećenjima kod kojih je malo verovatno da bi striktna glikemijska kontrola bila od veće koristi, postavljanje ciljeva na višem nivou glikemije postaje razumno [Skyler i sar. 2009]. Moguće je da je opšti razuman cilj postizanje najniže srednje glikemije, a da se ne dešavaju teške hipoglikemije, da se omogući kontinuirano prepoznavanje hipoglikemija i da se dešava podnošljiv broj simptomatskih hipoglikemija [Cryer 2010].

5-kontinuirana dalja profesionalna podrška i vođenje

Obzirom da je tretman povišene glikemije u T1DM empirijski, medicinsko osoblje bi trebalo da sa svakim individualnim pacijentom pronalazi najbolje metode za glikemijsku kontrolu tokom vremena, u skladu sa svakom fazom u evoluciji njegove bolesti. Podrška pacijentu je najbolja ukoliko ga leči tim koji je dobro obrazovan i posvećen da modifikuje i prenese standarde lečenja kroz negu i lečenje individualnog pacijenta [American Diabetes Association 2012a].

3) Razmatranje konvencionalnih faktora rizika za razvoj hipoglikemije

Konvencionalni faktori rizika za hipoglikemiju su doza, vreme i tip preparata insulina koji se koristi, uslovi koji dovode do smanjenja egzogenog priliva glukoze i endogene produkcije glukoze, povećanje utilizacije glukoze i povećana osetljivost na insulin ili smanjenje klirensa insulina. Rezultat ovoga je relativna ili apsolutna terapijska

hiperinsulinemija. Svaki od ovih faktora mora da se pažljivo analizira kada postoje hipoglikemije ili predstavljaju potencijalnu opasnost [Cryer 2008].

4) Razmatranje faktora rizika za postojanje slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom

Razmatranje faktora rizika za postojanje slabljenja odgovora autonomnog nervnog sistema udruženog sa hipoglikemijom uključuje stepen apsolutnog deficita insulina, podatak o postojanju teških hipoglikemija ili neprepoznavanja hipoglikemija, ili oba, kao i odnos između hipoglikemija i pređašnjih hipoglikemija, spavanja i fizičke aktivnosti, i niže glikemijske ciljeve [Cryer 2008]. Stepem endogenog insulinskog deficita je nemoguće promeniti. Postojanje teške hipoglikemije, ukoliko nije uzrokovana očiglednim i lako uklonivim uzrokom, zahteva detaljnu analizu i ozbiljnu korekciju terapijskog pristupa u smislu smanjenja akcije insulina ili obezbeđivanja više glukoze, ili oba, u periodu u kome je nastupila teška hipoglikemija. U suprotnom verovatnoća ponavljanja teške hipoglikemije je velika [Cox i sar. 2007]. Ako postoji podatak o neprepoznavanju hipoglikemija savetuje se da se u periodu od dve do tri nedelje na sve načine izbegavaju nove hipoglikemije što može dovesti do obnavljanja prepoznavanja hipoglikemije [Fanelli i sar. 1994]. Kada je ovo sprovedeno kroz složeni program edukacije bolesnika približno oko polovine je tokom godinu dana uspostavilo ponovo prepoznavanje hipoglikemija. Konačno podatak o noćnim hipoglikemijama, hipoglikemijama kasno posle fizičke aktivnosti ili oba, razlog su da se promeni terapijski režim i da se redukuje akcija insulina ili da se poveća dostupnost glukoze, ili oba u odgovarajuće doba dana.

Lečenje hipoglikemija u T1DM

Veliku većinu simptomatskih i asimptomatskih hipoglikemija oboleli samostalno i efikasno leče unosom ugljenim hidratima bogatih sokova, slatkiša, hrane. Razumno je uneti oko 20 g glukoze i ponoviti istu količinu za 15 do 20 minuta ako je potrebno. Obzirom da je nakon toga skok glikemije prolazan savetuje se da potom usledi nešto obilnija užina ili obrok [Cryer 2008].

Kada je pacijent u hipoglikemiji bez svesti i ne može da uzme ugljene hidrate peroralno ili kada zbog neuroglikopenijskih simptoma ne saraduje i ne želi da ih uzme, neophodna je parenteralna terapija. Tada se često savetuje i primenjuje subkutana ili intramuskularna injekcija glukagona koju da obično neko od ukućana ili sam pacijent koji je

edukovan da prepozna ozbiljnu hipoglikemiju. Uobičajena doza glukagona od 1 mg uzrokuje značajnu, mada prolaznu, hiperglikemiju. Neželjeni efekat može biti mučnina ili čak povraćanje. Glukagon nema efekta u pacijenata kod kojih su istrošene zalihe glikogena u jetri, kao na primer nakon uzimanja veće količine alkohola. Intravenska primena glukoze sa 25 g inicijalno je standardna parenteralna terapija u zdravstvenim ustanovama, obzirom da je odgovor prolazan savetuje se sledstvena intravenska infuzija glukoze sve do trenutka kada je pacijent u stanju da uzme hranu peroralno i kada se da obrok [Haymond i Schreiner 2001].

Postprandijalna hiperglikemija

Iako su Tip 1 i Tip 2 DM fundamentalno različiti u svojoj etiologiji i epidemiologiji postoji udruženost u sličnom spektru posledica koje nastupaju nakon njihovog dugog trajanja. Oba vode u mikrovaskularne komplikacije koje značajno narušavaju kvalitet života, a oba karakteriše i visok rizik od kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta i do 2 do 11 puta u odnosu na populaciju nedijabetičara iste starosti. Sindrom dijabetesa melitusa je vrlo često udružen sa značajnim porastom u poznatim parametrima kardiovaskularnog rizika, kao što su hipertenzija, hipertrigliceridemija i niski nivo HDL holesterola, i svi ovi faktori su izgleda bolji pokazatelji loše kardiovaskularne prognoze u uslovima hronične hiperglikemije [Garber 2002].

Iako mnoge metaboličke abnormalnosti doprinose ukupnom riziku za razvoj dijabetesnih komplikacija, hiperglikemija i dalje ostaje osnovno obeležje DM. Nivo glukoze u plazmi tj. glikemija je ključni dijagnostički kriterijum za DM i snažno je povezana sa rizikom za razvoj mikro i makrovaskularnih komplikacija. Ova udruženost je poznata već godinama, ali je postala jasno prisutna kada je pronađen jedinstveni marker za procenu ukupne izloženosti glukozi kakav je HbA1c [Laakso 1999]. Glikozilisani hemoglobin obezbeđuje integrisanu meru izloženosti glukozi tokom dana, gde njegovom apsolutnom nivou doprinosi nivo i preprandijalne i postprandijalne glikemije. Pokazana je značajna korelacija između HbA1c i glikemije našte, preprandijalne glikemije i postprandijalne glikemije [Ito i sar. 2000; American Diabetes Association 2001; Bonora i sar. 2001; Avignon i sar. 1997]. Međutim, o relativnom doprinosu glikemije našte u odnosu na postprandijalnu glikemiju još uvek ima protivrečnosti u stavovima.

Postprandijalna hiperglikemija je jedna od prvih abnormalnosti koje je moguće otkriti u DM i može biti bolji prediktor za progresiju iz predijabetesa u DM od merenja

glikemije našte. Postprandijalna glikemija značajno doprinosi srednjoj vrednosti glikemije koja je ključni pokazatelj glikemijske kontrole mereno preko nivoa HbA1c. Bonora i sar. [2001] su pokazali da je nivo HbA1c značajnije povezan sa preprandijalnim glikemijama u odnosu na postprandijalne, iako je većina pacijenata imala jako visoke skokove glikemije nakon obroka i duge periode postprandijalne hiperglikemije. Avignon i sar. [1997] su pak pokazali da je glikemija rano i kasno posle ručka bolji pokazatelj loše glikemijske kontrole nego glikemija pre doručka i glikemija pre ručka. Da li je postprandijalna glikemija ili glikemija našte jači pokazatelj ukupne metaboličke kontrole ostaje da se diskutuje, ali da postprandijalna glikemija snažno doprinosi glikemijskoj kontroli je nesumnjivo.

Neke kalkulacije o relativnom doprinosu glikemije našte i PPG mogu da se vrše. Naime proces glikozilacije je rezultat ukupne izloženosti telesnih proteina glukozi. Ovo može biti kvantifikovano kao površina ispod krivulje dvadesetčetvoročasovnog profila glikemije. U okviru ove površine doprinos bazalne glikemije može biti izračunat kao deo površine koji je ispod linije koja spaja vrednosti glikemije našte u dva uzastopna dana, dok je deo površine koji je iznad ove linije pokazatelj doprinosa postprandijalne glikemije. Stoga u prvim fazama razvoja T2DM, kada se hiperglikemija mahom dešava nakon obroka, postprandijalna glikemija značajnije doprinosi ukupnom izlaganju hiperglikemiji [Del Prato 2002]. Doprinos PPG nivou HbA1c je proporcionalno najveći kada je HbA1c oko 6,5%, dok je još glikemija našte na skoro normalnom nivou. Kako nivo HbA1c raste i pređe 8% relativni doprinos PPG je značajno manji i uticaj glikemije našte dominira. Ovi rezultati objašnjavaju prethodni nalaz da je doprinos PPG približno 70% kod nivoa HbA1c <7,3%, a da je približno 40% kada je HbA1c >9,3% [Monnier i sar. 2003]. Ovakvi nalazi predstavljaju osnovu da se u lečenju DM formira model glukozne trijade kada se govori o ciljevima lečenja, gde tri glikemijska parametra HbA1c, PPG i glikemija našte stoje u međusobnom odnosu i predstavljaju neophodne ciljeve za terapiju koja pokušava da optimizuje glikemijsku kontrolu [Ceriello i Colagiuri 2008].

Kod ljudi sa normalnim metabolizmom glukoze nivo glikemije nakon obroka načelno ne prelazi 7,8 mmol/L i to je vrednost koja je prema definicijama granica, pa je postprandijalna hiperglikemija definisana kao glikemija >7,8 mmol/L 2 sata nakon obroka [Erlinger i Brancati 2001].

Postprandijalna glikemija se definiše najčešće kao nivo glikemije 2 sata nakon početka obroka. Prema preporukama novog vodiča za praćenje i lečenje postprandijalne glikemije, poželjno je meriti je 1 do 2 sata nakon obroka [International Diabetes Federation

2011b]. Optimalni način za kontrolu i praćenje postprandijalne glikemije, prema preporukama, je samokontrola glikemije od strane pacijenata, aparatima za brzo određivanje glikemije. Raniji terapijski ciljevi predloženi od strane poznatih autoriteta uključuju kao željenu vrednost PPG od $<7,8$ mmol/L [AACE Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task Force 2007], kao i raniji vodič IDFa [Ceriello i Colagiuri 2008]. Prema preporukama ADA vrednost ciljne PPG je <10 mmol/L [American Diabetes Association 2012a].

Najnoviji vodič IDFa [International Diabetes Federation 2011b] savetuje da, iako studije u zdrave populacije jasno pokazuju da nivo PPG retko prelazi 7,8 mmol/L i vraća se na nivo bazalne glikemije oko tri sata nakon obroka [Polonsky i sar. 1988; Mazze i sar. 2008; Tsujino i sar. 2009], takav nivo u dijabetesnih bolesnika je teško dostižan, pogotovo u smislu bezbednosti, odnosno teško ga je dostići bez velikog rizika od razvoja hipoglikemija. Stoga je prema ovim preporukama, iz razloga bezbednosti, ciljna vrednost PPG $<9,0$ mmol/L, ukoliko ju je moguće postići uz izbegavanje hipoglikemija.

U novom izdanju našeg nacionalnog vodiča se navodi da je u terapiji pacijenata sa dijabetesom ciljna vrednost postprandijalne glikemije takođe $<9,0$ mmol/L, sa naznakom da se, u T1DM, može tolerisati postprandijalna glikemija <10 mmol/L, ukoliko se ne može postići postprandijalna glikemija prema navedenim kriterijumima bez hipoglikemijskih epizoda [Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse 2012].

U velikim epidemiološkim studijama koje su koristile podatke dobijene nakon oralnog opterećenja glukozom potvrđeno je da je vrednost glikemije 2 sata nakon opterećenja mnogo bolji prediktor kardiovaskularnog rizika od glikemije našte [DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group 2001].

U obolelih od T1DM koji su na intenziviranoj insulinskoj terapiji velike glikemijske ekscurzije su tipične, gde je u studiji sa CGMS tokom 72h merenja zabeležen porast glikemije preko 7,8 mmol/L u 77% obolelih ove grupe [Maia i Araujo 2007].

Što se više postignuti nivo HbA1c približava normalnom opsegu to je manji rizik od komplikacija, a obzirom da doprinos PPG nivou HbA1c postoji na svim nivoima HbA1c i da je značajniji što je niži nivo HbA1c, sniženje PPG postaje značajan terapijski cilj u svim fazama i nivoima kontrole bolesti i može pomoći u redukciji komplikacija bolesti [Monnier i sar. 2003].

Iz fiziologije sledi da ljudi praktično više od polovine života provode u postprandijalnom stanju. Posprandijalno stanje u odnosu na glukozu je definisano kao period od 4 sata neposredno nakon uzimanja obroka [Dinneen i sar. 1992]. Tokom tog vremena ugljeni hidrati iz hrane se razlažu enzimski do glukoze. Iako insulinski odgovor brzo snižava skok glikemije koji sledi nakon obroka na bazalni nivo za manje od 2 sata, apsorpcija obroka traje približno 4 sata, što odgovara postprandijalnom stanju. Postapsorptivno stanje čini 6 sati nakon postprandijalnog stanja. Tokom ovog vremena kod nedijabetičara nivo glikemije se održava normalnim kroz postupak glikogenolize (razlaganja glikogena koji je nagomilan u postprandijalnom periodu). Jedino pravo stanje gladovanja (našte, ili naštinu) nastupa nakon završetka postapsorptivnog perioda, odnosno 10 do 12 sati nakon početka poslednjeg obroka. Tokom stanja gladovanja nivo glikemije se održava blizu normale procesom glikoneogeneze, odnosno produkcije glukoze iz laktata, glicerola i alanina. Stoga se u nedijabetičara koji uzima tri redovna obroka u relativno isto doba dana dnevni dvadesetčetvoročasovni period može podeliti na tri perioda, period gladovanja, postprandijalni i postapsorptivni period. Postprandijalni period pokriva praktično polovinu dana, po 4 sata nakon svakog obroka. Jedini period gladovanja je ograničen na tri do 4 sata na kraju noći (pre buđenja i pre doručka). Sve ostalo vreme dana obzirom na preklapanje postprandijalnog i postapsorptivnog perioda se može proglasiti postapsorptivnim stanjem. Iako je skok glikemije u postprandijalnom periodu kod dijabetičara značajno veći i uz veću varijabilnost, ova tri ista perioda postoje i kod obolelih od DM. Stoga se za praćenje glikemijske kontrole obolelih od DM savetuju samokontrole glikemije koje treba ponavljati tokom dana u nekoliko navrata, kako bi svaki od ovih perioda bio uključen i sagledan kroz redovno merenje. Vrednost pre doručka oslikava stanje perioda gladovanja (našte), vrednosti nakon obroka (1,5 do 2 sata nakon glavnih obroka) svakako pripadaju postprandijalnom periodu, zavisno od razmaka između obroka vrednosti neposredno pre ručka, pre večere i noću takođe oslikavaju postprandijalni odnosno eventualno postapsorptivni period [Monnier 2000]

Epidemiološke i interventne studije su jasno pokazale značaj HbA1c za predviđanje hroničnih dijabetesnih komplikacija. Ipak HbA1c ne može uvek da objasni ukupni rizik. U jednoj od kasnijih analiza rezultata iz DCCT, razlike između grupa tretiranih na intenzivan i konvencionalan način su primećene tokom vremena, tako da je rizik od razvoja retinopatije bio različit između grupa koje su imale sličan nivo HbA1c, naime rizik od retinopatije je bio veći u grupi lečenih konvencionalnom terapijom [Diabetes Control and Complication Trial Research Group 1995]. Stoga se počelo sa spekulacijama da HbA1c nije jedini i kompletni

pokazatelj stepena glikemije. Istraživači iz DCCT su predložili da drugi faktori dijabetesne glikemijske kontrole, koji se ne odražavaju kroz nivo HbA1c, imaju uticaja da modifikuju rizik za nastanak komplikacija. Jedna od mogućnosti je da je rizik od komplikacija zavisao od veličine postprandijalnih skokova glikemije, odnosno od dejstva kontraregulatornih hormona koji se oslobađaju u hipoglikemiji. Drugim rečima, obzirom da je nivo HbA1c jedna zbirna (integralna) mera ukupne izloženosti glukozi, slične vrednosti HbA1c mogu biti rezultat različitih profila glikemije. Tako se došlo do pojma varijabilnosti dnevne glikemije i o raspravi o njenom značaju.

Glukozna varijabilnost se može definisati kao sve fluktuacije u nivou glikemije koje osoba sa dijabetesom ima iz sata u sat tokom dana. Međutim, značajne promene glikemije mogu da se dešavaju i tokom dužih perioda vremena (iz dana u dan, iz nedelje u nedelju, iz meseca u mesec) što takođe ne može da se označi nikako drugačije do glukoznom varijabilnošću. Dnevna nestabilnost glikemije je ona koja je uzrokovana obrocima i predstavlja promene glikemije pre i postprandijalno, ali može da se dešava i nezavisno od hrane. Ove razlike su važne jer je poseban akcenat stavljen na postprandijalne skokove glikemije i na njihov značaj na povećanje rizika za razvoj pre svega makrovaskularnih komplikacija [Kilpatrick 2009].

Kako proceniti glukoznu varijabilnost je takođe predmet rasprava. Način na koji se već godinama najčešće meri glikemija, da bi se procenila njena nestabilnost, jeste merenje glikemije aparatima za samokontrolu sa test trakama i to pre i postprandijalno. Poslednjih godina CGMS su postali više dostupni i pružaju mogućnost za mnogo precizniju procenu dnevnih fluktuacija glikemije.

Najkorišćeniji i matematički najpoznatiji pokazatelj dnevne glukozne varijabilnosti je standardna devijacija (SD) dnevnog profila glikemije. Obzirom da SD ne može da identifikuje odnosno proceni najveće oscilacije glikemije (izražene skokove i padove), koje u kliničkom smislu predstavljaju i najveći problem, naročito kada su u pitanju hipoglikemije, predloženi su razni drugi parametri kao mere nestabilnosti dnevne glikemije. Jedan od najkorišćenijih je „srednja amplituda glikemijskih ekurzija“ (engl. the mean amplitude of glycemic excursions – MAGE) koji ima nešto bolje mogućnosti da detektuje značajne promene u glikemiji [Service i sar. 1970]. Varijacije glikemije iz dana u dan procenjuje „srednja vrednost dnevnih razlika“ (engl. the absolute mean of daily differences – MODD), varijacije vezano za obrok „srednji indeks varijacija uz obroke“ (engl. the meal-related glycemic excursions – MIME), a rizik od teških hipoglikemija „indeks niske glikemije“

(engl. the low blood glucose index – LBGi) [Selam 2000]. Svi ovi metodi su skupčani sa složenim matematičkim izračunavanjima, dok je SD glikemije praktično odmah dostupna u uobičajenom radu, a dokazana je i njena reproducibilnost, kao i da SD glikemije kao mera glikoregulacije nije vezana za HbA1c [Moberg i sar. 1993; Derr i sar. 2003].

O posebnom efektu i značaju postprandijalne hiperglikemije na razvoj mikro i makro vaskularnih komplikacija ima mnogo radova, ali najpre o uopšte efektu hiperglikemije u nastanku dijabetesnih komplikacija.

Patogeneza komplikacija

Sve forme dijabetesa karakteriše hiperglikemija, relativni ili apsolutni manjak insulina, insulinska rezistencija i razvoj za dijabetes specifične patologije u retini, glomerulima bubrega i perifernim nervima. Dijabetes je takođe udružen sa ubrzanom aterosklerozom koja pogađa arterije koje opskrbljuju srce, mozak i donje ekstremitete.

Hiperglikemija dovodi do oštećenja tkiva kroz četiri glavna mehanizma: povećani fluks glukoze i drugih šećera kroz poliolski put, povećana intracelularna formacija uznapredovalih produkata glikozilacije i povećana ekspresija receptora za uznapredovale produkte glikozilacije i njihove aktivisane ligande, aktivacija izoformi protein kinaze C i prekomerna aktivnosti heksozaminskog puta. Više je dokaza da se sva četiri mehanizma aktiviraju preko jednog prethodnog događaja, prekomerne produkcije reaktivnih vrsti kiseonika u mitohondrijama. U dijabetesnoj mikrovaskulaturi to je posledica intracelularne hiperglikemije. U dijabetesnoj makrovaskulaturi i u srcu to je izgleda posledica povećane oksidacije masnih kiselina, koja je posledica delom specifične insulinske rezistencije [Brownlee 2005].

Uopšteno, dijabetesne mikrovaskularne komplikacije su uzrokovane prolongiranim izlaganjem visokim koncentracijama glukoze. Step en oštećenja je takođe određen i naslednim determinantama koje nose različitu individualnu podložnost razvoju komplikacija, a kao i ateroskleroza, određen je i prisustvom drugih nezavisnih faktora ubrzanja komplikacija, kao što su hipertenzija i dislipidemija. Uloga hiperglikemije je dokazana kroz veći broj prospektivnih studija i u T1DM i u T2DM.

Obzirom da su sve ćelije organizma kod obolelog od dijabetesa izložene abnormalno visokim koncentracijama glukoze, postavlja se pitanje zašto su samo pojedine ćelije

organizma (kapilarne endotelne ćelije u retini, mezangijalne ćelije u glomerulima bubrega i neuroni i Švanove ćelije u perifernim nervima) podložne oštećenju hiperglikemijom, ali ne i druge. Odgovor je u tome da ove ćelije nisu sposobne da obave nishodnu regulaciju (engl. down regulation) glukoznog transporta i preuzimanja glukoze u uslovima visoke glikemije ekstracelularno. Većina ćelija organizma ima mogućnost da smanji transport glukoze u ćeliju kada se izloži hiperglikemiji, pa intracelularna koncentracija glukoze ostaje konstantna. Sa druge strane, vaskularne endotelne ćelije koje su glavna meta oštećenja hiperglikemijom ne pokazuju značajne promene u transportu glukoze kada je povećana koncentracija glukoze, što uzrokuje intracelularnu hiperglikemiju. Ovo je važno, jer objašnjenje za razlog komplikacija treba tražiti u procesima koji se dešavaju unutar ćelija, a ne oko njih [Kaiser i sar. 1993; Heilig i sar. 1995].

Velika većina publikacija koje se bave mehanizmima koji stoje u osnovi oštećenja vaskulature u dijabetesu koje je indukovano hiperglikemijom fokusira se na četiri glavna mehanizma: povećani fluks glukoze i drugih šećera kroz poliolski put, povećanu intracelularnu formaciju uznapredovalih produkata glikozilacije (AGEs) i povećanu ekspresiju receptora za uznapredovale produkte glikozilacije i njihove aktivisane ligande, aktivaciju izoformi protein kinaze C (PKC) i prekomernu aktivnost heksozaminskog puta. Ipak, rezultati kliničkih studija u kojima su pojedinačno neki od ovih puteva blokirani, bili su razočaravajući.

Ovo je dovelo do hipoteze da postoji jedan zajednički događaj koji prethodi i koji aktivira sve ove mehanizme i da je to prekomerna produkcija u mitohondrijama reaktivnih vrsti kiseonika (RVK).

Poliolski put se fokusira oko enzima aldozo reduktaze, koji normalno ima funkciju da redukuje toksične aldehide u ćeliji u inaktivne alkohole. Aldoza reduktaza se nalazi u tkivima kao što su nervi, retina, sočivo, glomerul i vaskularne ćelije. U mnogim od ovih tkiva preuzimanje glukoze je regulisano od strane insulin nezavisnih glukoznih transportera (GLUT). Kada koncentracija glukoze u ćeliji postane prevelika, aldoza reduktaza je redukuje u sorbitol, koji se kasnije oksiduje u fruktozu. U procesu redukcije intracelularne glukoze u sorbitol troši se kofaktor NADPH. Kako je NADPH kofaktor potreban za regeneraciju redukovanog glutaciona (GSH), a GSH je jako bitan intracelularni antioksidant i važan sakupljač RVK, ovo može da indukuje ili pojača intracelularni oksidativni stres. U animalnim modelima prekomerna ekspresija aldoza reduktaze pojačava aterosklerozu, i smanjuje nivo

redukovanog GSH, što je povezano sa smanjenjem dostupnosti NO [Ramasamy i Goldberg 2010; Vikramadithyan i sar. 2005].

Uznappedovali proizvodi glikozilacije formiraju se neenzimskom reakcijom glukoze i drugih glikozilirajućih jedinjenja, porekla i iz glukoze i iz pojačane oksidacije masnih kiselina u endotelnim ćelijama arterija (kao što su dikarbonilna jedinjenja među kojima su 3-deoksiglukozon, metilglioksal i glioksal) sa proteinima [Wautier i Schmidt 2004; Candido i sar. 2003]. U dijabetesu AGEs se nalaze u većoj količini u ekstracelularnom matriksu [Stitt i sar. 1997; Nishino i sar. 1995]. Intracelularna produkcija AGE prekursora može oštetiti ćelije načelno na tri načina. Kao prvo, intracelularni proteini modifikovani glikozilacijom imaju izmenjenu funkciju. Kao drugo, komponente ekstracelularnog matriksa modifikovane AGE prekursorima abnormalno reaguju sa ostalim komponentama matriksa i sa receptorima matriksa (integrinima), koji su eksprimirani na površini ćelija, što uzrokuje ćelijsku disfunkciju. Konačno, plazma proteini modifikovani AGE prekursorima vezuju se za AGE receptore (RAGE) na ćelijama kao što su makrofagi, vaskularne endotelne ćelije i vaskularne glatkomišićne ćelije. Vezivanje za RAGE indukuje produkciju RVK i aktivira plejotropni transkripcioni faktor, nuklearni faktor kapa B (NF κ B), što uzrokuje brojne patološke promene u ekspresiji gena, produkciju inflamatornih citokina i faktora rasta što za posledicu ima vaskularnu patologiju [Goldin i sar. 2006].

Protein kinaza C (PKC) je familija od najmanje 11 izoformi koja je široko rasprostranjena u tkivima. Enzim vrši fosforilaciju različitih ciljnih proteina. Aktivnost klasičnih izoformi enzima zavisi od Ca⁺⁺ jona i fosfatidilserina, a jako se pojačava diacilglicerolom (DAG) [Gerald i King 2010]. Stalna i preterana aktivacija više izoformi PKC predstavlja treći uobičajeni put koji dovodi do tkivnog oštećenja indukovano dijabetesom. Ovo je primarno rezultat pojačane de novo sinteze DAG iz glukoze preko trioze fosfata, čija se raspoloživost povećava, jer povećana količina RVK inhibira aktivnost glikolitičkog enzima GAPDH, povišavajući celularni nivo trioze fosfata, prekursora DAG [Inoguchi i sar. 1992; Craven i sar. 1990; Shiba i sar. 1993]. Postoje dokazi da pojačana aktivnost izoformi PKC može da bude rezultat interakcije između AGEs i njihovih receptora na površini ćelije [Derubertis i Craven 1994]. Hiperglikemija primarno aktivira β i δ izoforme PKC u kulturama vaskularnih ćelija. Kada se PKC aktivira intraćelijskom hiperglikemijom, ona ostvaruje čitav niz efekata na ekspresiju gena i snižava neke dobre i potrebne faktore u ćeliji i obratno povišava štetne [Koya i sar. 1997]. Prekomerna aktivnost PKC snižava produkciju NO u glatkomišićnim ćelijama krvnih sudova, jer smanjuje ekspresiju endotelne

NO sintaze (eNOS) stimulisanu insulinom, a povišava sintezu endotelina (ET-1). Indukuje i pojačanu ekspresiju faktora koji pojačava permeabilnost (VEGF), TGF- β 1, fibronektina i tipa IV kolagena. Opisana je i prekomerna ekspresija inhibitora fibrinolize PAI-1 i aktivacija NF κ B [Kuboki i sar. 2000; Craven i sar. 1997; Feener i sar. 1996; Yerneni i sar. 1999]. Patološki efekti koji bi mogli nastupiti kao posledica navedenih poremećaja su poremećaji protoka kroz krvni sud, promena vaskularne permeabilnosti i angiogeneza, kapilarna okluzija, pad fibrinolize i vaskularna okluzija, proinflamatorna genska ekspresija.

Hiperglikemija i prekomerna oksidacija masnih kiselina indukovana insulinskom rezistencijom izgleda da doprinose patogenezi dijabetesnih komplikacija time što povećavaju fluks fruktozo-6-fosfata kroz heksozaminski put [Du i sar. 2000]. Naime, kada je nivo glukoze u ćeliji visok najveći deo te glukoze se metaboliše kroz glikolizu. Najpre se pretvara u glukozo-6-fosfat, a onda u fruktozo-6-fosfat, a onda dalje kroz glikolitički put. Međutim, jedan deo fruktozo-6-fosfata se usmerava kroz heksozaminski put, odnosno postaje supstrat limitirajućeg enzima glutamin: fruktozo-6-fosfat amidotransferaze (GFAT), koji konvertuje glukozo-6-fosfat u glukozamin-6-fosfat, koji se potom konvertuje u UDP (uridin difosfat)-N-acetil glukozamin. Ono što se dalje dešava je da se ovaj N-acetil glukozamin vezuje za ostatke serina i treonina na transkripcionim faktorima i ova postranslaciona modifikacija dovodi do patoloških promena u ekspresiji gena i pojačava transkripciju TGF- α i TGF- β 1, a i PAI-1 koji deluju oštećujuće na dijabetesne krvne sudove [Sayeski i Kudlow 1996; Kolm-Litty i sar. 1998].

Specifični inhibitori aldozo reduktaze, inhibitori stvaranja AGE i vezivanja liganda za RAGE, aktivacije PKC i protoka kroz heksozaminski put, svaki ponaosob smanjuju različite abnormalnosti u ćelijskim kulturama i animalnim modelima indukovane dijabetesom, ali rezultati u trajalima su bili razočaravajući, i nije bilo u potpunosti jasno da li su ovi procesi nekako u vezi ili da li imaju zajednički uzrok [Engerman i sar. 1994; Brownlee 1995; Ganz i Seftel 2000]. Štaviše, svi ovi poremećaji se rapidno koriguju kada se uspostavi euglikemija. Danas se smatra da se svi do sada opisani patogenetski poremećaji dešavaju zbog jednog jedinog procesa indukovanog hiperglikemijom, a to je prekomerna produkcija superoksida u mitohondrijalnom lancu transporta elektrona. Superoksid anjon je inicijalni kiseonični slobodni radikal koji se formira u mitohondrijama i dalje konvertuje u druga mnogo reaktivnija jedinjenja koja mogu da oštećuju ćeliju na različite i brojne načine [Nishikawa i sar. 2000; Du i sar. 2000].

Postoje četiri proteinska kompleksa u mitohondrijalnom lancu transporta elektrona, (kompleks I, II, III i IV). Kada se glukoza metaboliše kroz ciklus trikarbonskih kiselina (TCA) generišu se donori elektrona. Glavni donor elektrona je NADH koji prenosi elektrone na kompleks I. Drugi donor elektrona generisanih iz TCA je FADH₂ koji daje elektrone kompleksu II. Elektroni iz oba ova kompleksa se prenose na koenzim Q, a potom na kompleks III, citohrom-C, kompleks IV i konačno na molekularni kiseonik koji redukuje do vode [Wallace 1992]. Sistem transporta elektrona je organizovan ovako da bi se nivo stvorenog ATP mogao precizno regulisati. Tokom transporta elektrona preko kompleksa I, III i IV deo energije se koristi da se pumpaju protoni preko membrane spolja u intermembranski prostor, što generiše gradijent napona na membrani, koji pokreće ATP sintetazu (kompleks V) da sintetiše ATP. Alternativno „uncoupling“ proteini (UCPs) mogu da se kreću duž voltažnog gradijenta i da generišu energiju, u cilju održanja konstantne produkcije ATPa.

U dijabetesnim ćelijama sa visokim nivoom glukoze u ćeliji mnogo više piruvata stvorenog iz te glukoze se metaboliše u TCA, što onda povećava nivo donora elektrona (NADH i FADH₂) i nivo elektrona u lancu transporta elektrona. Kao rezultat, gradijent napona na membrani raste dok se ne dostigne kritičan prag. U tom trenutku transport elektrona u kompleksu III se blokira što dovodi do nagomilavanja elektrona u koenzimu Q, koji elektrone donira jedan po jedan molekularnom kiseoniku gradeći superoksid [Trumpower 1990; Korshunov i sar. 1997]. Mitohondrijalna forma enzima superoksid dizmutaze degradira ovaj kiseonični slobodni radikal do vodonik peroksida koji se potom konvertuje u vodu i kiseonik (H₂O i O₂) drugim enzimima. U kulturi endotelijalnih ćelija intracelularna hiperglikemija povišava napon duž membrane preko kritičnog praga potrebnog da se poveća stvaranje superoksida, i sledstveno povećava produkciju RVK. Takođe su pokazane dinamičke morfološke promene mitohondrija udružene sa prekomernom proizvodnjom RVK uzrokovanom visokim nivoom glukoze. Inhibicija mitohondrijalne fisije prevenira periodične fluktuacije produkcije RVK tokom izlaganja visokim nivoima glukoze [Yu i sar. 2006]. Ni hiperglikemija, ni povećana oksidacija masnih kiselina u vaskularnom endotelijumu, ne povišavaju produkciju RVK niti aktivišu neki od puteva oštećenja tkiva u dijabetesu, kada se ili voltažni gradijent na mitohondrijalnoj membrani obara od strane UCP-1 ili kada se stvoreni superoksid degradira od strane MnSOD [Du i sar. 2001]. Takođe hiperglikemija ne indukuje produkciju RVK u tzv rho zero endotelnim ćelijama u kojima je mitohondrijalni lanac transporta elektrona inhibisan. Prema ovom izgleda da su mitohondrije neophodne za inicijaciju produkcije superoksida indukovane hiperglikemijom, a mnogo je dokaza da ovo

nadalje aktivnije brojne druge puteve produkcije superoksida koji doprinose štetnom efektu hiperglikemije. Ovo uključuje redox promene, NADPH i uncoupled eNOS [Brownlee 2005].

U dijabetesnom srcu, prekomerna ekspresija MnSOD ili katalaze štiti kardijalne mitohondrije od oksidativnog oštećenja, poboljšava respiraciju i normalizuje masu dijabetesnih mitohondrija. MnSOD takođe prevenira morfološke promene u dijabetesnom srcu i kompletno normalizuje kontraktilnost dijabetesnih kardiomiocita [Shen i sar. 2006; Ye i sar. 2004]. U endotelnim ćelijama u dijabetesu povišena ekspresija MnSOD ili UCP-2 inhibiše inaktivaciju antiaterosklerotskog endotelnog enzima prostaciklin sintetaze izazvanu nitracijom koja je indukovana i hiperglikemijom i masnim kiselinama. Povišena ekspresija ili MnSOD ili UCP-1 takođe prevenira inhibiciju aktivnosti eNOS izazvanu ovim metabolitima [Du i sar. 2001].

U ljudi je praćen profil ekspresije gena u fibroblastima kože u grupama pacijenata sa dugim trajanjem T1DM od 20 godina, sa vrlo visokom stopom razvoja lezija dijabetesne nefropatije i sa vrlo niskom stopom razvoja lezija dijabetesne nefropatije. Istraživanje je pokazalo da je grupa sa visokom stopom razvoja komplikacija imala povećanu ekspresiju gena za oksidativnu fosforilaciju, kompleks II sistema transporta elektrona i gena za TCA ciklus, i ova udruženost povezuje centralnu ulogu mitohondrijalne produkcije RVK i patogenezu dijabetesnih komplikacija [Huang i sar. 2006].

Dijabetes u ljudi i životinja i hiperglikemija u ćelijama smanjuju aktivnost ključnog enzima glikolize gliceraldehid 3-fosfat dehidrogenaze (GAPDH) u ćelijama koje razvijaju intracelularnu hiperglikemiju. Inhibicija aktivnosti GAPDH hiperglikemijom se ne dešava kada se prekomerna produkcija superoksida u mitohondrijama prevenira od strane MnSOD ili UCP-1 [Nascimento i sar. 2006]. Kada se inhibiše aktivnost GAPDH, nivo intermedijarnih proizvoda glikolize koji su ispred ovog enzima se povišava. Ovo onda povišava protok kroz četiri opisana puta oštećenja tkiva. Povišen nivo gliceraldehid 3-fosfata, metabolita koji je u procesu glikolize ispred ovog enzima, aktivira dva glavna puta. Aktivira put AGE, jer se glavni intracelularni AGE prekursor metilglioksal formira neenzimski iz gliceraldehid 3-fosfata. Formiranje metilglioksala indukovano hiperglikemijom, pokazano je istraživanjem, uzrokuje i porast ekspresije RAGE i njihovih aktivnišućih liganda S100 kalgranulina i HMGGB1 [Yao i Brownlee 2010].

Povišeni gliceraldehid 3-fosfat takođe aktivira klasični put aktivacije PKC, jer fiziološki aktivator PKC diacilglicerol se takođe stvara iz gliceraldehid 3-fosfata. Povišava se

i nivo fruktozo-6-fosfata, intermedijarnog metabolita koji je nadalje ispred u procesu glikolize, što dalje povećava fluks kroz heksozaminski put, jer se fruktozo-6-fosfat dejstvom enzima GFAT konvertuje u UDP-N-acetilglukozamin (UDP-GlcNAc). Konačno inhibicija GAPDH povišava intracelularni nivo prvog metabolita, glukoze. Ovo povišava fluks kroz poliolski put gde enzim aldozo reduktaza redukuje glukozu (ili gliceraldehid 3-fosfat) trošeći NADPH tokom procesa. Inhibicija aktivnosti GAPDH u 5 mmol/L glukozu koristeći antisense DNK povišava aktivnost svakog od glavnih puteva hiperglikemijskog oštećenja do istog nivoa kao što to indukuje hiperglikemija [Du i sar. 2003].

Superoksid indukovan hiperglikemijom inhibiše aktivnost GAPDH in vivo modifikacijom enzima polimerima ADP-riboze. Inhibicijom mitohondrijalne produkcije superoksida pomoću MnSOD ili UCP-1 sprečava se modifikacija GAPDH od poli(ADP-riboze) i redukcija njene aktivnosti. Još važnije i modifikacija GAPDH poli(ADP-ribozom) i redukcija njene aktivnosti se takođe sprečavaju specifičnim inhibitorom poli(ADP-ribozo) polimeraze (PARP), enzima koji stvara ove polimere ADP-riboze. Normalno, PARP se nalazi u jedru u neaktivnoj formi i čeka da se desi oštećenje DNK da bi se aktivirala. Kada se zbog povišene glukoze intracelularno povisi produkcija RVK u mitohondrijama, slobodni radikali uzrokuju oštećenje DNK čime aktivišu PARP. Oba procesa koje indukuje hiperglikemija mogu se sprečiti pomoću UCP-1 ili MnSOD. Jednom aktivisana PARP „cepa“ molekul NAD^+ na njegove dve komponente: nikotinsku kiselinu i ADP-ribozu. PARP potom nastavlja da pravi polimere od ADP-riboze koji se akumuliraju na GAPDH i ostalim proteinima jedra. Za GAPDH se smatralo da se nalazi isključivo u citozolu, ali ovaj enzim normalno ulazi i izlazi iz jedra, gde igra značajnu ulogu u popravci DNK [Du i sar. 2003; Sawa i sar. 1997].

Insulinska rezistencija je glavna karakteristika T2DM, ali se javlja i u dve trećine pacijenata sa PTG [Bonora i sar. 1998]. Obe ove grupe imaju značajno povećan rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti [Haffner i sar. 1998; DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group 2001]. Sprovedene su studije kod osoba sa normalnom glukoznom tolerancijom da bi se istražio efekat insulinske rezistencije izolovano od efekta hiperglikemije [Yip i sar. 1998]. U negojzanih nedijabetičara IR je predviđala razvoj kardiovaskularnih bolesti nezavisno od drugih poznatih faktora rizika, što govori da IR sama promoviše razvoj ateroskleroze i u odsustvu hiperglikemije. U adipocitima IR povećava oslobađanje slobodnih masnih kiselina (SMK) iz deponovanih triglicerida i povećana oksidacija SMK u endotelnim ćelijama zbog nedostatka insulinske stimulacije malonil KoA uzrokuje povećanu produkciju superoksida na mitohondrijalnom lancu transporta elektrona.

Naime, i beta oksidacija SMK i oksidacija acetil KoA nastalog iz SMK u TCA ciklusu generiše iste donore elektrona (NADH i FADH₂) koji nastaju oksidacijom glukoze, pa aktivacijom istih mehanizama, kao i hiperglikemijom indukovana produkcija RVK, prekomerna produkcija superoksida indukovana SMK aktivira brojne proinflamatorne signale (AGE, PKC, heksozaminski put-GlcNAc i NFκB) i inaktivira dva važna antiaterogena enzima, prostaciklin sintazu i eNOS [Du i sar. 2006].

Oksidativni stres

Oksidativni stres se načelno definiše kao prekomerna produkcija i/ili nedovoljno uklanjanje visoko reaktivnih molekula kakve su reaktivne vrste kiseonika (RVK) i reaktivne vrste azota (RVN) [Maritim i sar. 2003]. Reaktivne vrste kiseonika uključuju slobodne radikale kakvi su superoksid (O_2^-), hidroksil (OH^\cdot), peroksil (RO_2^\cdot), hidroperoksil (HRO_2^\cdot), kao i neradikalske metabolite kakvi su vodonik peroksid (H_2O_2) i hidrohlorna kiselina (HOCl). Reaktivne vrste azota uključuju slobodne radikale kao azot monoksid (NO^\cdot) i azot dioksid (NO_2^\cdot), kao i neradikale kao peroksinitrit (ONOO^-), nitrozni oksid (HNO_2) i alkil peroksinitrit (RONOO) [Evans i sar. 2002; Turko i sar. 2001]. Među ovim reaktivnim molekulima, O_2^- , NO^\cdot i ONOO^- su najistraživaniji i igraju važne uloge u razvoju dijabetesnih kardiovaskularnih komplikacija.

Azot monoksid se normalno sintetiše iz L-arginina endotelnom azot oksid sintazom (eNOS) u vaskulaturi. On je medijator vazorelaksacije zavisne od endotela preko efekta na guanil ciklazu u vaskularnim glatkomišićnim ćelijama (VSMC), što inicira kaskadu događaja koji vode u vazorelaksaciju. Takođe, pokazuje antiproliferativna svojstva i inhibira adheziju trombocita i leukocita za vaskularni endotel. Stoga se NO^\cdot smatra vaskuloprotektivnim molekulom. Ipak, NO^\cdot lako reaguje sa superoksidom i gradi jako reaktivni radikal ONOO^- , čime se pokreće kaskada štetnih događaja [Turko i sar. 2001; Vega-López i sar. 2004]. Stoga hemijsko okruženje odnosno prisustvo O_2^- određuje da li će NO^\cdot imati protektivne ili štetne efekte.

Produkcija neke od RVK ili RVN vodi u produkciju drugih radikala kroz lančane reakcije. Superoksid anjon se proizvodi redukcijom jednim elektronom molekulskog kiseonika enzimskim i neenzimskim putem. Sem mitohondrijalne produkcije superoksida više različitih oksidaza može da ga stvara, uključujući NAD(P)H oksidazu, ksantin oksidazu, ciklooksigenazu i čak eNOS u određenim uslovima [Griendling i FitzGerald 2003a;

Griendling i FitzGerald 2003b; Taniyama i Griendling 2003]. U normalnim uslovima, $\cdot\text{O}_2^-$ se brzo eliminiše mehanizmima antioksidativne zaštite. U mitohondrijama $\cdot\text{O}_2^-$ se dizmutira u H_2O_2 mangan superoksid dizmutazom (Mn-SOD), a bakar SOD (Cu-SOD) u citozolu [Evans i sar. 2003]. Vodonik peroksid se konvertuje u H_2O i O_2 glutation peroksidazom (GSH-Px) u mitohondrijama i katalazom u lizozomima. Pored toga H_2O_2 može biti konvertovan u jako reaktivni radikal $\cdot\text{OH}$ u prisustvu tranzicionih elemenata kakvi su gvožđe i bakar.

Zašto su reaktivni metaboliti loši?

Reaktivne vrste kiseonika koje se stvaraju u fiziološkim uslovima uključene su u izvesnoj meri kao signalni molekuli i u odbrambene mehanizme, kao što su fagocitoza, funkcija neutrofila i vazorelaksacija indukovana shear-stresom. Povišena produkcija RVK u oksidativnom stresu ima patološke konsekvence koje uključuju oštećenje proteina, lipida i DNK.

Osim detaljno opisanih mehanizama zajedničke aktivacije puteva oštećenja tkiva u dijabetesu, RVK mogu da stimulišu oksidaciju LDL-a u ox-LDL, koji ne prepoznaje LDL receptor, pa biva preuzet od scavenger receptora u makrofazima što vodi do formiranja penušavih ćelija u aterosklerotskim plakovima. Superoksid anjon i H_2O_2 stimuluju signalne mehanizme vezane za stres, kao što su NF κ B, p38-MAPK i STAT-JAK, što rezultuje migracijom i proliferacijom VSMC. U endotelnim ćelijama, H_2O_2 je medijator apoptoze i patološke angiogeneze [Taniyama i Griendling 2003]. Superoksid anjon reaguje brzo sa $\cdot\text{NO}$ gradeći citotoksični ONOO što ima više posledica. Najpre ONOO menja funkciju biomolekula nitrovanjem proteina i lipidnom peroksidacijom [Turko i sar. 2001]. Recimo kalijumski kanali koji regulišu vazorelaksaciju inhibisani su nitrovanjem [Liu i sar. 2002]. Povećan nivo nitrotirozina je udružen sa apoptozom miocita, endotelnih ćelija i fibroblasta u dijabetesu. Peroksinitrit uzrokuje kidanje lanaca DNK, što aktivira nuklearni enzim PARP. Takođe, smanjuje se bioraspoloživost $\cdot\text{NO}$ što uzrokuje oštećenje relaksacije i inhibiciju antiproliferativnih efekata $\cdot\text{NO}$. Peroksinitrit oksiduje tetrahidro biopterin (BH_4) koji je važan kofaktor NOS i uzrokuje stvaranje „uncoupling NOS“ koja potom proizvodi $\cdot\text{O}_2^-$ umesto $\cdot\text{NO}$ [Maritim i sar. 2003]. Lipidna peroksidacija membranskih lipida uzorovana RVK menja strukturu bioloških membrana, što sledstveno menja i njihovu funkciju. Sve ove patološke modifikacije doprinose patogenezi vaskularne disfunkcije [Taniyama i Griendling 2003].

Najvažniji izvor RVK u uslovima hiperglikemije su mitohondrije, ali i NAD(P)H oksidaze. Multipli izvori oksidativnog stresa u dijabetesu se stoga dele i na enzimske i neenzimske. Neenzimski izvori oksidativnog stresa proizilaze iz oksidativne biohemije glukoze. Hiperglikemija može direktno da uzrokuje povećano stvaranje RVK. Glukoza može da podleže autooksidaciji i da stvara $\cdot\text{OH}$ radikale. Dodatno, glukoza neenzimski reaguje sa proteinima gradeći Amadori proizvode, što je potom praćeno formiranjem AGEs. Reaktivne vrste kiseonika se generišu na više koraka tokom ovog procesa. U hiperglikemiji je pojačan metabolizam kroz poliolski put gde je takođe jedan od rezultata pojačana produkcija $\cdot\text{O}_2^-$ [Turko i sar. 2001].

Enzimski izvori povećane produkcije reaktivnih metabolita uključuju NOS, NAD(P)H oksidazu i ksantin oksidazu [Guzik i sar. 2002; Aliciguzel i sar. 2003]. Za sve izoforme NOS neophodno je pet kofaktora/prostetičkih grupa i to su flavin adenin dinukleotid (FAD), flavin mononukleotid (FMN), hem, BH_4 i Ca^{++} -kalmmodulin. Ukoliko nedostaje njen supstrat L-arginin ili jedan od njenih kofaktora, NOS može da produkuje $\cdot\text{O}_2^-$ umesto $\cdot\text{NO}$ i to se označava kao „uncoupled“ stanje NOS [Aliciguzel i sar. 2003]. Membranski enzim NAD(P)H oksidaza se sastoji od pet subjedinica i glavni je izvor produkcije $\cdot\text{O}_2^-$. U radu u kome je određivan nivo $\cdot\text{O}_2^-$ u uzorcima vaskularnog tkiva dijabetičara i istraživan izvor $\cdot\text{O}_2^-$ korišćenjem inhibitora NOS, NAD(P)H oksidaze, ksantin oksidaze i transportnog lanca elektrona mitohondrija, pokazano je da u dijabetesu postoji pojačana produkcija $\cdot\text{O}_2^-$ i to predominantno od strane NAD(P)H oksidaze. Produkcija od strane NOS je veća u pacijenata sa dijabetesom nego kod nedijabetičara [Guzik i sar. 2002]. Postoje i podaci da je aktivnost NAD(P)H oksidaze značajno viša u uzorcima vaskularnog tkiva (vena safena i unutrašnja a. mammaria) dobijenih od dijabetesnih bolesnika. Moguće je da se aktivacija NAD(P)H oksidaza vrši pod uticajem PKC koja je stimulisana u dijabetesu kroz više mehanizama [Amiri i sar. 2002].

Obzirom na povezanost brojnih pomenutih mehanizama postoje postulati da je $\cdot\text{O}_2^-$ koji se proizvodi u mitohondrijama inicijalna grudva snega koja pokreće lavinu oksidativnog stresa u dijabetesu, kroz stimulaciju sve veće produkcije novih RVK i RVN aktivacijom produkcije citokina stimulusane od $\text{NF}\kappa\text{B}$, aktivacijom PKC i NAD(P)H oksidaza. Stoga bi inhibicija intracelularne produkcije slobodnih radikala pružila kauzalni terapijski pristup u prevenciji oksidativnog stresa i povezanih vaskularnih komplikacija dijabetesa [Johansen i sar. 2005].

Prirodna odbrana od oksidativnog stresa i antioksidanti

Reaktivna jedinjenja mogu biti eliminisana kroz brojne enzimske i neenzimske antioksidativne mehanizme. Kao što je rečeno SOD, brzo konvertuje $\cdot\text{O}_2^-$ u H_2O_2 koji se dalje detoksikuje u vodu katalazom u lizozomima ili glutathion peroksidazom u mitohondrijama. Još jedan važan enzim je glutathion reduktaza koji regeneriše redukovani glutathion koji se koristi kao donor vodonika od strane glutathion peroksidaze prilikom eliminacije H_2O_2 . Metaboličke promene u dijabetesu imaju multiple efekte na proteine i aktivnost ovih enzima, što dalje pojačava oksidativni stres suprimirajući odbrambeni odgovor. U srcu koje je meta dijabetesne kardiomiopatije, smanjeni su ekspresija i aktivnost SOD i glutathion peroksidaze, dok je aktivnost katalaze pojačana u eksperimentalnim modelima dijabetesa [Maritim i sar. 2003; Hayden i Tyagi 2003]. U pacijenata sa hroničnom srčanom slabošću aktivnost sva tri enzima je snižena u glatkim mišićima, a fizički trening može da pojača ekspresiju i aktivnost antioksidativnih enzima. Povišeni nivo izoprostana u dijabetesnih bolesnika sa hroničnom srčanom insuficijencijom je u korelaciji sa antioksidantnim statusom i težinom bolesti [Linke i sar. 2005; Polidori i sar. 2004].

Neenzimski antioksidanti su vitamini A, C i E, glutathion, α -lipoinjska kiselina, karotenoidi, mikroelementi kao bakar, cink i selen, koenzim Q10 i kofaktori kao folna kiselina, mokraćna kiselina, albumini i vitamini B1, B2, B6 i B12 [Vega-López i sar. 2004]. Glutathion (GSH) deluje kao direktni scavenger, a i kao kosubstrat za GSH peroksidazu. Glavni je intracelularni redox tampon sistem. Vitamin E je liposolubilni vitamin koji prevenira lipidnu peroksidaciju. Postoji u 8 različitih formi od kojih je α -tokoferol najaktivnija forma kod ljudi. Hidroksil radikal reaguje sa tokoferolom formirajući stabilizovan fenolni radikal koji se redukuje nazad do fenola askorbatom i NAD(P)H zavisnim reduktazama. Koenzim Q10 je endogeno sintetisano jedinjenje koje služi kao nosač elektrona u kompleksu II u mitohondrijalnom lancu prenosa elektrona. Ovo je mesto stvaranja $\cdot\text{O}_2^-$ u uslovima hiperglikemije [Brownlee 2001; Nishikawa i sar. 2000]. Koenzim Q10 je liposolubilni antioksidant i u višim koncentracijama uklanja $\cdot\text{O}_2^-$ i popravlja endotelnu disfunkciju u dijabetesu. Vitamin C povećava produkciju NO u endotelnim ćelijama stabilizacijom NOS kofaktora BH_4 . α -Lipoinjska kiselina je hidrofilni antioksidant i može stoga da ima korisne efekte i u vodenom i u lipidnom okruženju. Redukovana daje drugo aktivno jedinjenje dihidrolipoat, koji je u stanju da regeneriše druge antioksidante, kao što su vitamin C, vitamin E i redukovani glutathion kroz redoks ciklus [Heller i sar. 2001].

Brojne eksperimentalne i kliničke studije koristile su ove prirodne antioksidante, naročito vitamin E, vitamin C i α -lipoinsku kiselinu sa ciljem da odrede ulogu oksidativnog stresa u razvoju vaskularnih komplikacija dijabetesa. Efekti antioksidanata na oksidativni stres mereni su kroz biomarkere koje je moguće pratiti. Ovi markeri uključuju enzimsku aktivnost katalaze, SOD, GSH-Px i GSH-reduktaze, kao i nivo reaktanata sa tiobarbiturnom kiselinom (TBARS), indirektnu meru produkcije slobodnih radikala za koji je pokazano da je konstantno povišen u dijabetesu. Normalizacija nivoa aktivnosti bilo kog od ovih markera i konačno balansiranje produkcije i uklanjanja slobodnih radikala bio bi efikasan način da se smanji oštećenje uzrokovano RVK. Mnoge studije sa eksperimentalnim životinjama su sprovedene sa ovim ciljem i pokazale su da se promene koje su uzrokovane dijabetesom mogu popraviti kada se životinje tretiraju različitim antioksidantima [Mekinova i sar. 1995; Kedziora-Kornatowska i sar. 2003; Cinar i sar. 2001].

Hronične komplikacije dijabetesa melitusa

Zbog posledičnog produženja životnog veka bolesnika, beleži se povećanje stope invaliditeta i mortaliteta od hroničnih komplikacija, što ukazuje na njihov veliki medicinski i socijalno-ekonomski značaj.

Najznačajnije hronične komplikacije koje nastaju u toku dijabetesa melitusa su degenerativne promene na krvnim sudovima, te se pri pomenu komplikacija šećerne bolesti uglavnom misli na hronične vaskularne komplikacije. U dijabetesu melitusu oštećuju se veliki i srednji krvni sudovi i tako nastale bolesti označavaju se kao makroangiopatije, kao i mali krvni sudovi (kapilari i prekapilarne arteriole), te se tako nastale bolesti označavaju kao mikroangiopatije.

Mikroangiopatske komplikacije

Mikroangiopatija je bolest malih arteriola i kapilara i specifična je za dijabetes, pa se stoga i označava kao dijabetesna mikroangiopatija. Podrazumeva oštećenje prekapilara (prekapilarnih arteriola), kapilara i postkapilara, odnosno degenerativni poremećaj koji se manifestuje zadebljanjem (bubrenjem) bazalne membrane. To uslovljava funkcionalne poremećaje i organske lezije u regionu oštećenja ovih najmanjih krvnih sudova. Lumen kapilara se sužava, moguća je i opstrukcija, a zid postaje sve više propustljiv, naročito za

belančevine plazme. Morfološki se zapaža degeneracija pericitnih ćelija i mikroaneurizme najsitnijih krvnih sudova, kao i bubrenje bazalne membrane kapilara. Uzroci bubrenja su višestruki, nakupljanje glikozilisanih proteina, albumina, kolagena, β_2 makroglobulina, imunoglobulina i komplementa, što dovodi do njene morfološke izmenjenosti. U daljem toku region zahvaćen mikroangiopatijom sklerozira i dolazi do uništenja plemenitog tkiva. Kao posledica ovakvih oštećenja karakteristična je pojava retinopatije zbog oštećenja najsitnijih krvnih sudova retine, nefropatije zbog oštećenja glomerula bubrega, polineuropatija zbog oštećenja adventicije nerava, ali i oštećenje niza drugih tkiva i organa, naročito malih krvnih sudova srca i malih krvnih sudova prstiju stopala [Klein 1995].

Makroangiopatske komplikacije

U etiopatogenezi ovih bolesti učestvuje više faktora, ali je svakako ateroskleroza najvažnija. Proces ateroskleroze postoji i u dijabetičara i u nedijabetičara, ali je u dijabetičara ateroskleroza prevremena (prematurna, javlja se u znatno mlađem dobu), difuzna je i progresivna, ženski pol ne predstavlja zaštitu, proces može da zahvati i sitne krvne sudove. Kao i u slučaju ateroskleroze u opštoj populaciji, tačni razlozi za razvoj akcelerisane ateroskleroze u dijabetesu nisu poznati. Poremećaji u zidu krvnog suda, trombocitima i ostalim komponentama koagulacionog sistema i poremećaji u metabolizmu lipida su svakako najčešće istraživani kao razlozi. Kao i u nedijabetičara pušenje je glavni faktor rizika za aterosklozu. Hipertenzija je takođe značajan faktor rizika kod mnogih dijabetičara [Libby i Plutzky 2002; Stamler i sar. 1993; Turner i sar. 1998].

Aterosklerotske lezije mogu proizvoditi simptome na različitim mestima. Najvažnije kliničke prezentacije dijabetesne makroangiopatije su ishemijska bolest srca (koronarna bolest), bolest krvnih sudova CNSa (moždani inzult) i bolest arterija nogu (gangrena).

Iako se sve poznate komplikacije dijabetesa mogu videti u obolelih od oba tipa bolesti, neke se ipak češće javljaju u jednom od tipova. Bubrežna slabost zbog teške mikrovaskularne nefropatije je vodeći uzrok smrtnosti u pacijenata sa T1DM, dok je makrovaskularna bolest vodeći uzrok smrtnosti u T2DM. Iako se slepilo dešava u oba tipa bolesti, češće je rezultat teške proliferativne retinopatije, vitrealne hemoragije i odlublivanja retine u tipu 1 bolesti, dok su makularni edem i ishemija uobičajeni uzroci u tipu 2. Slično ovom, iako je dijabetesna neuropatija česta u oba tipa bolesti, teška autonomna neuropatija sa

gastroparezom, dijabetesnom dijarejom, tahikardijom u miru i posturalnom hipotenzijom je mnogo češća u T1DM [Klein 1995].

Mikroangiopatske komplikacije, etiopatogeneza

Mehanizmi nastanka mikroangiopatije nisu još uvek sasvim razjašnjeni, ali je sigurno da je nastanak mikroangiopatije povezan sa dugotrajnom hiperglikemijom, odnosno sa dugogodišnjim nereguliranim dijabetesom melitusom. Biohemijske promene koje uzrokuju funkcionalne promene su mnogobrojne.

Od potencijalnog patogenetskog značaja je mehanizam neenzimske glikozilacije proteina. U uslovima stalne hiperglikemije, glukoza se vezuje za amino-kiseline lizin i valin u sastavu proteina. Vezivanje glukoze za hemoglobin i formiranje glikozilisanog hemoglobina daje odličnu mogućnost za kontrolu stanja glikoregulacije. U patogenetskom smislu naročito je značajna neenzimska glikozilacija raznih drugih proteina u organizmu što često vodi promeni njihove funkcije. Takav je slučaj sa plazmatskim albuminima, proteinima očnog sočiva, fibrinom, kolagenom, lipoproteinima. Za formiranje glikozilisanih proteina nije potrebno prisustvo odgovarajućih enzima, a novonastali spojevi su teže podložni razgradnji procesom proteolize i gomilaju se u bazalnim membranama kapilara. Glikozilisani kolagen je teže rastvorljiv i otporniji na razgradnju kolagenazom od nativnog kolagena. Ovakav kolagen može da igra ulogu autoantigena i izaziva stvaranje autoantitela čije vezivanje stvaranjem imunih kompleksa dalje oštećuje bazalnu membranu. Glikozilisani proteini takođe formiraju kroz seriju nedovoljno jasnih biohemijskih reakcija i takozvane završne proizvode uznapredovale glikozilacije (advanced glycation end products – AGE). Za ove proizvode postoje receptori na endotelnim ćelijama i na makrofagima. Njihovo vezivanje može da inicira oslobađanje citokina, endotelina i tkivnog faktora, gde poslednji igra vodeću ulogu i inicijaciji procesa koagulacije. Glikozilacija proteina membrane eritrocita skraćuje njihov životni vek, smanjuje njihovu elastičnost, što dovodi do njihovog taloženja u mikrovaskulaturi, povećava se viskoznost krvi i sklonost ka trombozama u mikrocirkulaciji [Brownlee 1992].

Intracelularna produkcija AGE prekursora može oštetiti ćelije načelno na tri načina. Kao prvo, intracelularni proteini modifikovani glikozilacijom imaju izmenjenu funkciju. Kao drugo, komponente ekstracelularnog matriksa modifikovane AGE prekursorima abnormano reaguju sa ostalim komponentama matriksa i sa receptorima matriksa (integrinima) koji su

ekspimirani na površini ćelija što uzrokuje ćelijsku disfunkciju. Konačno, plazma proteini modifikovani AGE prekursorima vezuju se za AGE receptore na ćelijama kao što su makrofagi, vaskularne endotelne ćelije i vaskularne glatkomišićne ćelije. Vezivanje za RAGE indukuje produkciju RVK i aktivniše plejotropni transkripcioni faktor, nuklearni faktor kapa B (NF κ B), što uzrokuje brojne patološke promene u ekspresiji gena, produkciju inflamatornih citokina i faktora rasta i rezultira vaskularnom patologijom [Goldin i sar. 2006].

Veliki značaj u patogenezi mikroangiopatskih komplikacija daje se takozvanom poliolskom putu iskorišćavanja glukoze. To je alternativni metabolički put u kome se glukoza redukuje pod dejstvom enzima aldozo reduktaze u sorbitol, višehidroksilni alkohol. Sorbitol pod dejstvom sorbitol dehidrogenaze prelazi u fruktozu. Sorbitol koji izgleda da deluje kao tkivni toksin opisan je kao faktor u patogenezi retinopatije, neuropatije, katarakte, nefropatije. Povećane koncentracije sorbitola i fruktoze u ćelijama povećavaju osmotski pritisak unutar njih, pa tečnost iz ekstracelularnog prostora ide ka mestu višeg osmotskog pritiska, intracelularno. Stoga dolazi do bubrenja ćelija, i recimo zamućenja očnog sočiva koje može biti i reverzibilno u akutnim uslovima, ako se uklone osmotski poremećaji. Patogenetski mehanizmi oštećenja sorbitolom su možda najbolje prikazani u eksperimentalnim modelima dijabetesne neuropatije, gde je akumulacija sorbitola povezana sa smanjenjem količine mioinozitola, abnormalnim metabolizmom fosfatidil inozitola i smanjenjem aktivnosti Na⁺,K⁺ATPaze. U eksperimentalnim modelima inhibicija enzima aldozo reduktaze prevenirala je pad tkivnog sadržaja mioinozitola i smanjenje aktivnosti ATPaze. Takođe je pokazano da inhibicija aldozo reduktaze sprečava pojavu eksperimentalne katarakte i retinopatije. Stoga je moguće da neuropatija i retinopatija nastaju primarno zbog aktivacije poliolskog puta, mada je moguće da igra ulogu i u nastanku nefropatije [Nicolucci i sar. 1996].

Veza između poliolskog puta glukoze i neenzimske glikozilacije proteina postoji i u činjenici da je stopa neenzimske glikozilacije fruktozom, nastalom u poliolskom putu iz sorbitola, sedam do osam puta veća od glikozilacije proteina glukozom.

Protein kinaza C (PKC) je familija od najmanje 11 izoformi koja je široko rasprostranjena u tkivima. Enzim vrši fosforilaciju različitih ciljnih proteina. Aktivnost klasičnih izoformi enzima zavisi od Ca⁺⁺ jona i fosfatidilserina, a jako se pojačava diacilglicerolom (DAG) [Gerald i King 2010]. Stalna i preterana aktivacija više izoformi PKC predstavlja treći uobičajeni put kojim se izaziva tkivno oštećenje indukovano dijabetesom. Ovo je primarno rezultat pojačane de novo sinteze DAG iz glukoze preko triofofosfata, čija se raspoloživost povećava jer RVK inhibišu aktivnost glikolitičkog enzima

GAPDH povišavajući celularni nivo triofo fosfata, prekursora DAG [Inoguchi i sar. 1992]. Kao što je ranije navedeno rezultati aktivacije PKC i patološki efekti koji bi mogli nastupiti kao posledica su poremećaji protoka kroz krvni sud, promena vaskularne permeabilnosti i angiogeneza, kapilarna okluzija, pad fibrinolize i vaskularna okluzija, proinflamatorna genska ekspresija.

Poslednji u nizu potencijalnih mehanizama nastanka oštećenja jeste povećani fluks fruktozo-6-fosfata kroz heksozaminski put, a koji povećavaju hiperglikemija i prekomerna oksidacija masnih kiselina (indukovana insulinskom rezistencijom) i tako doprinose patogenezi dijabetesnih komplikacija [Du i sar. 2000]. Jedan deo fruktozo-6-fosfata, nastalog tokom glikolize, se usmerava kroz heksozaminski put, odnosno postaje supstrat limitirajućeg enzima glutamin: fruktozo-6-fosfat amidotransferaze (GFAT) koji konvertuje glukoza-6-fosfat u glukozamin-6-fosfat koji se potom konvertuje u UDP (uridin difosfat) N-acetil glukozamin. Ono što se dalje dešava je da se ovaj N-acetil glukozamin vezuje za ostatke serina i treonina na transkripcionim faktorima i ova postranslaciona modifikacija dovodi do patoloških promena u ekspresiji gena i pojačava transkripciju TGF- α i TGF- β 1 a i PAI-1 koji su svi štetni po dijabetesne krvne sudove [Sayeski i Kudlow 1996; Kolm-Litty i sar. 1998].

Povećani protok krvi kroz mikrovaskulaturu je takođe pretpostavljeni inicijalni faktor u patogenezi dijabetesnih komplikacija. Postoje dokazi za ulogu hiperperfuzije u nastanku dijabetesne nefropatije, ali ova hemodinamska hipoteza nije tako atraktivna kao prethodne. Naime, u neregulisanom insulin zavisnom dijabetesu melitusu sa rđavom metaboličkom kontrolom i hiperglikemijom, pokazan je povećan protok krvi u arteriolama i to uglavnom zbog njihove vazodilatacije, tj. zbog smanjenog otpora (rezistencije) u njima. Zbog toga dolazi do povećanja volumena krvi i viskoznosti krvi, što u daljem toku dovodi do pojave hipoksije. U uslovima povećanog intravaskularnog hidrostatskog pritiska u zid arteriola i mezangijalne ćelije filtriraju se povećane količine makromolekula koji funkcionišu kao tkivni toksini. To su pre svega opisani glikozilisani proteini, ali i imuni kompleksi i drugi makromolekuli. Sve ovo vodi pomenutom procesu zadebljanja, odnosno bubrenja bazalne membrane kapilara [Klein 1995].

Etiopatogeneza dijabetesne mikroangiopatije je znači višestruka, u njoj igraju ulogu morfološki, biohemijski, imunološki i hemodinamski poremećaji, koji se često ukrštaju i koji kao rezultat daju kliničke prezentacije dijabetesne retinopatije, dijabetesne nefropatije i dijabetesne neuropatije.

Dijabetesna retinopatija

Dijabetesna retinopatija je danas vodeći uzrok slepila u većini zemalja sveta. Sa druge strane, činjenica je da većina bolesnika nikada ne oslepi. Retinopatija je podeljena u dve velike kliničke kategorije – oblika: početna (simple ili background ili neproliferativna) i proliferativna dijabetesna retinopatija [Trautner i sar. 1997; Bunce i sar. 2010].

Najraniji znak retinalnih promena je povećana kapilarna permeabilnost koja se dokazuje curenjem boje u staklasto telo prilikom fluoresceinske angiografije. Promene retine se standardno prate korišćenjem pregleda očnog dna, odnosno oftalmoskopijom. Tipične patoanatomske promene koje se uočavaju na očnom dnu su mikroaneurizme koje mogu biti sakularne i fuziformne, zatim hemoragije različitog stepena i lokalizacije (pa su stoga različitih oblika, plamenaste, tačkaste, mrljaste, linearne), eksudati koji mogu biti meki (cotton-wool spots) i tvrdi (hard exudates) i konačno makularni edem [Erickson i sar. 2007; Nunes i sar. 2009].

Osnovnu karakteristiku proliferativne dijabetesne retinopatije čini formiranje, odnosno umnožavanje novih krvnih sudova retine i ožiljavanje, odnosno bujanje fibroznog tkiva. Dve ozbiljne komplikacije koje se mogu desiti u proliferativnoj dijabetesnoj retinopatiji su krvarenje u staklasto telo i odlubljivanje retine koje mogu dovesti do naglog i iznenadnog gubitka vida na jednom oku [Bäcklund i sar. 1997; Falkenberg i Finnström 1994].

Učestalost dijabetesne retinopatije menja se zavisno od starosnog doba kad počinje bolest i sa dužinom trajanja bolesti. Početna dijabetesna retinopatija javlja se već posle prvih 5 do 8 godina trajanja dijabetesa. Posle 25 do 30 godina trajanja bolesti oko 90% bolesnika sa T1DM ima značajno izražene promene, ali neki bolesnici ne razviju promene retine ni nakon 30 godina trajanja bolesti. Izgleda da se retinopatija pojavljuje ranije u starijih bolesnika, ali je kod njih proliferativna retinopatija ređa. Od 10 do 18% bolesnika sa početnom dijabetesnom retinopatijom progrediraju u proliferativnu retinopatiju u desetogodišnjem periodu. Oko polovine bolesnika sa proliferativnom retinopatijom progredira do slepila u periodu od 5 godina [Kempen i sar. 2004; Kern 2007; Ehrlich i sar. 2010].

Lečenje se sprovodi primenom laserske fotokoagulacije. Ovakvo lečenje smanjuje incidenciju hemoragija i ožiljavanja i uvek je indikovano kada se desi formiranje novih krvnih sudova. Fotokoagulacija je korisna u lečenju mikroaneurizmi, hemoragija i makularnog edema i pre nego otpočne proliferativna faza. Komplikacije laser fotokoagulacije

postoje zbog toga što ponavljane fotokoagulacije smanjuju ukupnu površinu retine, pa dolazi do neminovnog delimičnog gubitka perifernog vida [Mohamed i sar. 2007].

Najbolji način za prevenciju dijabetesne retinopatije je sprovođenje što bolje metaboličke kontrole dijabetesa. Takođe, što bolja kontrola arterijske hipertenzije, koja pogoršava postojeću retinopatiju, ima značaja u prevenciji [Mancia 2010; Chaturvedi i sar. 1998; UK Prospective Diabetes Study Group 1998b; Ghattas i sar. 2011; Jeganathan i sar. 2011; Mauer i sar. 2009].

Dijabetesna nefropatija

Dijabetes povećava rizik za razvoj hronične bubrežne bolesti 2,6 puta [Fox i sar. 2004] i rizik za smrt od bubrežne bolesti 3 puta [Seshasai i sar. 2011].

Bubrežna bolest je vodeći uzrok smrti i invaliditeta u dijabetesu melitusu. Oko polovine svih terminalnih hroničnih bubrežnih insuficijencija u SAD su sada uzrokovane dijabetesnom nefropatijom. Aproximativno oko 35% pacijenata sa T1DM razvije ovu komplikaciju. Smatra se da se terminalni oblik dijabetesne nefropatije (azotemija) javlja u proseku posle 15 do 17 godina trajanja T1DM, praćenog rđavom metaboličkom kontrolom. Kada T1DM traje na primer 40 godina u 8% bolesnika dijabetesna nefropatija evoluira do terminalnog stadijuma bolesti. Dijabetesna nefropatija je glavni uzrok smrti u T1DM, stopa mortaliteta je 10 do 11% [Watts i sar. 1991; Hovind i sar. 2003; Adler 2004].

Prevalencija u T2DM varira od 15 do 60% zavisno od etničke pripadnosti. Pima indijanci imaju najveću stopu pojave bolesti, a Evropljani najmanju. Vrlo je verovatno da u nastanku dijabetesne nefropatije, kao i kod ostalih komplikacija, genetska osnova igra značajnu ulogu. U nekim porodicama sa više dijabetesnih bolesnika, oni retko imaju bubrežnu bolest, a kod nekih više od 80% obolelih od dijabetesa imaju rizik za razvoj bubrežne bolesti [Lemley 2003].

Dijabetesna nefropatija ima dva patološka oblika ispoljavanja koji mogu, ali i ne moraju da postoje istovremeno: difuzni i nodularni. Difuzni oblik, koji je češći, sadrži debljanje bazalne membrane zajedno sa mezangijalnim debljanjem. U nodularnom obliku, velike akumulacije PAS pozitivnog materijala se nalaze na periferiji glomerulanih petlji, što je označeno kao Kimmelstiel – Wilson-ova lezija. Može postojati i hijalinizacija aferentne i eferentne arteriole, fibrinske kape i okluzija glomerula. Najspecifičnije lezije za dijabetesnu glomerulosklerozu su hijalinizacija aferentne arteriole i Kimmelstiel – Wilsonovi nodusi.

Klinički renalna disfunkcija u dijabetesu melitusu ne korelira dobro sa histološkim abnormalnostima [Couser i Nangaku 2006; Johnston i sar. 1998; Tervaert i sar. 2010].

Dijabetesna nefropatija može biti funkcionalno klinički tiha u dugom periodu (10 do 15 godina). Na početku bubrezi su obično uvećani i u stanju povećane funkcije, odnosno glomerularna filtracija može biti uvećana i do 40%. Sledeća faza je pojava mikroalbuminurije, koja podrazumeva ekskreciju albumina urinom u količini od 30 mg do 300 mg dnevno (za 24 sata, odnosno 20 µg do 200 µg u minutu). Ova količina albumina ne može se otkriti standardnim test trakama za otkrivanje proteina u mokraći, već se to dešava tek kada ekskrecija proteina bude više od 500 mg do 550 mg dnevno (više od 300 mg albumina dnevno). Ovakva ekskrecija označava se kao makroproteinurija. Nakon perioda makroproteinurije polako nastupa sledeća faza bolesti sa smanjenjem glomerulske filtracije, koja dovodi do stadijuma bubrežne insuficijencije sa azotemijom. Od trenutka kada otpočne makroproteinurijska faza bolesti postoji prilično stabilan pad glomerularne filtracije od prosečno 1mL/min mesečno. Pojava nefrotskog sindroma može prethoditi pojavi azotemije, a progresija bubrežne bolesti ubrzava se praktično obaveznom pojavom hipertenzije [Gall i sar. 1995; Powrie i sar. 1994; Rudberg i sar. 1993; Jerums i sar. 2009; Adler i sar. 2003; Tryggvason i Pettersson 2003].

Specifičnog tretmana za dijabetesnu nefropatiju nema. Od najvećeg značaja je striktna kontrola glikemije, koja je prema rezultatima DCCT [1993] u stanju da smanji mikroalbuminuriju i uspori progresiju dijabetesne nefropatije. Kada god je prisutna hipertenzija mora se tretirati agresivno [Lewis i Lewis 2003; Yusuf i sar. 2000; Mann i sar. 2008].

Preporučuje se takođe i dijeta sa smanjenim unosom proteina od oko 0,7 g do 0,8 g po kgTT, sve sa ciljem da se smanji glomerularna hiperfiltracija. Kada bolest dođe u fazu azotemije tretman se ne razlikuje ni u čemu od lečenja azotemije uzrokovane bilo kojim drugim oboljenjem bubrega. U terminalnoj fazi bubrežne insuficijencije neophodna je primena neke od dijaliznih metoda, pri čemu kontinuirana ambulatorna peritonealna dijaliza ima prednosti. S obzirom da je preživljavanje bolesnika od insulin zavisnog dijabetesa melitusa sa dijabetesnom nefropatijom na dijalizi samo 50% nakon tri godine primene ovog terapijskog postupka, preporučuje se transplantacija bubrega [Remuzzi i sar. 1994; Gaede i sar. 2003; Gaede i sar. 2008; Skyler i sar. 2009].

Dijabetesna neuropatija

Dijabetesna neuropatija može pogoditi praktično svaki deo nervnog sistema sem mozga. U načelu je retko direktni uzrok smrti kod dijabetičara, ali je glavni uzrok morbiditeta, jer do 70% obolelih od DM razvije simptome neuropatije, sa porastom prevalencije uz trajanje dijabetesa. Javlja se u nekoliko različitih tipova neuropatije, gde postoji mogućnost da se kod istog pacijenta pojavi više njih. Najčešći oblik je periferna polineuropatija, a postoji i mononeuropatija, radikulopatija, autonomna neuropatija [Little i sar. 2007].

Simetrična periferna sensorimotorna polineuropatija, koja je odgovorna za skoro 80% slučajeva dijabetesne neuropatije, prouzrokuje oštećenje perifernih nerava ekstremiteta, koji se pre svega ogledaju u poremećajima senzibiliteta, dok su poremećaji motorike ređi. Simptomi obuhvataju hipoestezije, parestezije, hiperestezije, bolove (odnosno osećaje bockanja, trnjenja, mravinjanja, žarenja, ukočenosti). Tegobe, a naročito bol, se obično pojačavaju u toku noći. Pregledom se otkriva gubitak vibracionog senzibiliteta i gubitak refleksa na istezanje. Zbog zahvatanja proprioceptivnih vlakana dolazi do abnormalnosti hoda i formiranja tipičnih Charcot-ovih zglobova, naročito stopala. Neuropatska oštećenja nogu i stopala uz oštećenja vaskulature čine osnovu za nastanak sindroma dijabetesnog stopala i posledičnog razvoja dijabetesne gangrene [Vinik i sar. 2000; Boulton i sar. 2005].

Mononeuropatija je mnogo ređa od polineuropatije. Karakteristična je obično nagla pojava viseće šake ili visećeg stopala, zbog oštećenja femoralnog, ishijadičnog, peronealnog nerva, a javljaju se i paralize okulomotora (treći, četvrti i šesti kranijalni nerv). Za mononeuropatiju je karakterističan veliki stepen reverzibilnosti, obično u roku od nekoliko nedelja, mada kod dužeg trajanja simptoma mogu u obzir da dođu i drugi razlozi oštećenja nerava. Radikulopatija je senzorni sindrom u kome se javlja bol u distribuciji jednog ili više spinalnih nerava, najčeće u zidu grudnog koša ili abdomena. Snažni bol može imitirati herpes zoster ili akutni abdomen. Slično mononeuropatiji lezije su obično samoograničavajućeg karaktera [Said 2007].

Autonomna neuropatija se može prezentovati na više načina. Gastrointestinalni trakt je obično najčešće zahvaćen (dijabetesna gastroenteropatija). Može postojati ezofagealna disfunkcija sa otežanim gutanjem, zatim atonija želuca (gastropareza) sa njegovim otežanim i odloženim pražnjenjem, pa se usled retencije hrane i rastezanja želuca javljaju muka, gađenje i povraćanje. Zaostajanje hrane i poremećaji u pasaži uzrokuju poremećaje razlaganja i

apsorpcije i dodatno otežavaju pravilnu metaboličku kontrolu dijabetesa. Postoji naizmenično smenjivanje opstipacije i dijareje, koja je obično noćna. Poremećaj funkcije unutrašnjeg analnog sfinktera može imitirati dijabetesnu dijareju. Zahvatanje kardiovaskularnog aparata je obično klinički najozbiljnije. Postoji ortostatska hipotenzija sa povremenim pojavama klasičnih sinkopa. Ima opisanih slučajeva za koje se misli da je iznenadna srčana smrt nastala kao isključiva posledica autonomne neuropatije. Disfunkcija mokraćne bešike sa paralizom, koja dovodi do retencije, je značajan klinički problem koji ponekad zahteva primenu stalnog katetera. Kod muškaraca se često javljaju i erektilna disfunkcija (impotencija) i retrogradna ejakulacija. Eretilna disfunkcija je udružena sa deficitom proizvodnje azot monoksida u penilnoj vaskulaturi. Može postojati i deficit vazoaktivnog intestinalnog peptida (VIP). Dijabetesna amiotrofija je verovatno forma neuropatije, iako u njoj atrofija i slabost velikih mišića u korenu ekstremiteta podseća na primarne mišićne bolesti. Posebno treba istaći da je u toku autonomne neuropatije smanjen ili izgubljen odgovor kontraregulatornih hormona odnosno hormona suprotnog dejstva u odnosu na insulin. Zbog toga se u bolesnika sa T1DM javljaju teške i opasne hipoglikemije u toku insulinske terapije [Vinik i sar. 2003; Reichard i sar. 1991].

U većini slučajeva tretman neuropatije je nezadovoljavajući. U terapiji periferne neuropatije koriste se različiti analgetici sa manjim ili većim uspehom, a ima pokušaja sa fenitoinom, flufenazinom, amitriptilinom, karbamazepinom. U dijabetesnoj gastroenteropatiji, zavisno od predominantnih simptoma, koriste se loperamid, metoklopramid, cisaprid. Ortostatska hipotenzija reguliše se spavanjem sa podignutim uzglavljem i izbegavanjem naglog zauzimanja uspravnog položaja, a u težim slučajevima savetuje se veći unos soli u ishrani u cilju povišenja volumena, ponekad je potrebna i upotreba fludrokortizona. Terapija u erektilnoj disfunkciji podrazumeva direktno iniciranje papaverina u kavernozno telo penisa, najbolji rezultati su postignuti primenom inhibitora cGMP-specifične fosfodiesteraze, tipa 5, u težim slučajevima preporučuje se i ugradnja specijalnih aparata (proteza) u kavernozno telo [Edwards i sar. 2008; Tesfaye i sar. 2010].

Makroangiopatske komplikacije, etiopatogeneza

U etiopatogenezi ovih bolesti učestvuje više faktora, ali je svakako ateroskleroza najvažnija. Proces ateroskleroze postoji i u dijabetičara i u nedijabetičara, ali je u dijabetičara ateroskleroza prevremena (prematurna, javlja se u znatno mlađem dobu), difuzna je i

progresivna, ženski pol ne predstavlja zaštitu, proces može da zahvati i sitne krvne sudove [Glass i Witztum 2001; Dantas i sar. 2012].

Početak u razvoju ateroskleroze je pojava endotelne disfunkcije. Hiperglikemija je vodeći faktor u razvoju endotelne disfunkcije u DM. Postoje i eksperimentalni i klinički dokazi koji povezuju endotelnu disfunkciju i povećanu produkciju RVK. Studije su identifikovale vaskularnu NADPH oksidazu i „uncoupled“ eNOS, kao i mitohondrijalne enzime kao važne izvore superoksida u uslovima hiperglikemije [Sydow i Münzel 2003].

Važan aterogeni činilac u dijabetesu je hiperinsulinemija, najčešće endogena, u sklopu insulin nezavisnog dijabetesa melitusa, ali i egzogena, usled hiperinsulinizacije primenom nepotrebno velikih dnevnih doza u lečenju insulin zavisnog dijabetesa melitusa. Hiperinsulinizam deluje aterogeno preko više mehanizama: izazivajući hiperlipoproteinemiju, stimulišući razmnožavanje glatko mišićnih ćelija, izazivajući bubrenje medije zidova arteriola i na taj način što insulin deluje kao faktor rasta. Indirektno dejstvo ogleda se u tome da insulin u povećanim koncentracijama izaziva gojaznost i hipertenziju koji su najvažniji faktori rizika za nastajanje ateroskleroze u dijabetesu melitusu [Després i sar. 1996; Manson i sar. 1995].

Rđava metabolička kontrola u dijabetesu melitusu dovodi do poremećaja metabolizma lipoproteina. U uslovima nedovoljne količine insulina u T1DM javlja se hipertrigliceridemija, a slično stanje postoji i u T2DM gde u uslovima hiperinsulinizma usled gojaznosti i povećanog unosa hrane takođe postoji porast nivoa triglicerida [Laakso i sar. 1993; Byers 1995; Stensvold i sar. 1993].

Uzrok za ubrzanu aterosklerozu u dijabetičara mnogi vide u promenama lipoproteina. Naime neenzimska glikozilacija proteina koja se dešava u uslovima hiperglikemije pogađa i lipoproteine. Glikozilisani lipoproteini niske gustine (LDL) ne prepoznaju se od strane normalnog LDL receptora pa je njihov plazmatski poluživot produžen. Nasuprot tome, glikozilisani lipoproteini visoke gustine (HDL) se brže metabolišu nego nativni HDL. Izgleda da se aterosklerotska lezija inicijalno stvara pod uticajem oksidisanih LDL (ne nativnih LDL) u komplikovanoj kaskadi koja se odigrava preko acetyl-LDL ili scavenger receptora. I HDL i antioksidansi imaju sposobnost da smanje oksidaciju LDL, pokazujući na taj način antiaterogeno dejstvo. U eksperimentalnih životinja, dijabetes ubrzava oksidativni proces. Iako su lipoproteini često u nivou koji pripada granicama normale, nivo HDL teži često nižim vrednostima, dok je nivo LDL normalan ili visok. Visok

odnos LDL/HDL favorizuje aterosklerozu, a pri niskim nivoima HDL reverzni transport holesterola iz aterosklerotskih lezija je otežan i smanjen [D'Agostino i sar. 2008; Norata i sar. 2006; Ragbir i Farmer 2010; Uusitupa i sar. 1993; Kawamura i sar. 1994; Alexander 1995; Brownlee 1992].

Ostali faktori od potencijalnog značaja su poremećaji koagulacije krvi i funkcije trombocita. U dijabetičara je utvrđeno povećanje nivoa fibrinogena, VII i VIII faktora koagulacije, von Willebrandovog faktora. Aktivnost aktivatora plazminogena je smanjena. Iz tih razloga koagulabilnost krvi je povećana a fibrinoliza krvi, kao i ona u zidu krvnih sudova, je smanjena. Povećano je stvaranje trombocita kao i njihova agregacija i adhezivnost zbog kojih započinje proces ateroskleroze. Ovo je uzrokovano povećanom sintezom tromboksana A₂, a smanjenom sintezom prostaciklina koji je antiagregaciono sredstvo i snažan vazodilatator [Thompson i sar. 1995; Chen i sar. 1995; Jain i sar. 1993].

Kao i u nedijabetičara pušenje je glavni faktor rizika za aterosklerozu. Hipertenzija je takođe značajan faktor rizika kod mnogih dijabetičara.

Aterosklerotske lezije mogu proizvoditi simptome na različitim mestima. Najvažnije kliničke prezentacije dijabetesne makroangiopatije su ishemijska bolest srca (koronarna bolest), bolest krvnih sudova CNS (moždani inzult) i bolest arterija nogu (gangrena).

Ishemijska bolest srca – koronarna bolest

Koronarna bolest u svim svojim vidovima, kao što su angina pectoris, nestabilna angina i akutni infarkt miokarda 3 do 5 puta češća je u bolesnika sa dijabetesom nego u zdravih osoba. Epidemiološke studije pokazuju učešće od oko 9% kod naše populacije, dok kod bolesnika sa dijabetesom oko 35%. Dalje ispitivanje pokazuje da je koronarna bolest dva puta češća u bolesnika sa dijabetesom koji traje više od pet godina i koji je za to vreme bio nedovoljno regulisan [Devereux i sar. 2000; Roger i sar. 2011; Haffner i sar. 1998].

Klinička slika koronarne bolesti u dijabetesu pokazuje određene karakteristike. Koronarna bolest je češća kod dijabetičara do 50 godina života. Dok je kod zdravih osoba nastanak koronarne bolesti prvenstveno vezan za muški pol, u bolesnika sa dijabetesom odnos je jedan prema jedan. Akutni infarkt miokarda u dijabetesu često se javlja bez izrazitog bola kao posledica dijabetesne neuropatije. „Nemi“ infarkt miokarda može da se javi i u nedijabetičara, ali u znatno manjem broju (6 do 15%). U dijabetičara se često dešava (20 do

40%) da se infarkt otkrije u toku rutinskog EKG pregleda. U dijabetičara i ishemijska pogoršanja mogu da protiču bez bola i da se ogledaju samo u promenama ST segmenta i T talasa. Danas se smatra da je autonomna neuropatija uzrok ovakvog kliničkog toka koronarne bolesti, jer su oštećena intrakardijalna vlakna simpatikusa koja prenose bol. Zbog svega ovoga kasni se sa dijagnozom. Dijabetesna autonomna neuropatija srca često daje poremećaje ritma, što može biti fatalno u akutnom infarktu miokarda, i što skupa sa prethodnim povećava mogućnost pojave većeg procenta iznenadne smrti [Jacoby i Nesto 1992; Karlson i sar. 1993; Orlander i sar. 1994].

I prevalencija i mortalitet od akutnog infarkta miokarda su veći u dijabetičara nego u nedijabetičara, najčešće usled akutne insuficijencije miokarda, koja se može javiti posle infarkta [Barbash i sar. 1993; Abbud i sar. 1995]. Uzrok slabljenja miokarda i pojave veće mogućnosti za razvoj akutne srčane insuficijencije u infarktu je mikroangiopatija arteriola i kapilara, koja otežava stvaranje kolateralnog krvotoka u srčanom mišiću. Najčešća lokalizacija akutnog infarkta miokarda je prednji zid, i zahvaćenost velike površine doprinosi smanjenju kontraktilne snage leve komore [Flaherty i Davidson 2005; Carson i sar. 2002; Katayama i sar. 2005]. Češća je i pojava kardiogenog šoka (2,7 puta) [Brenner i sar. 2012; Granger i sar. 1993].

Prevalencija srčane insuficijencije u opštoj populaciji iznosi od 1 do 4%, ali u populaciji diiabetesnih bolesnika je 12% [Thrainsdottir i sar. 2005].

Kod bolesnika sa akutnim infarktomiokarda dijabetes i poremećaj glikoregulacije sreću se u više od 30% slučajeva. Najčešća je tranzitorna hiperglikemija usled stresnog delovanja kateholamina. Stres često dovodi do pogoršanja glikoregulacije, i akutni infarkt miokarda znatno pogoršava dijabetes i ukoliko se terapija ne koriguje može se razviti ketoacidoza i koma, što opet značajno povećava mortalitet. Dijabetesna koma u akutnom infarktu miokarda ima lošu prognozu. Paralelno sa lečenjem infarkta miokarda treba sprovesti i lečenje dijabetesa, jer se postizanjem što bolje glikoregulacije smanjuje pojava kardiogenog šoka, a time i stopa mortaliteta [Fava i sar. 1993; Lynch i sar. 1994].

Bolest krvnih sudova CNS-a

Moždana apopleksija (moždani udar, šlog ili cerebrovaskularni inzult) je dva puta češći uzrok smrti u dijabetičara nego kod ostale populacije. U smrtnosti dijabetičara učestvuju sa 12 do 16%. Najčešća je tromboza arterija mozga sa ishemijom i nekrozom tkiva (infarkt

mozga), a ređa je hemoragija (oko 80% infarkta prema oko 20% hemoragija) [Roger i sar. 2011]. Klinička slika se ne razlikuje od cerebrovaskularnog infarkta kod drugih bolesnika. Prognoza zavisi od veličine i mesta koje je u mozgu zahvatio proces. Lečenje se ne razlikuje od načina lečenja svih bolesnika sa cerebrovaskularnim infarktom [O'Donnell i Yusuf 2009; Strong i sar. 2007; Feigin i sar. 2009].

Ishemijska bolest donjih ekstremiteta

Obliterirajuća ateroskleroza donjih ekstremiteta je karakteristična za dijabetičare, jer aterosklerozni proces u njih karakteristično napada arterije donjih ekstremiteta. Od svih makroangiopatija najviše ispunjava navedene specifičnosti kliničke slike u dijabetičara u odnosu na nedijabetičare: da se promene javljaju u mlađem dobu, da su česte, difuzne i progresivne. Najčešće pogađa poplitealnu i tibijalnu arteriju. Prvi klinički znaci javljaju se kada se lumen arterije smanji za 60%. Oni obično prolaze kroz tri faze, a to su intermitentna klaudikacija, bol pri mirovanju i gangrena. Klinička slika i njene komplikacije nisu posledica samo makroangiopatije već i mikroangiopatije i neuropatije. Učešće obliterirajuće ateroskleroze u dijabetesu iznosi između 14 i 25%, a gangrene oko 3% [Veves i sar. 1994].

Klinički najvažniji problem je dijabetesno stopalo [Rathur i Boulton 2007]. To je sklonost ka pojavi ulceracija na stopalima, koje se komplikuju infekcijom multiplim mikroorganizmima. Izgleda da se ulkusi pojavljuju primarno zbog abnormalnog rasporeda pritiska na stopalo, zbog neuropatije. Problem je značajno veći ukoliko postoji i poremećaj kostiju stopala. Inicijalna abnormalnost je obično formiranje kalusa, ali ulceracije nastaju i nakon oštećenja stopala neadekvatnim cipelama ili stranim telima u osoba koje zbog senzornih deficita ne osećaju bol [Hinchliffe i sar. 2008; Singh i sar. 2005].

Specifična terapija za dijabetesne ulkuse ne postoji, pa je stoga mnogo važnija prevencija kroz brižnu i pažljivu negu nogu. Kada do ulceracije i infekcije ipak dođe, intenzivna podržavajuća terapija usmerena je na spašavanje noge od amputacije i podrazumeva pre svega intenzivnu vazoaktivnu i antibiotsku terapiju. Hirurške rekonstruktivne intervencije na krvnim sudovima su često neadekvatne zbog čestog simultanog prisustva izrazito raširenih lezija na više sudova, kako velikih, tako i malih. Ako se ni na koji od ovih načina ne postigne uspeh, radi se amputacija koja je u principu radikalna, znatno proksimalno iznad mesta stenozе, jer amputacija u nivou stenozе (distalna

amputacija) često ima samo kratkotrajne efekte i zahteva reamputaciju na višem nivou [Stiegler i sar. 1998; Ebskov i Ebskov 1996; Steed i sar. 2006].

Terapija T1DM

Poslednja decenija dvadesetog veka donela je osnovne dogme savremene dijabetologije. Velike studije koje su sprovedene tokom prethodnih godina i koje su objavljene u devedesetim nepobitno su pokazale da se nezavisno od tipa bolesti dobrom metaboličkom kontrolom bolesti (striktnom glikemijskom kontrolom) može odložiti nastanak, kao i usporiti napredovanje već razvijenih hroničnih komplikacija dijabetesa (primarna i sekundarna prevencija komplikacija) [Diabetes Control and Complications Trial Research Group. 1993; UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1998a; Stratton i sar. 2000]. Studije koje su nastavile praćenje ovih bolesnika potvrđuju da se protektivni efekat dobre glikoregulacije nastavlja i u godinama koje slede i kada metabolička kontrola više nije tako striktna [Martin i sar. 2006; Cleary i sar. 2006; Nathan i sar. 2005; Holman i sar. 2008].

DCCT

Septembra 1993. godine dugotrajna randomizovana prospektivna studija koja je uključila 1441 pacijenta sa T1DM u 29 medicinskih centara je pokazala da postizanje „skoro normalne“ glukoze u krvi rezultuje u odlaganju nastanka, kao i značajnom usporavanju napredovanja već razvijenih mikrovaskularnih i polineuropatskih hroničnih komplikacija dijabetesa tokom desetogodišnjeg perioda praćenja.

Pacijenti su bili podeljeni u dve grupe sa jednakim brojem učesnika. Oko polovine od svih učesnika nije imalo detektovane hronične komplikacije dijabetesa (studija prevencije), dok je u drugoj polovini postojala blaga neproliferativna (background) retinopatija (studija intervencije). Neki od pacijenata iz druge grupe imali su takođe i lako povišen nivo albuminurije i blagu neuropatiju, ali niko sa ozbiljno izraženim hroničnim komplikacijama dijabetesa nije uključen u studiju. Intenzivirana insulinska terapija sa MDII je sprovedena kod 66% pacijenata, a kod 34% je korišćena terapija insulinskom pumpom u intenzivno tretiranoj grupi, i svi ovi pacijenti su bili edukovani da modifikuju svoju terapiju prema rezultatima čestih samokontrola glikemije. Konvencionalno tretirana grupa je lečena

sa ne više od dve dnevne doze insulina, i postizanje klinički adekvatnog stanja je bio cilj terapije, a nije bilo korekcije bazirane na nivou HbA1c ili glikemije. Pacijenti su bili između 13 i 39 godina na uključenju u studiju, sa prosečnom starosti od 27, polovina su bile žene i sa poznatom dijagnozom T1DM od najmanje godinu dana i najviše 15 godina u trenutku randomizacije.

U intenzivno tretiranoj grupi pacijenata postignut je srednji nivo HbA1c od 7,2% i prosečna glikemija (MBG) od 8,6 mmol/L, a u grupi konvencionalno lečenih je postignut srednji nivo HbA1c od 8,9% i MBG od 12,5 mmol/L. Tokom perioda studije, koji je bio prosečno 7 godina, postignuta je redukcija rizika za retinopatiju, nefropatiju i neuropatiju od oko 60% u intenzivno tretiranoj grupi.

Intenzivno tretirani pacijenti imali su 3 puta veći rizik od teških hipoglikemija, kao i značajno veću tendenciju porasta telesne težine. Ipak nije bilo smrtnih ishoda zbog hipoglikemija, kao ni dokaza za neurološka oštećenja nakon hipoglikemija [Diabetes Control and Complications Trial Research Group. 1993].

Studija koja je pratila bolesnike godinama nakon završetka inicijalne studije je pokazala da je intenzivna insulinska terapija bila povezana sa manje kardiovaskularnih oboljenja, što je pokazano kroz smanjenje debljine intime-medije i manju akumulaciju kalcijuma u koronarnim arterijama. Intenzivni insulinski tretman smanjio je rizik od bilo koje kardiovaskularne bolesti za 42% i rizik od nefatalnih moždanih udara, infarkta miokarda, ili kardiovaskularne smrti za 57% u obolelih od T1DM [Nathan i sar. 2005].

UKPDS

U T2DM centralno mesto pripada studiji koja je počela 1977. godine kao multicentrična studija dizajnirana da utvrdi da li rizik od makrovaskularnih i mikrovaskularnih komplikacija može da se smanji intenzivnom kontrolom glukoze u krvi. Novootkriveni bolesnici sa T2DM regrutovani su između 1977. i 1991. godine. Pacijenti su bili stari između 25 i 65 godina, medijana starosti na početku studije bila je 54 godine. Ukupno je praćeno 3867 bolesnika i praćenje je trajalo preko 10 godina. Nivo HbA1c na početku studije je bio 9,1%. Intenzivno lečena grupa pacijenata postigla je srednji nivo HbA1c od 7,0% za razliku od konvencionalno lečene grupe u kojoj je postignut nivo HbA1c od 7,9%. Ovaj nivo glikemijske kontrole smanjio je rizik od mikrovaskularnih komplikacija za 25% kao i sve ostale komplikacije dijabetesa. Na ovaj način je potvrđena premisa da se

korist od striktno metaboličke kontrole, koja je tako ubedljivo pokazana u DCCT u obolelih od T1DM, takođe može očekivati i u starijih bolesnika sa T2DM. Ova studija je takođe od značaja jer je pobila postojanje „praga“ glikemijske kontrole, odnosno pokazala je značajan benefit od relativno skromnog sniženja HbA1c ispod 7,9%, a prema rezultatima DCCT se zaključivalo da je dalji dobitak od sniženja ispod 8% naizgled manji [UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1998a].

Dalja analiza podataka iz ove studije dala je zaključke da se za svako sniženje prosečnog nivoa HbA1c od 1% dobija redukcija rizika za bilo koji smrtni ishod vezan za DM od 21%, za IM za 14% i za 37% za mikrovaskularne komplikacije [Stratton i sar. 2000].

Ovi pacijenti su praćeni još 10 godina bez intenzivne kontrole DM od strane istraživača. Uprkos činjenici da je razlika u nivou HbA1c nestala nakon godinu dana, grupa koja je inicijalno intenzivno tretirana i dalje je imala redukciju rizika za mikrovaskularne bolesti od 24%, za infarkt miokarda od 15% i za bilo koji smrtni ishod za 13%. Ovaj efekat „nasleđen“ iz studije (metabolička ili glikemijska memorija) je prema autorima najverovatnije posledica moguće redukcije u nivou uznapredovalih proizvoda glikacije koju je donela inicijalna intenzivna kontrola glikemije [Holman i sar. 2008].

Nasleđe ovih velikih studija predstavlja sve ono što se pokušava i preduzima u savremenoj terapiji DM [Kilpatrick i sar. 2009].

IIT

Vodeći i od strane praktično svih preporuka predloženi vid savremene insulinske terapije T1DM je takozvana intenzivirana insulinska terapija (IIT), ili intenzivirana konvencionalna insulinska terapija (IKIT), sinonimi u svetskoj literaturi su bazal bolus terapija i multiple dnevne injekcije insulina (MDII). Intenzivirana insulinska terapija (IIT) predstavlja kamen temeljac za dobru kontrolu glikemije i, kako je dokumentovano u DCCT i UKPDS, obezbeđuje smanjenje rizika za razvoj hroničnih vaskularnih komplikacija dijabetesa. Stoga je za praktično skoro sve dijabetesne bolesnike sa T1DM terapija izbora IIT.

Ona podrazumeva obezbeđenje bazalne insulinizacije jednom ili dvema injekcijama srednjedugodelujućeg humanog insulina (NPH insulina) uz davanje tri ili više bolusa humanog solubilnog insulina (regular insulina) pre glavnih obroka. Ovaj način terapije na

neki način imitira fiziološki profil insulina koji podrazumeva kontinuiranu, manje više ujednačenu sekreciju insulina iz β ćelija tokom 24 sata, na koju se nadovezuje naglo oslobađanje većih koncentracija insulina iz β ćelija, nakon pojave većih koncentracija glukoze u krvi posle obroka (postprandijalno).

Drugi način sprovođenja IIT je kontinuirana subkutana infuzija insulina (KSII), označena često i kao terapija insulinskom pumpom, gde se uz pomoć pumpe brzodelujući preparat insulina kontinuirano ubrizgava subkutano po određenom ritmu, čime se obezbeđuje bazalna insulinizacija, a pred obroke se dodaju bolusne doze. Teoretski, portabilna insulinska pumpa nudi najfiziološkiji način za supstituciju insulina jer dvadesetčetvoročasovno obezbeđuje bazal sa mogućnostima varijacija prema potrebama u različita doba dana i noći, sigurnije i preciznije u odnosu na bazalni insulin u MDII. U prednosti terapije insulinskom pumpom ubrajaju se i fleksibilnost nadoknade insulina u skladu sa planiranim varijacijama obroka i fizičke aktivnosti, pokrivanje potreba za insulinom zbog porasta glikemije rano ujutru (fenomen zore), olakšana kontrola u slučaju prisustva neke akutne konkomitantne bolesti [Pickup i Keen 2002]. Poboljšanje glikoregulacije uz terapiju KSII, sa smanjenjem nivoa glikemije i HbA1c, smanjenjem varijabilnosti glikemije, uz smanjenje broja hipoglikemija prikazali smo i u našem ranijem saopštenju kod naših pacijenata [Radenković i sar. 2011].

Farmakokinetički profil dejstva preparata humanog insulina nije u potpunosti mogao da obezbedi profil insulina identičan fiziološkom. Naime, nakon injekcije humanog solubilnog insulina njegova koncentracija u plazmi ne raste onoliko brzo i visoko kako se to dešava u zdrave osobe, a takođe se ne smanjuje na vrednosti od pre obroka onako brzo sa normalizacijom glikemije kao kod zdravih osoba. Ukratko rečeno, humani insulin brzog i kratkog dejstva ima dejstvo koje nije ni dovoljno brzo ni dovoljno kratko.

Sa druge strane, bazalna insulinizacija, koja kod zdravih osoba ima prilično ravnomeran nivo tokom 24 sata, ne može se oponašati u potpunosti korišćenjem srednjedugodelujućih preparata insulina (NPH ili lente insulini), jer nivo insulina u plazmi nakon injekcije srednjedugodelujućeg insulina raste postepeno od nivoa koji je u početku nedovoljan i potom dostiže maksimum dejstva odnosno pik (engl. peak), kada je nivo insulina u plazmi obično previsok, da bi mu potom koncentracija u plazmi opadala, opet često na nivo koji nije dovoljan, i pre nego počne dejstvo naredne injekcije srednjedugodelujućeg preparata insulina. Ukratko rečeno, srednjedugodelujući preparati insulina nemaju dejstvo

koje je dovoljno dugo i, što je još važnije, koje je dovoljno ravnomerno tokom 24 sata [Home 1997; DeWitt i Hirsch 2003].

Poslednja decenija u savremenoj dijabetologiji je decenija insulinskih analoga. Promenom molekula insulina, kroz manje promene sekvence amino-kiselina u peptidnim lancima insulina, nastoji se da se obezbedi promena farmakokinetike, odnosno brzine i dužine dejstva preparata insulina, bez promene osnovnog hipoglikemijskog dejstva hormona. Na ovaj način modifikovani insulini svojim superiornim farmakokinetičkim profilom mogu da obezbede lakše prevazilaženje problema striktno metaboličke kontrole, odnosno da obezbede bolju glikoregulaciju i bolju kontrolu glikemije i našte i postprandijalno [Hirsch 2005; Bolli i sar. 1999].

Na bilo koji način sprovedena, IIT ima uvek pred sobom dva cilja, postizanje što bolje, skoro normalne glikemije, uz smanjenje učestalosti i težine hipoglikemija.

INSULINI

Kratkodjelujući insulini ili insulini brzog i kratkog dejstva

Regular insulin je kratkodjelujući rastvoreni kristalni cink insulin čiji hipoglikemijski efekat počinje za 15 minuta nakon subkutane injekcije, dostiže maksimum nakon 1 do 3 sata i traje oko 5 do 7 sati (kada se daju uobičajene doze od npr. 5 do 15 IJ). Kristalni insulin je jedini koji se može primeniti intravenski i ovaj način terapije je neophodan u tretmanu DKA ili u perioperativnom tretmanu insulin zavisnih bolesnika. Obzirom da je regular insulin kada se da intravenski monomer, on ima trenutni efekat, pa nema prednosti u korišćenju skupljih analoga insulina ultrakratkog dejstva intravenski.

Relativno spora apsorpcija regularnog insulina je posledica činjenice da, kada se rastvoru dimera insulina, koji čine regularni insulin, dodaju atomi cinka, molekuli se udružuju i formiraju se heksameri. Ovi veći molekuli sporo difunduju u cirkulaciju, dok se monomeri i dimeri mnogo brže apsorbuju [Heinemann i Richter 1993].

Ultrakratko delujući insulini ili analozi insulina kratkog dejstva

Analozi humanog insulina brzog dejstva su proizvedeni tako da se menja prirodna sklonost molekula humanog insulina u rastvoru ka dimerizaciji i u prisustvu Zn ka organizaciji tri dimera u heksamere. Na taj način uobičajeni sled događaja koji postoji na mestu injekcije humanog insulina u potkožno tkivo, gde je heksamerima insulina potrebno izvesno vreme da disosuju na dimere, a ovi potom na monomere koji jedino prolaze kroz endotel i u krvnu struju kojom bivaju odnešeni do mesta delovanja, biva ubrzan jer molekuli analoga humanog insulina brzog dejstva vrlo brzo disosuju na monomere, pa je postizanje željene koncentracije insulina u plazmi mnogo brže nakon injekcije. Ukupni profil dejstva analoga humanog insulina brzog dejstva je stoga takav da deluju brže i kraće od solubilnog humanog insulina [Sheldon i sar. 2009].

Insulin lispro, koji je prvi razvijeni brzodelujući analog insulina, se razlikuje od regularnog insulina po sposobnosti da disosuje brzo u monomere u subkutanom tkivu. Formulacija ovog insulina je načinjena ugledajući se na insulinu sličan faktor rasta 1 (IGF-1) koji je strukturno sličan insulinu, a nema tendenciju za samoasocijacijom molekula, verovatno zbog razlika u C terminalnom delu B lanca IGF-1 i B lanca insulina [Hirsch 2005].

Insulin lispro je insulinski analog u kome su dve amino-kiseline blizu terminalnog kraja B lanca zamenile mesto: prolin sa pozicije B28 je premešten na poziciju B29, a lizin je premešten sa pozicije B29 na B28. Insulin aspart je rezultat promene (supstitucije) samo jedne amino-kiseline, prolin na poziciji B28 je zamenjen asparaginskom kiselinom. Insulin glulizin je najnoviji od brzodelujućih insulinskih analoga i njegova struktura se razlikuje na dva mesta u odnosu na strukturu humanog insulina, asparagin na poziciji B3 je zamenjen lizinom a lizin na poziciji B29 je zamenjen glutaminskom kiselinom. Ove promene čine da ovi insulini imaju manju tendenciju da se udružuju u heksamere u odnosu na humani insulin [Eckardt i Eckel 2008; Chapman i sar. 2003; Garnock-Jones i Plosker 2009].

Brzodelujući analozi insulina imaju slične farmakokinetske i farmakodinamske osobine. Načelno injekcija ovih brzih insulinskih analoga rezultuje u duplo većoj maksimalnoj koncentraciji kojoj je potrebno duplo kraće vreme da se postigne nego kada se primeni injekcija ekvivalentne doze regularnog insulina [Owens i sar. 2001].

Za kliničku praksu farmakodinamske mere akcije insulina su indikativnije za njegov efekat na glukozu u krvi u odnosu na farmakokinetska merenja. Tokom studija sa euglikemijskim klampom daje se injekcija insulina, a potom se daje infuzija glukoze kojom

se održava stalni nivo glikemije. Maksimalna stopa infuzije je mera najveće aktivnosti insulina. Vrh (engl. peak) insulinske aktivnosti nastupa približno dva puta brže sa analogima u odnosu na regularni insulin. U studiji u kojoj je davana doza od 10 jedinica insulina lispro srednja vrednost (\pm SD) vremena nastupanja vrha insulinske aktivnosti je iznosila 99 ± 39 minuta u poređenju sa 179 ± 93 minuta za regularni insulin ($p < 0,05$) [Howey i sar. 1994]. U studiji sa insulinom aspart davanim u dozi od 0,2 jedinice po kilogramu TT vreme do vrha aktivnosti je bilo 94 ± 46 minuta u poređenju sa 173 ± 62 minuta za regularni insulin ($p < 0,001$) [Mudaliar i sar. 1999]. Korišćenjem ovih brzodelujućih analoga insulina takođe se postiže smanjenje varijabilnosti apsorpcije sa mesta injekcije, kao i smanjenje varijabilnosti kod svakog pacijenta, a i između različitih pacijenata [Howey i sar. 1994].

Oba ova insulina, i lispro i aspart, su superiorna u redukciji postprandijalne hiperglikemije [Anderson i sar. 1997; Home i sar. 1998]. Ipak, uopšteno gledano, studije koje su pratile terapiju sa multiplim dozama insulina nisu pokazale da brzodelujući analozi popravljaju nivo glikozilisanog hemoglobina [Pfützner i sar. 1996; Vignati i sar. 1997; Colombel i sar. 1999; Gale 2000]. Moguće je da je ovo posledica činjenice da u većini ovih studija nije postignuta idealna supstitucija bazalnog insulina, kao i da je ukupna glikoregulacija bila dovoljno dobra na početku studija što čini teško mogućim da se pokaže ukupno poboljšanje glikoregulacije. U svakom slučaju, čini se da popravljavanje postprandijalne hiperglikemije i sledstvene glikemijske varijabilnosti, što se ne ogleda najbolje kroz poboljšanje glikozilisanog hemoglobina, može biti važno u odlaganju razvoja komplikacija dijabetesa [Quagliaro i sar. 2003].

U studiji u kojoj je bazalna insulinizacija maksimizirana multiplim malim dozama NPH insulina u vreme obroka i pred spavanje, insulin lispro je doveo do poboljšanja nivoa glikozilisanog hemoglobina u poređenju sa regular insulinom [Lalli i sar. 1999]. Takođe upotreba brzodelujućih insulinskih analoga u studijama sa kontinuiranom subkutanom infuzijom je dokazano superiorna u odnosu na upotrebu regular insulina u smanjivanju nivoa glikozilisanog hemoglobina [Zinman i sar. 1997; Renner i sar. 1999; Raskin i sar. 2001].

Humani dugodelujući, bazalni insulini

Cilj nadoknade bazalnog insulina je da se obezbedi konstantni nivo insulina između obroka bez povećavanja rizika za hipoglikemije, naročito noću. Dugodelujući, bazalni insulini su modifikovani da bi im se odložila apsorpcija sa mesta injekcije. Najčešće korišćeni

bazalni insulini su insulini srednje dugog dejstva: Insulin lente i NPH insulin (neutral protamin Hagedorn ili izofan insulin), koji jedino postoji na našem tržištu. Početak dejstva NPH insulina je odložen kombinovanjem dva dela rastvorenog kristalnog insulina sa jednim delom protamin cink insulina. Ova mešavina ima jednake koncentracije insulina i protamina (odnosno nijedna komponenta nije u višku, zato i ime izofan). Početak dejstva ovog insulina je odložen oko 2 do 4 sata nakon injekcije, maksimum dejstva dostiže obično za 8 do 10 sati, a ukupno dejstvo je često manje od 24 sata (u rasponu od oko 18 do 24 sata). Obzirom na ovo trajanje dejstva i da dostiže maksimalni pik dejstva između 4 i 6 sati od injekcije može da izazove neželjene hipoglikemije i često je potrebno primeniti ga u dve dnevne injekcije [Zinman i sar. 1999]. Osim toga i apsorpcija ovog insulina značajno varira i neželjeno visoke plazmatske koncentracije mogu da dovedu do hipoglikemija, naročito noću [Heinemann i Richter 1993]. Nasuprot ovom, ista ova nepredvidiva apsorpcija može da dovodi do visokih nivo glikemije našte ujutru [Gillies i sar. 2000].

Lente insulin je mešavina od 30% kratkodjelujućeg semilente insulina i 70% dugodjelujućeg ultralente insulina i odloženo dejstvo se postiže dodatkom heksamer stabilizujućeg agensa, cinka. Maksimum dejstva i ukupno trajanje dejstva nakon injekcije je slično kao kod NPH insulina. Ovaj insulin više nije dostupan kod nas.

Humani ultralente insulin je relativno nerastvorljivi kristal od cinka i insulina suspendovan u acetatnom puferu. Generalno se predlaže da se koristi u dve jednake dnevne doze u razmaku od 12 sati čime se obezbeđuje bazalna insulinizacija, dok se kristalni insulin koristi da se pokrije porast glukoze nakon obroka. Ni ovaj preparat nije više dostupan kod nas i ne koristi se u rutinskoj terapiji. I ovaj insulin ima ograničenja spomenuta za prethodne i takođe ga karakterišu velike inter- i intraindividualne varijabilnosti u farmakokinetici i farmakodinamici [Hirsch 1998; Roskamp i Park 1999].

Sve ove preparacije insulina ne mogu u potpunosti da obezbede adekvatnu nadoknadu bazalnog insulina i ova ograničenja su dovela do pokušaja da se razvije poboljšani bazalni insulin koji neće imati nakon apsorpcije izražene pikove nivoa insulina, a koji će moći da se dozira jednom dnevno i da ima reproducibilnu antihyperglikemijsku efikasnost.

Dugodelujući analozi humanog insulina

Dugodelujući analozi humanog insulina su proizvedeni tako da je molekul insulina promenjen da bi se obezbedilo konzistentno oslobađanje sa mesta injekcije i time dugotrajno i ravnomerno dejstvo koje će u većoj meri imitirati prirodno bazalno oslobađanje insulina.

Na ovaj način modifikovani insulini svojim superiornim farmakokinetским profilom mogu da obezbede lakše prevazilaženje problema striktne metaboličke kontrole, odnosno da obezbede bolju glikoregulaciju i bolju kontrolu glikemije i našte i postprandijalno [Bolli i sar. 1999].

Prvi dugodelujući analog humanog insulina, insulin glargin, je proizveden tako što je učinjena zamena glicina asparaginom na poziciji A21 molekula insulina i dodavanjem dva molekula arginina na poziciji B30. Ove promene dovele su do pomeranja izoelektrične tačke prema neutralnom pH, što rezultuje da je molekul insulina teže rastvorljiv na mestu injekcije i da precipitira u subkutanom tkivu formirajući depo iz koga se insulin sporo oslobađa [Bolli i sar. 1999; Elrishi i sar. 2008].

Insulin detemir se karakteriše acilacijom miristinskom kiselinom rezidue lizina na poziciji B29 i delecijom treonina na poslednjoj poziciji u B lancu (B30). Njegovo protrahovano delovanje je obezbeđeno kroz odloženu reapsorpciju sa mesta injekcije zbog pojačanog samo-udruživanja molekula i zbog reverzibilnog vezivanja za albumine, kao i kroz činjenicu da vezivanje za albumine dovodi do održavanja i stabilizacije koncentracije insulina u cirkulaciji. Ovo vodi u produženi i zaravnjeni farmakodinamski profil ovog insulina [Morales 2007].

U poređenju sa NPH insulinom, insulin glargin se prolongirano apsorbuje sa mesta injekcije i pokazuje malu vršnu (peak) aktivnost, što pokazuje krivulje nestajanja. Takođe stope apsorpcije insulina glargina sa različitih mesta injekcije se ne razlikuju [Owens i sar. 2000]. Nema ni dokaza da se insulin glargin akumulira nakon multiplih injekcija [Heise i sar. 2002]. Podaci o farmakodinamici su konzistentni sa ovim nalazima obzirom da metabolička aktivnost insulina glargin može da traje i do 30 sati kod zdravih dobrovoljaca. U poređenju sa njim NPH insulin postiže vrh (peak) između 4 i 8 sati i potom opada rapidno sa trajanjem dejstva od 12 do 14 sati [Heinemann i sar. 2000]. U drugoj farmakodinamskoj studiji pokazano je da insulin glargin nema pik dejstva i da ima srednje trajanje dejstva (\pm SE) od 22 ± 4 sata. Varijacije među subjektima i stope infuzije glukoze potrebne da se održi

euglikemija posle injekcije su takođe manje sa insulinom glargin u odnosu i na NPH insulin i na dugodelujući Zn insulin (ultralente) [Lepore i sar. 2000].

Većina studija sa insulinom glargin je poredila ovaj insulin sa NPH insulinom. Obzirom da je insulin glargin u bistrom rastvoru, a NPH insulin je suspenzija, studije su uvek bile otvorenog tipa (nemoguće je sprovesti duplo slepu studiju). Uopšteno, podaci iz studija nisu pokazali veće razlike ili su pojedinačno beležena poboljšanja glikoregulacije sa insulinom glargin, ali je uglavnom zabeležena redukcija rizika od hipoglikemija, naročito od noćnih hipoglikemija. U studiji u kojoj je insulin glargin primenjivan pre večere i pre spavanja u poređenju sa NPH insulinom, zabeležen je pad glikozilisanog hemoglobina, sem u grupi u kojoj je bazalna insulinizacija obezbeđivana sa 4 injekcije NPH insulina. U poređenju sa subjektima koji su primali NPH insulin, oni koji su primali insulin glargin imali su manje hipoglikemija u večernjim satima uprkos postignutog jednako dobrog nivoa glikoregulacije [Rossetti i sar. 2003].

U meta analizi koja je obuhvatila studije sa insulinom glargin u T1DM objavljene do 15. februara 2010. godine analizirano je ukupno 26 studija, što predstavlja više od 10 godina kliničkog iskustva od odobrenja za upotrebu insulina glargin. Podaci pokazuju da insulin glargin obezbeđuje konzistentnu insulinizaciju koja traje do 24 sata, što dozvoljava jednodnevno doziranje. Insulin glargin omogućuje glikoregulaciju koja je u najmanjem uporediva sa onom koja se postiže sa NPH insulinom, i u odraslih i u adolescenata i u dece. Ipak, insulin glargin je generalno udružen sa značajno manjim rizikom od hipoglikemija u poređenju sa NPH insulinom u odraslih. Ova činjenica predstavlja važnu kliničku razliku, obzirom da je hipoglikemija jedan od osnovnih limitirajućih faktora za postizanje dobre glikemijske kontrole u kliničkoj praksi. Postoje i dokazi da kao deo režima IIT, kombinacija insulina glargin kao bazalnog insulina sa brzodelujućim insulinskim analogima prandijalno obezbeđuje benefit u odnosu na režim IIT sa humanim insulinima [Garg i sar. 2010].

HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA

RADNA HIPOTEZA

Polazeći od činjenice da analozi humanog insulina svojim farmakokinetičkim poboljšanjima pružaju mogućnost da se u IIT postigne još veće približavanje fiziološkom profilu lučenja insulina postavljene su hipoteze istraživanja:

H1: Terapija insulinskim analogima će dovesti do poboljšanja prosečne glikoregulacije (mereno HbA1c), kao i postprandijalne glikoregulacije (mereno postprandijalnom glikemijom).

H2: Terapija insulinskim analogima biće praćena manjim brojem hipoglikemija, manjim porastom telesne težine i boljim zadovoljstvom terapijom kod pacijenata.

H3: Terapija insulinskim analogima, poboljšanjem pre svega postprandijalne glikoregulacije, dovest će do poboljšanja parametara oksidativnog stresa.

CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja bio je:

Ispitivanje efikasnosti IIT analogima humanog insulina kroz analizu parametara glikoregulacije i to kroz:

- analizu nivoa HbA1c;
- analizu nivoa glikemija našte;
- analizu nivoa postprandijalnih glikemija;
- analizu nivoa srednje vrednosti glikemija;

- analizu varijabilnost glikemije.

Ispitivanje bezbednosti IIT analozima humanog insulina i to kroz:

- analizu broja i težine hipoglikemijskih reakcija;
- analizu promene telesne težine;
- analizu zadovoljstva terapijom obolelih.

Ispitivanje nivoa parametara oksidativnog stresa i to kroz:

- analizu i određivanje markera oksidativnog stresa i
- analizu i određivanje markera antioksidativne zaštite.

Da se utvrdi korelacija parametara glikoregulacije sa parametrima oksidativnog stresa, pre i nakon uvođenja terapije insulinskim analozima.

ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA

U ovom kliničkom istraživanju korišćena je komparacija podataka dobijenih prospektivnom analizom anamnestičkih, kliničkih i biohemijskih parametara kod obolelih od T1DM.

ISPITANICI

Istraživanjem su obuhvaćeni oboleli od T1DM sa Klinike za endokrinologiju dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Niš. Izvršena je analiza podataka kod četrdesetdevet pacijenata sa jasnom dijagnozom T1DM i najmanje godinu dana trajanja bolesti i terapije insulinom i koji su bili aktuelno na IIT humanim insulinima.

PROTOKOL ISTRAŽIVANJA

Četrdesetdevet pacijenata sa jasnom dijagnozom T1DM i najmanje godinu dana trajanja terapije insulinom i koji su bili aktuelno na IIT humanim insulinima su najpre sagledani na postojećoj terapiji u mesečnom periodu, sa ciljem da se korekcijom terapije, pokuša da se postigne ciljna glikoregulacija. U tom periodu pacijenti su imali nedeljne kontrole. Uz redovne, praktično svakodnevne samokontrole glikemije, pacijenti su radili profile glikemije redovno jednom nedeljno i to samokontrolom glikemije, neposredno pre i dva sata nakon glavnih obroka (ukupno šest merenja) uz merenje pred spavanje i noću (u 03:00h). Bolesnici su reedukovani o higijensko-dijetetskom režimu, o značaju samokontrola glikemije i o načinu korekcije doze bolusa, o hipoglikemijama i načinu njihovog evidentiranja, a imali su mogućnost 24-časovnog telefonskog kontakta, 7 dana u nedelji sa

lekarom, odnosno sa medicinskom sestrom edukatorom, članovima tima koji su ih pratili. U poslednjoj nedelji tog perioda pacijenti su radili dva celodnevna profila glikemije.

Nakon toga je bolesnicima uveden brzodelujući analog humanog insulina, insulin aspart, umesto humanog solubilnog insulina. Na dan uvođenja u terapiju brzodelujućeg analoga humanog insulina bolesnici su detaljno obrađeni anamnestički, klinički i biohemijski (vizita 1 – V1). U narednom periodu od tri meseca nastavljene su redovne kontrole koje su podrazumevale korekciju terapije insulinom prema rezultatima samokontrola glikemije i kontrole na klinici jednom mesečno. I u poslednjoj nedelji ovog perioda pacijenti su radili dva celodnevna profila glikemije.

Potom je bolesnicima uveden dugodelujući insulinski analog, insulin glargin, umesto srednjedugodelujućeg humanog insulina. Na dan uvođenja u terapiju dugodelujućeg analoga humanog insulina bolesnici su detaljno obrađeni anamnestički, klinički i biohemijski (vizita 2 – V2). U narednom periodu od tri meseca nastavljene su redovne kontrole koje su podrazumevale korekciju terapije insulinom prema rezultatima samokontrola glikemije i kontrole na klinici jednom mesečno. I u poslednjoj nedelji ovog perioda pacijenti su radili dva celodnevna profila glikemije. Na kraju ovog perioda bolesnici su detaljno obrađeni anamnestički, klinički i biohemijski (vizita 3 – V3).

Doza insulina je korigovana (i bazal i bolusi) sa ciljem da se postignu glikemije našte od 4 do 6 mmol/L i preprandijalno od 5 do 7 mmol/L, odnosno postprandijalno od 5 do 10 mmol/L, pred spavanje od 6 do 8 mmol/L i noću od 5 do 8 mmol/L. Doza bazalnog insulina je korigovana (i NPH insulina i insulina glargin) prema vrednosti glikemije našte i to, ukoliko je postignuta željena glikemija od 4 do 6 mmol/L doza nije menjana, ukoliko je glikemija od 6 do 10 mmol/L doza je povećavana za 2 jedinice, ukoliko je glikemija od 10 do 15 mmol/L doza je povećavana za 4 jedinice i ukoliko je glikemija veća od 15 mmol/L doza je povećavana za 6 jedinica. Ukoliko je glikemija od 3 do 4 mmol/L doza je smanjivana za 2 jedinice, a ukoliko je glikemija manja od 3 mmol/L doza je smanjivana za 4 jedinice. Doze prandijalnih bolusa (i humanog insulina i insulina aspart) korigovane su zavisno od glikemija, a prema stepenu edukacije pacijenata i prema veličini obroka i stepenu fizičke aktivnosti, sa ciljem da se postigne glikemija postprandijalno od 5 do 10 mmol/L.

Detaljna anamnestička i klinička obrada na svakoj kontroli podrazumevala je:

Anamnestičke podatke o trajanju dijabetesa, ranijoj terapiji, komplikacijama, tegobama, beležen je broj i stepen težine hipoglikemija u periodu pre kontrole;

Rezultate antropometrijskih merenja (telesna težina i telesna visina iz kojih se izračunava indeks telesne mase odn. indeks mase tela (IMT odn. engl. body mass index-BMI). Telesna težina je merena u stojećem položaju, decimalnom vagom, pacijentima sa lakom odećom i bez obuće i zaokruživana na najbližih 100g. Telesna visina je merena u stojećem položaju sa normalnim položajem ramena, standardnim visinomerom, pacijentima bez obuće. Indeks mase tela određivan je kao količnik telesne težine u kilogramima i kvadrata telesne visine u metrima (kg/m^2).

Hipoglikemije su klasifikovane na lake (blage) i ozbiljne (teške), simptomatske i asimptomatske, noćne hipoglikemije.

Hipoglikemije su beležene i prikupljane iz dnevnika pacijenata. Blage hipoglikemije su definisane kao simptomi koji ukazuju na hipoglikemiju i koji se povlače nakon uzimanja obroka, uz izmerene vrednosti glikemije manje od 3,9 mmol/L, i koje su pacijenti mogli sami da reše, bez pomoći drugih osoba. Asimptomatske hipoglikemije su sve izmerene vrednosti glikemije manje od 3,9 mmol/L tokom redovnih samokontrola, koje nisu praćene karakterističnim simptomima. Teške hipoglikemije su definisane kao hipoglikemije kod kojih je pacijent imao simptome hipoglikemije koji su zahtevali pomoć druge osobe (bilo ukućana ili medicinskog osoblja) i oporavak nakon primene oralne ili IV glukoze ili glukagona. Noćne hipoglikemije su definisane kao sve hipoglikemije između vremena za spavanje i jutro (od oko 23:00 do 07:00).

Biohemijska obrada je podrazumevala kod svih bolesnika merenja na početku studije (pre uvođenja terapije brzodelujućim insulinskim analogom), nakon tri meseca i nakon šest meseci (vizite 1, 2 i 3).

Uzorci krvi su uzimani ujutru, nakon dvanaestočasovnog prekonoćnog gladovanja, iz antekubitalne vene pacijenata u sedećem položaju. Centrifugiranje krvi je vršeno 30 do 45 minuta nakon uzimanja, rutinske biohemijske analize su rađene u Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Niš na dan uzimanja krvi.

U serumu bolesnika određivani su standardni biohemijski parametri:

- sedimentacija eritrocita, kompletna krvna slika (nivo hemoglobina i broj eritrocita, leukocita i trombocita). Na hematološkom analizatoru AL 816 (Graz, Austria) određivani su hematološki parametri, dok je sedimentacija rađena u vakuumskim epruvetama firme Terumo (Leuven, Belgium) po modifikovanoj metodi Westergreen-a;

- urea, kreatinin, urati, ukupni proteini, albumini, ukupni holesterol, HDL holesterol, LDL holesterol, trigliceridi. Od standardnih enzima određivani su enzimi intraćelijskog metabolizma: aminotransferaze (AST i ALT), laktat dehidrogenaza (LDH), kreatin kinaza (CK), kao i membranski enzimi: alkalna fosfataza (ALP), gama glutamil transpeptidaza (GGT). Sva navedena ispitivanja biohemijskih parametara obavljena su u serumu standardnim procedurama (preporučene metode od strane IFCC-a) u Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Niš, na biohemijskom analizatoru Synchron CX-5, Beckman, Brea, USA.
- određivanje medijatora zapaljenja: C-reaktivni protein (CRP) imunoturbidimetrijskom metodom na višekanalnom analizatoru OLYMPUS AU 400; izraženog u mg/L (referentni opseg 0,0-5,0 mg/L) i fibrinogen - imunoturbidimetrijskom metodom uz korišćenje zasićenog rastvora Parfontier, na aparatu BECKMAN DU 650; izraženog u g/L (referentni opseg 2,0-4,0 g/L).

Procena glikoregulacije je vršena analizom nivoa HbA1c i analizom profila glikemija u 8 tačaka (glikemije pre glavnih obroka i dva sata nakon glavnih obroka, pre spavanja i noću u 03:00). HbA1c je određivan imunochemijskom metodom reagensima firme Olympus na automatskom analizatoru Olympus AU 680. Profile glikemije su pacijenti radili redovno i to samokontrolom glikemije aparatima za brzo određivanje glukoze u krvi. Posebno su analizirane preprandijalne glikemije, postprandijalne glikemije, noćna vrednost glikemije (u 03:00), srednja vrednost dnevne glikemije i varijabilnost dnevne glikemije.

Parametri oksidantnog stresa i ispitivanje antioksidantnih enzima određivani su, sem u grupi ispitanika sa T1DM, i u grupi dobrovoljnih davalaca krvi, koji su činili kontrolnu grupu. Ovu grupu je činilo četrdesetdvoje dobrovoljnih davalaca krvi približne starosne i polne strukture ispitivanoj grupi.

Parametri oksidantnog stresa

Određivanje koncentracije malondialdehida (MDA)

Koncentracija MDA u plazmi određivana je spektrofotometrijskom metodom po Andreevoj i sar. [1988], koja se bazira na reakciji MDA sa tiobarbiturnom kiselinom, na visokoj temperaturi i kiseloj sredini, pri čemu nastaje hromogen (MDA-TBA), a intenzitet

boje čita na 532 nm. Koncentracija MDA je izračunavana korišćenjem molarnog ekstinkcionog koeficijenta ($1,54 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) i izražavana u $\mu\text{mol/L}$.

Određivanje koncentracije nitrata i nitrita

Oksidacijom endogeno stvorenog azot monoksida u organizmu nastaju nitrati i nitriti, tako da se njihova koncentracija u telesnim tečnostima i tkivima smatra indikatorom produkcije NO. U plazmi pacijenata i zdravih ispitanika određivana je koncentracija nitrata i nitrita, stabilnih degradacionih produkata NO, metodom po Navarro-Gonzálvezu i sar. [1998], koja se bazira na Griess-ovoj reakciji. Koncentracija nitrata i nitrita je izražavana u $\mu\text{mol/L}$.

Ksantin oksidaza

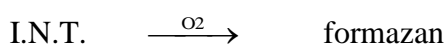
Aktivnost ksantin oksidaze (XO) (EC 1.1.3.22) određivana je spektrofotometrijskom modifikovanom metodom Kalckara, gde se kao supstrat koristi hipoksantin a konačni produkt, mokraćna kiselina, određuje iz porasta apsorbance na 293 nm [Kizaki i Sakurada 1977].

Ispitivanje antioksidantnih enzima

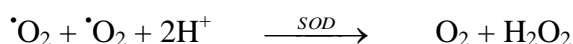
Superoksid dizmutaza

Superoksid dizmutaza (SOD) (EC 1.15.1.1) je određivana u eritrocitima kolorimetrijskim testom „Ransod“ firme Randox (Crumlin, Co. Antrium, UK). Eritrociti se pripremaju iz prethodno uzete krvi sa heparinom (vakuumska epruveta, Terumo, Leuven, Belgium). Nakon centrifugiranja i odvajanja plazme, uobličeni elementi se ispiraju više puta sa NaCl (8,9 g/L) sve dok supernatant ne postane sasvim bistar (3-4 puta). Po završenom ispiranju, suspenziji eritrocita dodavana je hladna voda (na 1 deo eritrocita 3 dela vode) i vršena je hemoliza eritrocita, nakon čega je hemolizat smrzan i čuvan na -20°C .

Superoksid anion radikal, generisan ksantin/ksantin oksidaza sistemom, reaguje sa akceptorom elektrona 2-(p-indofenil)-3-(p-nitrofenol)-5-fenil tetrazolium hloridom (I.N.T.) formirajući crvenu formazan boju.



ili

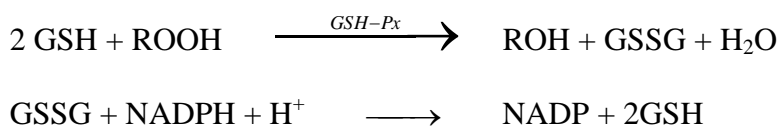


Aktivnost SOD-a je određivana stepenom inhibicije ove reakcije i preračunavana preko standardne krive pri čemu su vrednosti izražavane na gram prethodno određenog hemoglobina (U/gHb). Metoda je aplikovana na analizatoru Beckman-Coulter AU 680 [McCord i Fridovich 1969].

Glutation peroksidaza

Glutation peroksidaza (GPx) (EC 1.11.1.9) je određivana u eritrocitima UV metodom, „Ransel“ reagensom firme Randox na analizatoru Beckman-Coulter AU 680. Način pripreme uzorka je isti kao i za određivanje SOD. Za razblaženje uzorka koristi se Drapkinov reagens da bi se cijanidom izvršila inhibicija drugih peroksidaza. Pre dodavanja Drapkinovog reagensa uzorak se tretira komercijalnim diluentom da bi se GPx prevela u redukovani oblik.

Princip reakcije je zasnovan na metodi koju su dali Paglia i Valentine [1967].



Glutation peroksidaza katalizuje oksidaciju glutationa sa kumen hidroperoksidom. U prisustvu glutation reduktaze i NADPH, oksidisani glutation se prevodi u redukovanu formu sa istovremenom oksidacijom NADPH u NADP, što se odražava padom apsorbancije na 340 nm. Aktivnost je izražavana kao U/gHb [Prohaska i sar. 1977].

Katalaza u eritrocitima

Katalaza (CAT) (EC 1.11.1.6) u eritrocitima je određivana Beutler-ovom kinetičkom metodom, baziranom na razgradnji vodonik-peroksida čiji se pad pri razgradnji prati padom absorbance na 230 nm. Uzorak je prethodno pripremljen nakon ispiranja eritrocita, s tim što je stotruko razblažen. Aktivnost je izražavana kao U/gHb x 10⁴. Određivanje je vršeno na spektrofotometru DU-650, Beckman [Beutler i sar. 1977].

Bolesnici su pre i nakon terapije (na sve tri vizite) ispitani standardnim upitnicima za procenu zadovoljstva terapijom – sprovedi smo testiranje standardnim upitnikom za procenu zadovoljstva terapijom (The World Health Organization Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire – WHO DTSQ) [Bradley i Speight 2002].

MESTO ISPITIVANJA

Ispitivanje je obavljeno na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Niš, biohemijska ispitivanja u Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Niš, a analize MDA i nitrata i nitrita u plazmi na Institutu za biohemiju Medicinskog fakulteta Niš.

STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Unos, tabelarno i grafičko prikazivanje podataka obavljeno je korišćenjem MS Office Excel programa, a statistički proračuni su vršeni programom SPSS, verzija 15.0. Rezultati statističke analize prikazani su tabelarno i grafički.

Atributivni parametri su predstavljeni učestalostima i procentima, a kontinualni (merljivi) parametri su predstavljeni srednjim vrednostima (X) i standardnim devijacijama (SD) i medijanom (Md). Koeficijent varijacije je određivan kao mera homogenosti ispitivanih uzoraka ispitanika u odnosu na ispitivanje parametre. Pod homogenim uzorkom podrazumeva se onaj kod koga je CV maksimalno 30.

Normalnost raspodele parametara utvrđivana je Shapiro-Wilk testom.

Studentovim t-testom nezavisnih uzoraka (pri normalnim raspodelama) i Man Vitnijevim U testom (Mann-Whitney U test) (pri raspodelama parametara koje odstupaju od normalne) testirane su statističke značajnosti razlike vrednosti kontinualnih parametara između dveju grupa.

Studentovim t-testom zavisnih (uparenih) uzoraka (pri normalnim raspodelama) i Vilkoksonovim testom ranga (Wilcoxon Signed Ranks Test) (pri raspodelama koje odstupaju od normalne) testirane su statističke značajnosti razlike vrednosti kontinualnih parametara na početku i kraju istraživanja.

Za utvrđivanje izolovanog, kao i simultanog efekta nezavisnih – prediktorskih varijabli na vrednosti zavisnih varijabli sprovedene su univarijantna i multivarijantna linearna regresiona analiza.

Korišćenjem Spearman-ovog koeficijenta korelacije – ρ ili Pearson-ovog – r , u zavisnosti od ispunjenosti preduslova, utvrđivane su veze između ispitivanih parametara, kao

i nivoi značajnosti tih korelativnih odnosa. Pri utvrđivanju jačine korelacija koristi se definicija za vrednosti koeficijenta korelacije po Cohen-u [1988]:

- korelacija malog nivoa 0,10 – 0,29,
- korelacija srednjeg nivoa 0,30 – 0,49,
- korelacija visokog nivoa 0,50 – 1,00.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

DEMOGRAFSKI PODACI

Prospektivnim istraživanjem je obuhvaćeno 49 ispitanika sa T1DM, od kojih je 27 (55,10%) muškog pola. Demografske i kliničke karakteristike ispitivane grupe prikazane su u Tabeli 1.

Tabela 1. Starost, DM staž i telesna visina ispitanika

	X ±	SD	Md
Starost (god.)	29,94 ±	4,98	29
DM staž (god.)	13,94 ±	7,70	13
TV (cm)	172,51 ±	7,21	171

Prosečna starost ispitanika je 29,94±4,98 godina, uz medijanu kao meru centralne tendencije od 29 godina. Prosečno trajanje T1DM kod ispitanika (dijabetesni staž) je 13,94±7,70 godina, uz medijanu od 13 godina. Prosečna telesna visina ispitanika je 172,51±7,21 cm, uz medijanu od 171 cm.

RUTINSKE BIOHEMIJSKE ANALIZE SERUMA

Nivoi parametara rutinskih biohemijskih analiza seruma pre i nakon terapije insulinskim analogima prikazane su u Tabeli 2.

Tabela 2. Vrednosti rutinskih biohemijskih parametara seruma pre i nakon terapije

	V1			V2			V3		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
Urea (mmol/L)	5,40 ±	1,21	5,30	5,45 ±	1,06	5,20	5,44 ±	0,87	5,50
Kreat (µmol/L)	81,08 ±	17,52	78,80	76,81 ±	15,03	75,10	78,19 ±	12,85	76,00
Urati (µmol/L)	202,59 ±	53,74	198,60	209,10 ±	56,90	213,80	197,68 ±	52,34	210,60
TP (g/L)	70,39 ±	3,33	70,00	70,65 ±	3,22	71,00	70,61 ±	3,38	71,00
Alb (g/L)	42,96 ±	2,82	42,50	43,01 ±	3,31	41,60	42,68 ±	2,75	41,60
Hol (mmol/L)	5,37 ±	0,88	5,29	5,52 ±	0,92	5,40	5,24 ±	0,94	5,29
HDL (mmol/L)	1,30 ±	0,39	1,24	1,40 ±	0,47	1,35	1,28 ±	0,35	1,26
LDL (mmol/L)	3,43 ±	0,70	3,41	3,44 ±	0,68	3,46	3,35 ±	0,76	3,33
Trig (mmol/L)	1,39 ±	0,66	1,29	1,45 ±	0,52	1,47	1,36 ±	0,49	1,41

Vrednosti rutinskih biohemijskih parametara seruma nisu se statistički značajno razlikovale na početku terapije i nakon terapije insulinskim analogima u periodu ispitivanja.

Nivoi parametara biohemijskih analiza enzima seruma pre i nakon terapije insulinskim analogima prikazane su u Tabeli 3.

Tabela 3. Vrednosti ispitivanih enzima pre i nakon terapije

	V1			V2			V3		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
AST (U/L)	21,50 ±	4,86 ^{c**}	21,00	20,79 ±	7,63	20,00	19,63 ±	8,02	18,60
ALT (U/L)	21,59 ±	9,85	20,20	21,86 ±	9,09	21,80	20,72 ±	7,47	20,60
CPK (U/L)	121,11 ±	40,85	115,00	130,22 ±	49,47	121,00	127,82 ±	64,28	114,00
LDH (U/L)	300,24 ±	48,97	292,20	308,34 ±	61,79	315,40	323,69 ±	59,47 ^{a*}	324,60
ALP (U/L)	171,78 ±	40,16	175,00	184,10 ±	45,50	185,00	175,43 ±	45,58	175,00
GGT (U/L)	14,42 ±	6,42	13,30	15,09 ±	7,10	13,40	15,71 ±	6,07	14,30

a – vs 1, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01

Od standardnih enzima određivani su enzimi intraćelijskog metabolizma: aminotransferaze (AST i ALT), laktat dehidrogenaza (LDH), kreatin kinaza (CK), kao i membranski enzimi: alkalna fosfataza (ALP), gama glutamil transpeptidaza (GGT). Rezultati određivanja aktivnosti enzima intraćelijskog metabolizma uglavnom ne pokazuju statistički značajne razlike u odnosu na vrednosti pre terapije insulinskim analogima, što znači da je održana osnovna homeostaza ćelija. Jedino je vrednost AST nakon šest meseci primenjene terapije statistički značajno manja no na početku – p<0,01 (Wilcoxon test), dok je vrednost LDH statistički značajno veća nakon šest meseci primenjene terapije no na početku – p<0,05 (Studentov t-test zavisnih uzoraka), ali su sve ove razlike male i u okviru raspona normalnih referentnih vrednosti za ispitivane parametre.

Takođe, ni membranski enzimi ne pokazuju razlike u aktivnosti, što upućuje na zaključak da na membranama ne dolazi do oštećenja koja bi bila detektibilna određivanjem ovih enzima.

MEDIJATORI ZAPALJENJA I KOMPLETNA KRVNA SLIKA (KKS)

Nivoi zapaljenskih parametara seruma i KKS pre i nakon terapije insulinskim analogima prikazane su u Tabeli 4.

Tabela 4. Vrednosti zapaljenskih parametara i KKS pre i nakon terapije insulinskim analogima

	V1			V2			V3		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
CRP (mg/L)	3,43 ±	2,03	^{bc***} 3,20	2,25 ±	1,39	2,10	2,07 ±	1,62	1,40
Fibr (g/L)	3,33 ±	0,87	^{c**} 3,20	3,60 ±	1,04	3,50	3,87 ±	1,18	3,80
SE (arb. j.)	14,69 ±	13,04	12,00	13,47 ±	11,77	10,00	16,29 ±	14,55	14,00
Le (G/L)	7,42 ±	1,81	7,30	6,98 ±	1,84	7,00	6,89 ±	1,93	6,70
Er (T/L)	4,82 ±	0,42	4,84	4,84 ±	0,48	4,88	4,82 ±	0,45	4,85
Hb (g/L)	152,06 ±	11,20	152,00	150,63 ±	12,87	151,00	150,49 ±	12,03	148,00
Tr (G/L)	256,84 ±	60,43	257,00	246,86 ±	65,66	242,00	264,00 ±	60,81	256,00

b – vs 2, c – vs 3

** – p<0,01, *** – p<0,001

Nema statistički značajne razlike između vrednosti SE pre i nakon terapije insulinskim analogima u periodu ispitivanja. Postoji statistički značajan pad nivoa CRP, odnosno nivo CRP na početku terapije je statistički značajno veći no nakon trećeg, odnosno šestog meseca terapije na nivou maksimalne statističke značajnosti od p<0,001, dok je nivo fibrinogena statistički značajno veći nakon šestog meseca terapije u odnosu na početak terapije – p<0,01 (Wilcoxon test).

Vrednosti svih ispitivanih parametara KKS nisu se statistički značajno razlikovale u periodu ispitivanja.

PARAMETRI GLIKOREGULACIJE

Rezultati praćenja parametara glikoregulacije, nivo HbA1c i nivoi glikemija u dnevnim profilima, srednja vrednost dnevne glikemije, i varijabilnost dnevne glikemije sagledana kroz nivo standardne devijacije i koeficijenta varijacije glikemije u dnevnim profilima, prikazani su u Tabeli 5.

Tabela 5. Vrednosti glikemije (mmol/L) u dnevnim profilima i HbA1c (%) pre i nakon terapije insulinskim analozima

	V1			V2			V3		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
Pre D	8,14 ±	2,91 ^{c***}	7,90	8,68 ±	3,07 ^{c***}	8,30	6,19 ±	1,84	5,60
Posle D	10,42 ±	2,78 ^{b**c***}	10,60	9,01 ±	2,25 ^{c***}	8,90	7,41 ±	1,73	7,30
Pre R	8,32 ±	2,43 ^{c**}	8,70	7,75 ±	2,51 ^{c*}	7,80	6,77 ±	1,98	6,60
Posle R	10,84 ±	4,45 ^{b**c***}	10,40	8,64 ±	2,95 ^{c**}	8,60	6,96 ±	1,92	6,70
Pre V	8,09 ±	2,91 ^{c***}	7,80	7,89 ±	2,40 ^{c***}	7,60	6,33 ±	1,58	6,30
Posle V	9,80 ±	3,36 ^{b*c***}	9,10	8,27 ±	2,99	7,40	7,22 ±	2,38	6,90
Pre spav	9,03 ±	2,33 ^{c***}	8,50	8,34 ±	2,53 ^{c**}	8,10	7,01 ±	1,87	6,70
Noću	8,23 ±	2,40 ^{c*}	8,40	7,88 ±	2,50	7,50	7,16 ±	1,95	6,50
MBG	9,11 ±	2,24 ^{b*c***}	9,23	8,31 ±	1,86 ^{c***}	8,30	6,88 ±	1,27	6,61
SD	2,28 ±	0,78 ^{b*c***}	2,30	1,90 ±	0,84 ^{c**}	1,85	1,49 ±	0,52	1,50
CV	25,30 ±	7,73 ^{c*}	23,48	23,17 ±	9,68	21,22	21,74 ±	6,50	20,78
HbA1c	9,28 ±	1,50 ^{c***}	9,20	8,83 ±	1,61 ^{c**}	8,50	8,08 ±	1,46	7,80

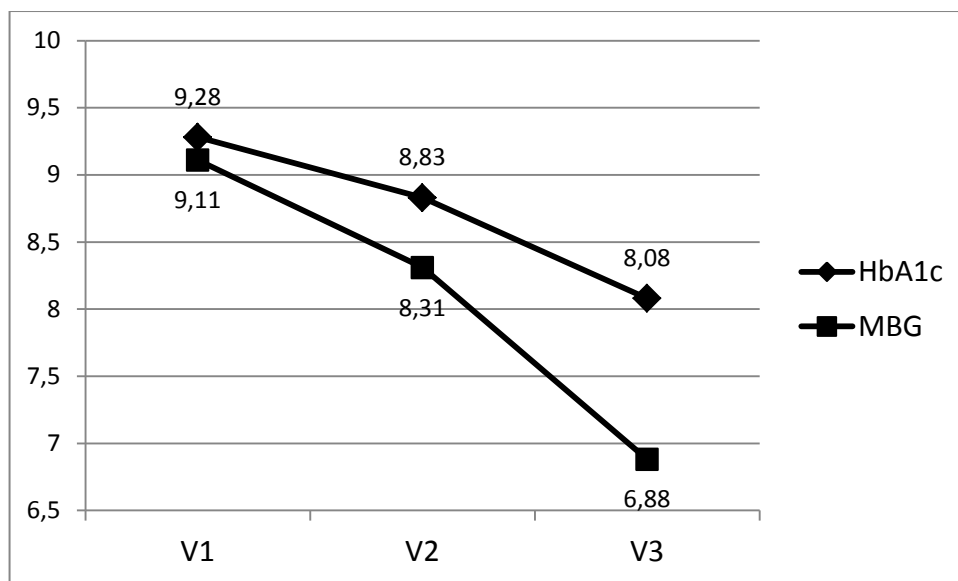
a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Nivo HbA1c pokazuje pad nakon trećeg meseca terapije, ali on nije statistički značajan. Nivo HbA1c je u odnosu na početak terapije značajno niži nakon šestog meseca terapije (p<0,001), a nivo HbA1c niži je i nakon šestog meseca terapije u odnosu na vrednost nakon trećeg meseca terapije (p<0,01) – Wilcoxon test.

Srednja vrednost glikemije u profilu je statistički značajno veća na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije (p<0,05 - Studentov t-test zavisnih uzoraka), a i nakon šestog meseca terapije (p<0,001 - Wilcoxon test). Vrednost je veća nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije i to na nivou statističke značajnosti od p<0,001 (Wilcoxon test).

Promene nivoa HbA1c i nivoa srednje vrednost dnevne glikemije u dnevnim profilima prikazane su na Grafikonu 1.



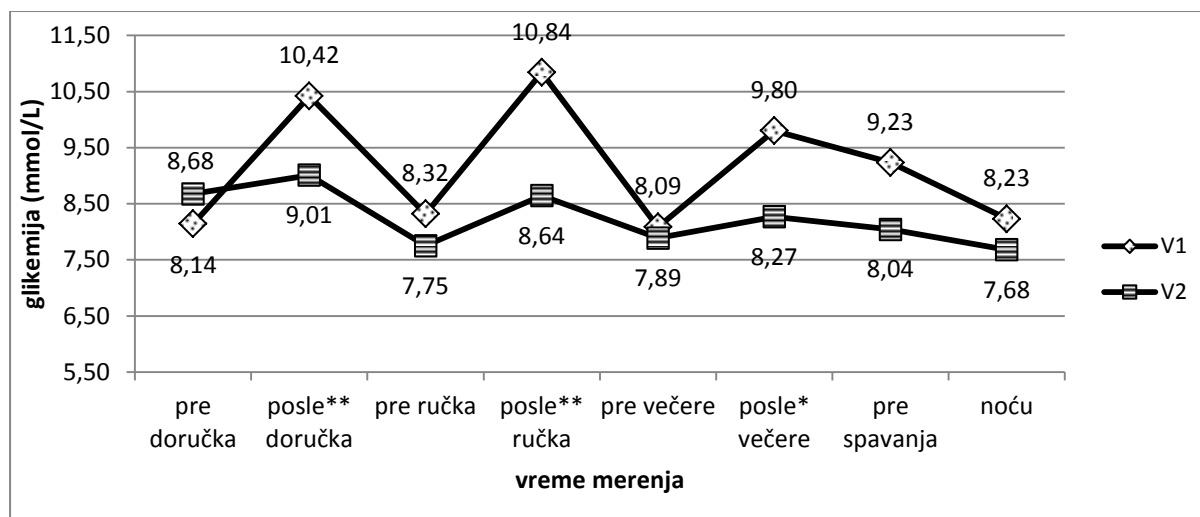
Grafikon 1. Promena nivoa HbA1c u % (V1 vs V2 – $p=ns$; V2 vs V3 – $p<0,01$; V1 vs V3 – $p<0,001$) i srednje vrednosti profila glikemije – MBG u mmol/L (V1 vs V2 – $p<0,05$; V2 vs V3 – $p<0,001$; V1 vs V3 – $p<0,001$) tokom terapije.

Nivo glikemije našte se nije značajno promenio nakon trećeg meseca terapije u odnosu na nivo na početku terapije, ali je statistički značajno niži nakon šestog meseca terapije u odnosu na nivo na početku terapije, ali i na nivo nakon trećeg meseca terapije na maksimalnom nivou statističke značajnosti $p<0,001$ (Wilcoxon test).

Valja zapaziti da je nivo glikemije našte nakon trećeg meseca terapije veći no na početku terapije, ali ne i statistički značajno veći.

Sve ostale vrednosti nivoa glikemije merene u navedenim periodima, kao i srednje vrednosti glikemije u profilu, standardne devijacije glikemije u profilu i koeficijenta varijacije glikemije u profilu, najveće su na početku terapije, nižih su vrednosti nakon trećeg meseca terapije, a najnižih nakon šestog meseca terapije. Odnosi i razlike u nivoima glikemije u profilima prikazane su na Grafikonima 2 i 3.

Nivo glikemije posle doručka statistički je značajno veći na početku terapije u odnosu na vrednosti nakon trećeg meseca terapije ($p<0,01$), kao i nakon šestog meseca terapije ($p<0,001$) (Wilcoxon test). Nivo glikemije posle doručka veći je i nakon trećeg meseca terapije u odnosu na nivo nakon šestog meseca terapije, na maksimalnom nivou statističke značajnosti ($p<0,001$) terapije (Studentov t-test zavisnih uzoraka).



Grafikon 2. Odnos profila glikemije na početku terapije (V1) i profila glikemije nakon terapije insulinom aspart tj. nakon prva tri meseca (V2). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

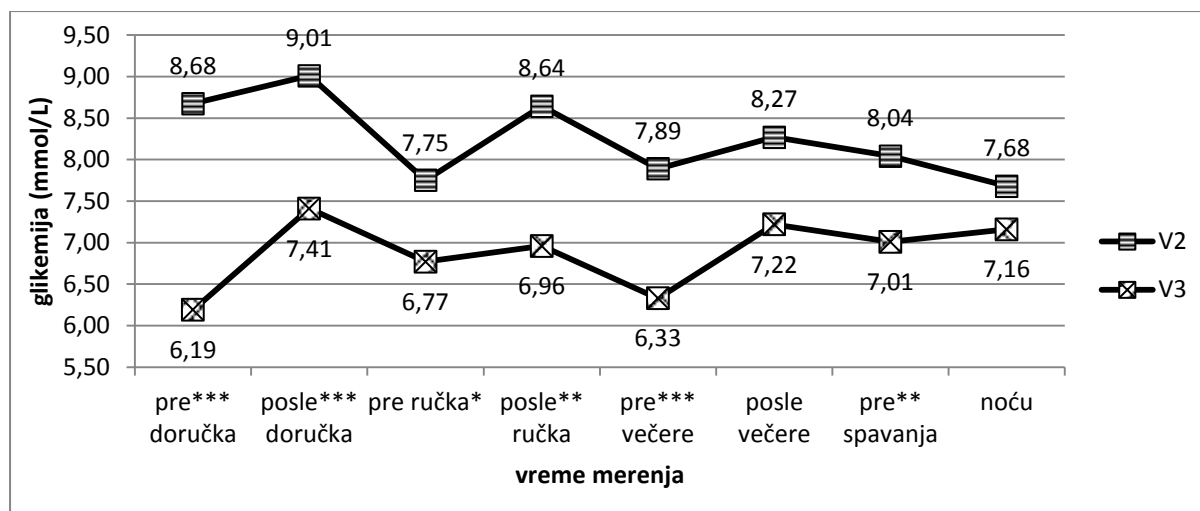
U odnosu na nivo glikemije pre ručka nakon šestog meseca terapije statistički su značajno veće vrednosti na početku terapije ($p < 0,01$ – Wilcoxon test), kao i nakon trećeg meseca terapije ($p < 0,05$ – Studentov t-test zavisnih uzoraka).

Kako su vrednosti nivoa glikemije posle ručka i pre večere normalne raspodele poređenja su vršena Studentovim t-testom zavisnih uzoraka. Vrednosti oba parametra veće su na početku terapije no nakon šestog meseca terapije ($p < 0,001$). Vrednost nivoa glikemije posle ručka veća je na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije, a veća je i nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije ($p < 0,01$). Vrednost nivoa glikemije pre večere takođe je veća nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije ($p < 0,001$).

Nivo glikemije posle ručka, pre i posle večera i pred spavanje, kao i srednja vrednost glikemije u profilu i standardne devijacije glikemije u profilu na početku terapije veće su no nakon šestog meseca terapije na maksimalnom nivou statističke značajnosti ($p < 0,001$).

Poređenja nivoa glikemije posle večere i nivoa glikemije pred spavanje vršena su Wilcoxonovim testom. Obe vrednosti statistički su značajno više na početku terapije no nakon šestog meseca terapije ($p < 0,001$). Vrednost nivoa glikemije posle večere veća je na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$, a vrednost nivoa glikemije pred spavanje statistički je značajno veća nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije ($p < 0,01$).

Nivo glikemije tokom noći pokazuje blagi pad tokom studije i statistički je značajno niži nakon šestog meseca terapije no na početku terapije ($p < 0,05$ – Wilcoxon test).



Grafikon 3. Odnos profila glikemije nakon terapije insulinom aspart tj. nakon prva tri meseca (V2) i nakon terapije insulinima aspart/glargin tj. nakon šest meseci (V3). * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$

Srednja vrednost glikemije u profilu je statistički značajno veća na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije ($p < 0,05$ - Studentov t-test zavisnih uzoraka), a i nakon šestog meseca terapije ($p < 0,001$ - Wilcoxon test). Vrednost je veća nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije i to na nivou statističke značajnosti od $p < 0,001$ (Wilcoxon test).

Poredeći vrednosti standardne devijacije glikemije u profilu evidentno je da su statistički značajno veće na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije ($p < 0,05$ - Studentov t-test zavisnih uzoraka), ali i nakon šestog meseca terapije ($p < 0,001$ - Wilcoxon test). Vrednosti su veće nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije i to na nivou statističke značajnosti od $p < 0,01$ (Wilcoxon test).

Vrednost koeficijenta varijacije glikemije u profilu veće su na početku terapije no nakon šestog meseca terapije ($p < 0,05$) – Wilcoxon test.

U cilju procene efekta terapije na smanjenje prandijalnog porasta glikemije nakon sva tri obroka pojedinačno i ukupnog prosečnog prandijalnog porasta glikemije tokom dana, određen je srednji prandijalni porast glikemije (glikemija posle obroka – glikemija pre obroka), za sva tri glavna obroka i srednji prandijalni inkrement u toku dana. Rezultati su prikazani u Tabeli 6 i na Grafikonu 4.

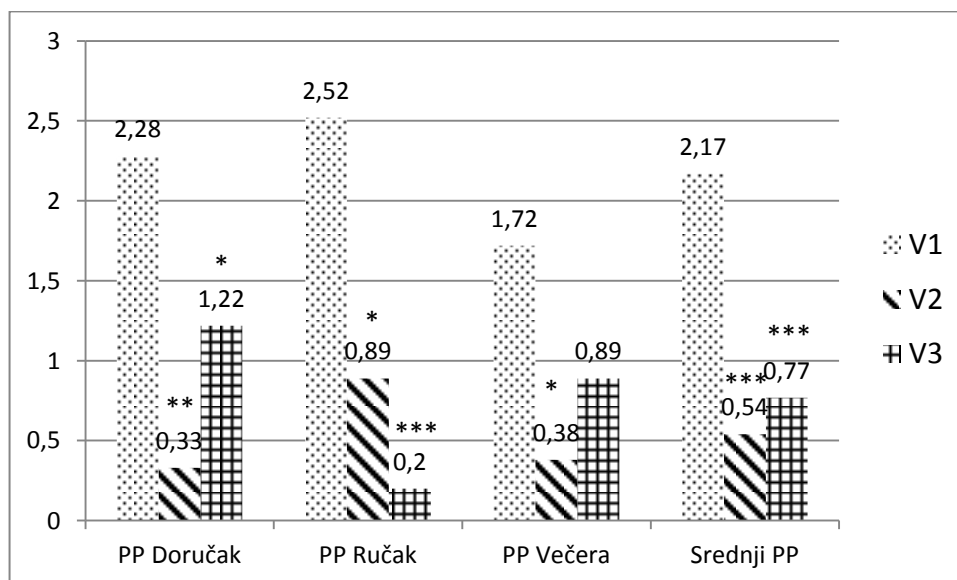
Tabela 6. Vrednosti prandijalnog porasta glikemije (mmol/L) pre, nakon 3 i 6 meseci terapije

	V1			V2			V3			
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	
PP D	2,28 ±	2,36	b [*] c [*]	2,40	0,33 ±	2,86	0,90	1,22 ±	2,07	1,30
PP R	2,52 ±	3,44	b [*] c ^{***}	3,10	0,89 ±	2,52	0,80	0,20 ±	1,94	0,60
PP V	1,72 ±	3,24	b [*]	2,00	0,38 ±	2,42	0,60	0,89 ±	1,79	0,90
Srednji PP	2,17 ±	1,74	bc ^{***}	2,30	0,54 ±	1,67	0,73	0,77 ±	1,19	0,83

a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Vrednosti prandijalnog porasta glikemije najviše su na početku terapije (na terapiji humanim insulinom). Izuzev prandijalnog porasta glikemije za ručak čija je najniža vrednost nakon šest meseci terapije, svi ostali prandijalni porasti glikemije imaju najniže vrednosti nakon trećeg meseca terapije.



Grafikon 4. Promena nivoa prandijalnog porasta glikemije nakon sva tri obroka pojedinačno i ukupnog prosečnog prandijalnog porasta glikemije tokom dana u mmol/L tokom terapije (* – p<0,05 vs V1; ** – p<0,01 vs V1; *** – p<0,001 vs V1).

Vrednost prandijalnog porasta glikemije za večeru veća je na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije, p<0,05 (Studentov t-test zavisnih uzoraka), a na istom nivou statističke značajnosti je i za vrednost prandijalnog porasta glikemije za ručak, dok su veći nivoi statističke značajnosti prisutni kod vrednosti prandijalnog porasta glikemije za doručak (p<0,01) i srednjeg prandijalnog porasta glikemije (p<0,001) – Wilcoxonov test.

Vrednost prandijalnog porasta glikemije za doručak na početku terapije veća je no nakon nakon šest meseci terapije ($p < 0,05$) – Wilcoxonov test, a Studentovim t-testom zavisnih uzoraka utvrđeno je da su vrednosti prandijalnog porasta glikemije za ručak i srednjeg prandijalnog porasta glikemije statistički značajno veće na početku terapije no nakon nakon šest meseci terapije ($p < 0,001$).

ANALIZA DOPRINOSA GLIKEMIJA NIVOU HbA1c

Radi utvrđivanja uticaja izmerenih vrednosti glikemije u utvrđenim periodima tokom dana na nivo HbA1c tokom ispitivanog perioda sprovedena je univarijantna linearna regresiona analiza radi utvrđivanja uticaja pojedinih prediktivnih parametara, a i multivarijantna linearna regresiona analiza sprovedena je nad modelima u koje su uključeni prediktivni parametri koji su bili od značaja u univarijantnoj analizi ili su bili blizu statistički značajnog uticaja.

Tabela 7. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost HbA1c pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre D	-0,57	0,5725	-0,04	-0,19	0,11
Posle D	-0,25	0,8050	-0,02	-0,18	0,14
Pre R	-0,10	0,9207	-0,01	-0,19	0,17
Posle R	1,32	0,1922	0,06	-0,03	0,16
Pre V	1,95	0,0578	0,14	0,00	0,29
Posle V	1,18	0,2447	0,08	-0,05	0,20
Pre spav	1,75	0,0868	0,16	-0,02	0,34
Noću	0,61	0,5471	0,06	-0,13	0,24
MBG	1,01	0,3161	0,10	-0,10	0,29
SD	-0,82	0,4191	-0,23	-0,79	0,33
CV	-1,61	0,1135	-0,04	-0,10	0,01

Pre početka terapije u univarijantnoj analizi nisu utvrđene statistički značajne prediktorske varijable, a vrednost nivoa glikemije pred spavanje i nivoa glikemije pre večere bio je blizu nivoa statistički značajnosti ($p = 0,0578$), (Tabela 7).

Tabela 8. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost HbA1c nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre D	1,78	0,0810	0,13	-0,02	0,28
Posle D	-0,66	0,5155	-0,07	-0,28	0,14
Pre R	0,16	0,8738	0,01	-0,17	0,20
Posle R	0,21	0,8364	0,02	-0,14	0,18
Pre V	0,98	0,3305	0,10	-0,10	0,29
Posle V	0,96	0,3402	0,08	-0,08	0,23
Pre spav	1,84	0,0728	0,17	-0,02	0,35
Noću	0,03	0,9765	0,00	-0,19	0,19
MBG	0,99	0,3268	0,12	-0,13	0,38
SD	2,30	0,0258	0,61	0,08	1,15
CV	1,68	0,0996	0,04	-0,01	0,09

Nakon tromesečne terapije kao jedina statistički bitna varijabla izdvojila se standardna devijacija dnevne glikemije na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$. Nivo glikemije pred spavanje bio je tek nešto iznad nivoa statistički značajne prediktivne varijable ($p = 0,0728$), (Tabela 8).

Tabela 9. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost HbA1c nakon 3 meseca terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre spav	1,32	0,1934	0,12	-0,06	0,30
SD	1,89	0,0650	0,52	-0,03	1,07
konstanta	8,27	0,0000	6,85	5,18	8,52

R square = 0,13, F = 3,56, df = 2, p = **0,0364**

Na osnovu modela u koji su uvršteni vrednost šećera pred spavanje i SD utvrđeno je da on sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$) objašnjava 12% varijabilnosti HbA1c.

U ovom modelu nijedna od prediktorskih varijabli ne daje statistički značajan doprinos, a svako povećanje standardne devijacije dnevne glikemije za jediničnu vrednost povećava vrednost HbA1c za 0,52, a povećanje vrednosti nivoa glikemije pred spavanje povećava Hb1Ac za 0,12 (Tabela 9).

Tabela 10. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost HbA1c nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre D	-0,37	0,7109	-0,04	-0,28	0,19
Posle D	-0,55	0,5874	-0,07	-0,31	0,18
Pre R	-1,98	0,0538	-0,21	-0,41	0,00
Posle R	0,02	0,9811	0,00	-0,22	0,23
Pre V	-0,70	0,4879	-0,09	-0,36	0,18
Posle V	-0,28	0,7785	-0,03	-0,21	0,15
Pre spav	-0,76	0,4514	-0,09	-0,31	0,14
Noću	-0,87	0,3862	-0,09	-0,31	0,12
MBG	-1,02	0,3137	-0,17	-0,50	0,17
SD	-1,73	0,0909	-0,68	-1,48	0,11
CV	-1,71	0,0930	-0,05	-0,12	0,01

Nakon šestomesečne terapije u univarijantnoj analizi nisu utvrđene statistički značajne prediktorske varijable, a nivo glikemije pre ručka bila je varijabla blizu nivoa statistički značajnosti koji bi je definisao kao značajnu prediktorsku ($p=0,0538$), (Tabela 10).

Tabela 11. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost HbA1c nakon 6 meseci terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre R	-2,07	0,0442	-0,21	-0,41	-0,01
CV	-1,82	0,0749	-0,06	-0,12	0,01
konstanta	10,84	0,0000	10,72	8,73	12,71

R square = 0,14, F = 7,12, df = 2, p = **0,0320**

Na osnovu modela u koji su uvršteni vrednost glikemije pre ručka i koeficijent varijacije dnevne glikemije utvrđeno je da on sa statističkom značajnošću ($p<0,05$) objašnjava 14% varijabilnosti HbA1c (Tabela 11).

U ovom modelu kao statistički značajna prediktorska varijabla izdvaja se vrednost nivoa glikemije pre ručka, a njen porast za jediničnu vrednosti dovodi do statistički značajnog smanjenja vrednosti Hb1Ac za 0,28 ($p<0,05$).

HIPOGLIKEMIJE

Tabela 12. Hipoglikemijske epizode po pacijentu po mesecu pre, nakon 3 i 6 meseci terapije

	V1			V2			V3				
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md		
simptomatske	8,59 ±	6,32	b*c***	10	6,10 ±	4,66	c***	6	4,53 ±	3,60	4
asimptomatske	5,96 ±	5,09	c**	6	4,96 ±	4,28	c***	5	2,76 ±	3,25	1
teške	0,08 ±	0,28		0	0,04 ±	0,20		0	0,02 ±	0,14	0
ukupno	14,63 ±	9,77	c***	16	11,10 ±	7,53	c***	12	7,31 ±	5,09	8
noćne	3,98 ±	3,91	c***	4	3,14 ±	2,90	c***	3	1,76 ±	1,75	2

a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Evidentno je da broj hipoglikemijskih epizoda po pacijentu po mesecu opada tokom sprovođenja terapije. Od analize su izuzete epizode ozbiljnih hipoglikemija čiji je broj mali za statističku analizu. Tokom mesec dana na terapiji samo humanim insulinima bile su 4 teške hipoglikemije, tokom prva tri meseca terapije ukupno 6 teških hipoglikemija, odnosno 2 mesečno i tokom poslednja 3 meseca terapije ukupno 3 hipoglikemije, odnosno samo jedna mesečno, tako da i njihov broj evidentno opada tokom studije. Stoga je ukupan broj hipoglikemijskih epizoda po pacijentu po mesecu statistički značajno niži nakon šest meseci terapije u odnosu na broj ovih epizoda nakon prva 3 meseca terapije, kao i u odnosu na period terapije humanim insulinima sa maksimalnim nivoom statističke značajnosti od p<0,001 (Wilcoxon test). Niži nivo statističke značajnosti od p<0,01 utvrđen je kod broja asimptomatskih hipoglikemijskih epizoda po pacijentu po mesecu pri poređenju preterapijskog i drugog tromesečnog perioda terapije (Tabela 12). Istim statističkim testom utvrđen je statistički značajno niži broj simptomatskih hipoglikemijskih epizoda po pacijentu po mesecu u toku prva 3 meseca terapije u poređenju sa periodom terapije humanim insulinima (p<0,05). Broj noćnih hipoglikemija nije se statistički promenio nakon prva tri meseca, ali je nakon šest meseci terapije statistički značajno niži (p<0,001) u odnosu i na period prva tri meseca terapije i u odnosu na period terapije humanim insulinima.

DOZE INSULINA I TELESNA TEŽINA

Razlike u nivou doze insulina i telesne težine, odnosno IMT prikazane su u Tabeli 13.

Tabela 13. Doze insulina (u J), TT (u kg) i IMT (u kg/m²) pre i nakon terapije

	V1			V2			V3					
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md			
Bolus D	34,29 ±	8,45	bc***	36,00	31,55 ±	7,86	c***	30,00	29,22 ±	7,77	30,00	
Bazal D	25,59 ±	5,35		26,00	27,18 ±	5,98	a***	26,00	27,63 ±	6,28	a***	28,00
Uk DD	59,88 ±	12,79	c***	60,00	58,73 ±	13,02	c**	60,00	56,86 ±	13,43	58,00	
DD (J/kgTT)	0,86 ±	0,18	c**	0,88	0,84 ±	0,19	c*	0,83	0,82 ±	0,19	0,80	
TT	70,43 ±	10,84	c*	70,00	70,49 ±	11,01	c**	70,00	69,96 ±	11,20	70,00	
IMT	23,59 ±	2,81	c*	23,95	23,61 ±	2,85	c**	24,06	23,42 ±	2,88	23,71	

a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Ukupna dnevna doza insulina na početku terapije statistički je značajno veća no nakon šestog meseca terapije (p<0,001). Takođe i vrednost nakon trećeg meseca terapije statistički značajno je veća no nakon šestog meseca terapije, sa statističkom značajnošću p<0,01.

Ukupna doza bolusa na početku terapije (doza humanog regular insulina) statistički je značajno veća no doza insulina aspart nakon trećeg i nakon šestog meseca terapije p<0,001, a takođe je i doza insulina aspart nakon nakon trećeg meseca terapije veća no nakon šestog meseca terapije – p<0,001.

Ukupna doza doza bazalnog insulina i na kraju trećeg meseca terapije, a i nakon šestog meseca terapije, statistički je značajno veća u odnosu na dozu bazalnog insulina na početku terapije na nivou maksimalne statističke značajnosti od p<0,001.

U poređenju sa vrednostima nakon šestog meseca terapije, vrednosti TT i IMT statistički su značajno veće na početku terapije, na nivou statističke značajnosti p<0,05, a usled blagog rasta nakon trećeg meseca terapije razlika je u odnosu na TT nakon trećeg meseca terapije još statistički izraženija – p<0,01.

Ukupna dnevna doza insulina izražena u J po kgTT najviša je na početku terapije, statistički značajno viša no nakon šestog meseca terapije – p<0,01, blago opada nakon trećeg meseca terapije, ali su i tada statistički značajno veće vrednosti no nakon šestog meseca terapije, na nižem nivou statističke značajnosti od p<0,05.

S obzirom da su svi parametri normalne raspodele na kraju sva tri perioda primene terapija vrednosti su poređene Studentovim t-testom zavisnih uzoraka.

DTSQ

Rezultati skora sprovedenog testiranja upitnikom za procenu zadovoljstva terapijom pre i nakon terapije insulinskim analogizima prikazane su u Tabeli 14.

Tabela 14. Vrednosti ostvarenih skorova na testu upitnikom DTSQ pre i nakon terapije

	V1		Md	V2		Md	V3				
	X ±	SD		X ±	SD		X ±	SD	Md		
DTSQ	24,43 ±	4,39	25,00	27,96 ±	5,10	a***	28,00	29,78 ±	5,18	a***	30,00
hiper	1,69 ±	1,34	c**	2,00	1,41 ±	1,15	c*	2,00	0,98 ±	0,97	1,00
hipo	1,63 ±	1,20	c***	2,00	1,33 ±	1,18	c**	1,00	0,69 ±	0,80	1,00

a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Ukupan skor na šest pitanja upitnika (sva pitanja sem pitanja o percepciji hipoglikemije i hiperglikemije, svako pitanje od 0 do 6 poena, ukupan skor od 0 do 36 maksimalno) nakon trećeg meseca terapije i nakon šestog meseca terapije, statistički je značajno viši no na početku terapije na nivou statističke značajnosti od p<0,001.

Odgovori na pitanje upitnika o percepciji hiperglikemije nakon šestog meseca terapije statistički su niži u odnosu na početak terapije (p<0,01) i u poređenju sa skorom nakon trećeg meseca terapije (p<0,05). Takođe i skorovi odgovora na pitanje upitnika o percepciji hipoglikemije nakon šestog meseca terapije statistički su niži u odnosu i na početak terapije (p<0,001) i u poređenju sa skorom nakon trećeg meseca terapije (p<0,01).

Sva poređenja koja su statistički značajna rezultat su Wilcoxonovog testa.

Kako je skala upitnika DTSQ skora pozitivna, sem pitanja o percepciji hiperglikemije i o percepciji hipoglikemije gde je negativna, evidentno je da su skorovi generalno povoljniji nakon svake etape sprovedene terapije.

PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA

Nivoi parametara oksidativnog stresa pre i nakon terapije insulinskim analogizima u poređenju sa kontrolnom grupom prikazane su u Tabeli 15.

Tabela 15. Parametri oksidativnog stresa u eksperimentalnoj grupi nakon primenjenih tretmana i u kontrolnoj grupi

	V1			V2			V3			K		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
MDA (µmol/L)	55,35 ±	11,54	55,25	47,86 ±	5,92	47,43	43,64 ±	9,10	42,78	11,01 ±	2,73	10,60
NOx (µmol/L)	180,99 ±	80,55	169,60	151,16 ±	66,96	135,80	150,19 ±	51,52	133,76	45,36 ±	16,24	44,08
XO (U/L)	11,94 ±	2,03	11,36	10,87 ±	1,77	10,78	10,45 ±	2,60	9,90	9,04 ±	1,56	8,84

vs K: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Vrednosti sva tri ispitivana parametra oksidativnog stresa u našoj populaciji obolelih od T1DM na početku terapije i na kraju perioda sa primenjenim terapijama u odnosu na kontrolu (grupa dobrovoljnih davalaca krvi) statistički su značajno veće no u kontroli, sa maksimalnim nivoom statističke značajnosti od p<0,001. Manji nivo statističke značajnosti od p<0,01 dobijen je jedino pri poređenju XO nakon šestog meseca terapije. Vrednosti MDA i XO su poređene Studentovim t-testom nezavisnih uzoraka, a NOx Mann-Whitney U testom, u zavisnosti od normalnosti raspodele podataka za ispitivane parametre.

Nivoi parametara oksidativnog stresa pre i nakon terapije insulinskim analogizima prikazane su u Tabeli 16.

Tabela 16. Parametri oksidativnog stresa pre i nakon terapije

	V1			V2			V3		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
MDA (µmol/L)	55,35 ±	11,54	bc*** 55,25	47,86 ±	5,92	c** 47,43	43,64 ±	9,10	42,78
NOx (µmol/L)	180,99 ±	80,55	c* 169,60	151,16 ±	66,96	135,80	150,19 ±	51,52	133,76
XO (U/L)	11,94 ±	2,03	bc** 11,36	10,87 ±	1,77	10,78	10,45 ±	2,60	9,90

a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Evidentno je da vrednosti sva tri ispitivana parametra oksidativnog stresa opadaju tokom ispitivanog perioda. Studentovim t-testom zavisnih uzoraka utvrđeno je da je vrednost MDA statistički značajno viša na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije i nakon šestog meseca terapije (p<0,001), ali je vrednost ovog parametra veća i nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije (p<0,01). Pomenutim testom je utvrđeno da je i aktivnost XO statistički značajno viša na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije i nakon šestog meseca terapije (p<0,01), dok je Wilcoxonovim testom utvrđeno da je vrednost NOx statistički značajno viša na početku terapije no nakon trećeg meseca terapije na nivou statističke značajnosti od p<0,05.

PARAMETRI ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE

Nivoi parametara antioksidativne zaštite pre i nakon terapije analogizima u poređenju sa kontrolnom grupom prikazane su u Tabeli 17.

Tabela 17. Parametri antioksidativne zaštite u eksperimentalnoj grupi nakon primenjenih tretmana i u kontrolnoj grupi

	V1			V2			V3			K		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
CAT (U/gHbx10 ⁴)	9,52 ±	1,79	***9,82	7,85 ±	1,49	***8,14	7,25 ±	1,29	***7,13	5,55 ±	0,97	5,41
SOD (U/gHb)	970,70 ±	109,86	***985,60	1170,73 ±	258,57	1236,50	1192,13 ±	142,43	*1214,40	1270,07 ±	202,18	1340,70
GPx (U/gHb)	40,26 ±	8,59	***41,20	38,12 ±	7,28	***37,62	36,28 ±	5,82	***36,21	26,56 ±	6,44	25,40

vs K: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Aktivnosti CAT i GPx statistički su značajno veće u našoj populaciji obolelih od T1DM na početku terapije i na kraju perioda sa primenjenim terapijama u odnosu na kontrolu (grupa dobrovoljnih davalaca krvi) sa maksimalnim nivoom statističke značajnosti p<0,001. Aktivnosti GPx poređene su Studentovim t-testom nezavisnih uzoraka, a CAT Studentovim t-testom nezavisnih uzoraka ili Mann-Whitney U testom.

Aktivnosti SOD manje su u našoj populaciji obolelih od T1DM na početku terapije i na kraju perioda sa primenjenim terapijama u odnosu na kontrolu, ali je statistički značajna razlika prisutna u odnosu na početak terapije (p<0,001), kao i u odnosu na aktivnost nakon šestog meseca terapije p<0,05.

Nivoi parametara antioksidativne zaštite pre i nakon terapije insulinskim analogizima prikazane su u Tabeli 18.

Tabela 18. Parametri antioksidativne zaštite pre i nakon terapije

	V1			V2			V3		
	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md	X ±	SD	Md
CAT (U/gHbx10 ⁴)	9,52 ±	1,79	^{bc} ***9,82	7,85 ±	1,49	^{c*} 8,14	7,25 ±	1,29	7,13
SOD (U/gHb)	970,70 ±	109,86	985,60	1170,73 ±	258,57	^{a***} 1236,50	1192,13 ±	142,43	^{a***} 1214,40
GPx (U/gHb)	40,26 ±	8,59	^{c**} 41,20	38,12 ±	7,28	37,62	36,28 ±	5,82	36,21

a – vs 1, b – vs 2, c – vs 3

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Aktivnosti CAT i GPx opadaju sa promenom terapije, dok je je situacija suprotna kod aktivnosti SOD koja je najveća nakon šestog meseca terapije.

Wilcoxonovim testom je utvrđeno da je aktivnost SOD statistički značajno veća nakon šestog meseca terapije, ali i nakon trećeg meseca terapije u odnosu na aktivnost na početku terapije na maksimalnom nivou statističke značajnosti – $p < 0,001$.

Aktivnosti CAT na početku terapije statistički je značajno veća no nakon trećeg meseca terapije i nakon šestog meseca terapije $p < 0,001$. Takođe je aktivnosti statistički veća nakon trećeg meseca terapije no nakon šestog meseca terapije $p < 0,05$.

Aktivnost GPx je statistički značajno veća na početku terapije no nakon šestog meseca terapije na nivou statističke značajnosti od $p < 0,01$.

ANALIZA DOPRINOSA GLIKEMIJA I HbA1c NIVOIMA PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA

Tabela 19. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost MDA pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	1,61	0,1135	1,76	-0,44	3,95
Pre D	-1,31	0,1951	-0,75	-1,89	0,40
Posle D	-1,90	0,0632	-1,11	-2,29	0,06
Pre R	-2,15	0,0364	-1,43	-2,76	-0,09
Posle R	0,09	0,9312	0,03	-0,73	0,79
Pre V	-0,14	0,8874	-0,08	-1,25	1,08
Posle V	-0,74	0,4622	-0,37	-1,37	0,63
Pre spav	0,40	0,6928	0,29	-1,16	1,74
Noću	-0,05	0,9574	-0,04	-1,45	1,37
MBG	-0,87	0,3864	-0,65	-2,15	0,85
SD	-0,47	0,6439	-1,00	-5,33	3,33
CV	-0,13	0,8996	-0,03	-0,47	0,41

Pre početka terapije u univarijantnoj analizi kao prediktorska varijabla od značaja za vrednost MDA utvrđena je samo vrednost glikemije pre ručka ($p < 0,05$), dok je vrednost glikemije posle doručka bila blizu nivou za statistički značajnu prediktorsku varijablu ($p = 0,0632$). Porast glikemije pre ručka za jedan uzrokuje smanjenje vrednosti MDA za 1,43 (Tabela 19).

Model koji uključuje ove dve varijable u multivarijantnoj regresionoj analizi nije dao statistički značajnu prediktibilnost vrednosti MDA.

Tabela 20. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost MDA nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-0,95	0,3463	-0,50	-1,57	0,56
Pre D	-0,62	0,5409	-0,17	-0,74	0,39
Posle D	-1,45	0,1550	-0,54	-1,30	0,21
Pre R	0,21	0,8383	0,07	-0,62	0,76
Posle R	-0,94	0,3527	-0,27	-0,85	0,31
Pre V	-1,26	0,2152	-0,44	-1,16	0,27
Posle V	-1,60	0,1162	-0,45	-1,02	0,12
Pre spav	0,55	0,5822	0,19	-0,50	0,87
Noću	-0,26	0,7929	-0,09	-0,79	0,60
MBG	-0,96	0,3408	-0,44	-1,37	0,48
SD	-0,33	0,7418	-0,34	-2,41	1,73
CV	0,06	0,9534	0,01	-0,17	0,18

Nakon tromesečne terapije ni jedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi (Tabela 20).

Tabela 21. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost MDA nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	1,74	0,0883	1,53	-0,24	3,30
Pre D	0,49	0,6287	0,35	-1,10	1,80
Posle D	0,62	0,5398	0,47	-1,07	2,01
Pre R	2,45	0,0179	1,55	0,28	2,83
Posle R	2,66	0,0106	1,72	0,42	3,02
Pre V	1,78	0,0811	1,45	-0,19	3,09
Posle V	1,61	0,1134	0,88	-0,22	1,97
Pre spav	0,99	0,3272	0,69	-0,72	2,10
Noću	1,32	0,1919	0,88	-0,46	2,23
MBG	2,30	0,0259	2,28	0,29	4,28
SD	1,32	0,1943	3,28	-1,73	8,29
CV	0,17	0,8627	0,04	-0,38	0,45

Nakon šestomesečne terapije u univarijantnoj analizi kao statistički značajne prediktorske varijable dokazane su vrednost glikemije pre i posle ručka i srednje vrednosti dnevne glikemije, na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$ (Tabela 21).

Tabela 22. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost MDA nakon 6 meseci terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize (model sa Pre R, Posle R, MBG)

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre R	1,40	0,1682	0,26	-0,53	2,95
Posle R	1,48	0,1471	0,36	-0,62	4,03
MBG	-0,55	0,5869	-0,16	-5,27	3,02
konstanta	4,41	0,0001	31,34	17,01	45,67

R square = 0,17, F = 3,04, df = 3, p = **0,0386**

Na osnovu modela u koji su uvršteni vrednost glikemije pre i posle ručka i srednje vrednosti dnevne glikemije utvrđeno je da on sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$) objašnjava 17% varijabilnosti MDA. Međutim, u ovom modelu nijedna od utvrđenih prediktorskih varijabli nema statistički značajan doprinos ukupnom modelu (Tabela 22).

Tabela 23. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost MDA nakon 6 meseci terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize (model sa Pre R, Posle R, MBG i HbA1c)

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre R	1,98	0,0544	0,36	-0,03	3,36
Posle R	1,04	0,3021	0,25	-1,09	3,42
MBG	-0,30	0,7665	-0,08	-4,55	3,38
HbA1C	2,43	0,0194	0,33	0,35	3,80
konstanta	1,09	0,2826	11,53	-9,83	32,88

R square = 0,27, F = 4,00, df = 4, p = **0,0075**

Ako osim prethodno navedene tri prediktorske varijable iz prethodnog modela uvrstimo i HbA1c (koji je u univarijantnoj bio nešto iznad nivoa značajnosti za statistički značajnu prediktorsku varijablu, $p = 0,0883$) dobijamo prediktorski model koji još statistički značajnije ($p < 0,01$) objašnjava čak 27% varijabilnosti MDA. U ovom modelu kao statistički značajna prediktorska varijabla izdvaja se samo HbA1C, na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$, čiji porast za jediničnu vrednost dovodi do statistički značajnog porasta vrednosti MDA za 0,33, a na granici statističke značajne prediktorske varijable je vrednost glikemije pre ručka ($p = 0,0544$), (Tabela 23).

Tabela 24. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost NOx pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-0,17	0,8674	-1,31	-17,04	14,42
Pre D	-0,46	0,6445	-1,87	-9,98	6,23
Posle D	-0,01	0,9949	-0,03	-8,54	8,49
Pre R	-0,15	0,8849	-0,70	-10,45	9,04
Posle R	-0,36	0,7218	-0,94	-6,25	4,36
Pre V	-0,45	0,6549	-1,81	-9,91	6,29
Posle V	-0,73	0,4711	-2,52	-9,51	4,46
Pre spav	-1,09	0,2824	-5,41	-15,42	4,60
Noću	-0,55	0,5847	-2,68	-12,50	7,13
MBG	-0,61	0,5455	-3,18	-13,69	7,33
SD	-1,10	0,2751	-16,41	-46,31	13,49
CV	-0,77	0,4440	-1,17	-4,21	1,87

Tabela 25. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost NOx nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,63	0,5329	3,78	-8,33	15,90
Pre D	-0,23	0,8228	-0,72	-7,11	5,68
Posle D	0,81	0,4195	3,52	-5,17	12,20
Pre R	-0,46	0,6461	-1,79	-9,60	6,01
Posle R	0,62	0,5400	2,03	-4,59	8,66
Pre V	0,84	0,4032	3,40	-4,71	11,52
Posle V	0,09	0,9292	0,29	-6,29	6,87
Pre spav	-1,62	0,1127	-6,08	-13,65	1,49
Noću	-0,77	0,4458	-2,99	-10,81	4,83
MBG	-0,12	0,9030	-0,64	-11,21	9,92
SD	1,26	0,2146	14,44	-8,65	37,53
CV	1,38	0,1728	1,37	-0,62	3,36

Tabela 26. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost NOx nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,77	0,4423	3,96	-6,32	14,24
Pre D	0,34	0,7331	1,40	-6,81	9,61
Posle D	-0,49	0,6263	-2,13	-10,86	6,61
Pre R	-1,28	0,2084	-4,77	-12,29	2,75
Posle R	-0,30	0,7634	-1,19	-9,07	6,69
Pre V	-0,16	0,8755	-0,75	-10,33	8,83
Posle V	-0,53	0,6004	-1,66	-7,99	4,67
Pre spav	-0,68	0,5013	-2,70	-10,73	5,32
Noću	-1,53	0,1334	-5,74	-13,29	1,82
MBG	-0,89	0,3781	-5,23	-17,06	6,60
SD	-0,48	0,6355	-6,84	-35,66	21,99
CV	-0,05	0,9581	-0,06	-2,39	2,26

Pre početka terapije, nakon tromesečne kao ni šestomesečne terapije nijedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom i od uticaja na vrednost NO u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, pa multivarijantna regresiona analiza nije ni sprovedena (Tabele 24, 25 i 26).

Tabela 27. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost XO pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,42	0,6755	0,08	-0,31	0,48
Pre D	-0,26	0,7930	-0,03	-0,23	0,18
Posle D	-0,64	0,5282	-0,07	-0,28	0,15
Pre R	-0,54	0,5888	-0,07	-0,31	0,18
Posle R	-1,04	0,3043	-0,07	-0,20	0,06
Pre V	-0,59	0,5557	-0,06	-0,26	0,14
Posle V	0,43	0,6681	0,04	-0,14	0,21
Pre spav	0,24	0,8150	0,03	-0,23	0,29
Noću	-0,95	0,3490	-0,12	-0,36	0,13
MBG	-0,58	0,5636	-0,08	-0,34	0,19
SD	-0,65	0,5172	-0,25	-1,01	0,51
CV	-0,18	0,8553	-0,01	-0,08	0,07

Tabela 28. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost XO nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-0,62	0,5373	-0,10	-0,42	0,22
Pre D	-0,52	0,6073	-0,04	-0,21	0,13
Posle D	-0,20	0,8425	-0,02	-0,25	0,21
Pre R	-1,16	0,2522	-0,12	-0,32	0,09
Posle R	-0,58	0,5616	-0,05	-0,23	0,12
Pre V	-1,16	0,2525	-0,12	-0,34	0,09
Posle V	-0,90	0,3708	-0,08	-0,25	0,09
Pre spav	-1,88	0,0667	-0,18	-0,38	0,01
Noću	-0,62	0,5414	-0,06	-0,27	0,14
MBG	-1,24	0,2213	-0,17	-0,44	0,11
SD	-0,91	0,3672	-0,28	-0,89	0,34
CV	-0,28	0,7798	-0,01	-0,06	0,05

Tabela 29. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost XO nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	1,53	0,1335	0,39	-0,12	0,90
Pre D	-0,30	0,7658	-0,06	-0,48	0,35
Posle D	0,25	0,8064	0,05	-0,39	0,50
Pre R	-1,85	0,0704	-0,34	-0,72	0,03
Posle R	0,60	0,5540	0,12	-0,28	0,51
Pre V	-0,32	0,7479	-0,08	-0,56	0,41
Posle V	-0,02	0,9802	0,00	-0,32	0,32
Pre spav	-0,55	0,5863	-0,11	-0,52	0,30
Noću	-1,79	0,0800	-0,34	-0,71	0,04
MBG	-0,74	0,4610	-0,22	-0,82	0,38
SD	-1,17	0,2461	-0,84	-2,27	0,60
CV	-1,04	0,3027	-0,06	-0,18	0,06

Pre početka terapije, nakon tromesečne kao i šestomesečne terapije nijedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom i od uticaja na vrednost XO u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, te nije sprovedena multivarijantna regresiona analiza (Tabele 27, 28 i 29).

Tabela 30. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost SOD pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,32	0,7517	3,39	-18,05	24,83
Pre D	0,33	0,7430	1,81	-9,25	12,88
Posle D	1,39	0,1705	7,87	-3,51	19,26
Pre R	1,07	0,2885	7,01	-6,12	20,14
Posle R	1,57	0,1227	5,51	-1,54	12,57
Pre V	1,00	0,3201	5,47	-5,48	16,43
Posle V	1,43	0,1587	6,68	-2,70	16,05
Pre spav	0,36	0,7225	2,45	-11,36	16,26
Noću	0,21	0,8351	1,40	-12,02	14,82
MBG	1,31	0,1960	9,22	-4,92	23,35
SD	2,36	0,0226	45,77	6,71	84,83
CV	1,59	0,1194	3,20	-0,86	7,27

Pre početka terapije u univarijantnoj analizi kao prediktorska varijabla od značaja za SOD utvrđena je samo vrednost standardne devijacije dnevne glikemije ($p < 0,05$), (Tabela 30).

Tabela 31. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost SOD pre početka terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
SD	1,72	0,0919	54,88	-9,28	119,05
CV	-0,36	0,7187	-1,17	-7,65	5,31
konstanta	16,51	0,0000	874,94	768,25	981,64

R square = 0,11, F = 2,79, df = 2, p = 0,0717

Na osnovu modela u koji su uvrštene prediktivne varijable standardna devijacija dnevne glikemije i koeficijent varijacije dnevne glikemije (koja se u univarijantnoj analizi pokazala prediktor bez statističkog značaja) nije utvrđena statistički značajnost ovog modela u determinisanju vrednosti SOD (Tabela 31).

Tabela 32. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost SOD nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,33	0,7463	7,59	-39,34	54,53
Pre D	1,91	0,0619	22,62	-1,18	46,42
Posle D	0,11	0,9159	1,78	-31,99	35,56
Pre R	0,57	0,5686	8,60	-21,52	38,71
Posle R	0,04	0,9713	0,46	-25,22	26,14
Pre V	0,12	0,9083	1,82	-29,77	33,40
Posle V	-0,47	0,6437	-5,87	-31,21	19,48
Pre spav	-0,28	0,7781	-4,23	-34,22	25,77
Noću	0,44	0,6617	6,64	-23,68	36,96
MBG	0,45	0,6533	9,15	-31,56	49,85
SD	1,45	0,1532	64,00	-24,69	152,70
CV	1,17	0,2471	4,50	-3,23	12,23

Tabela 33. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost SOD nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-0,58	0,5638	-8,24	-36,74	20,26
Pre D	1,12	0,2689	12,48	-9,96	34,91
Posle D	1,23	0,2232	14,62	-9,21	38,45
Pre R	-0,67	0,5049	-7,03	-28,09	14,02
Posle R	-0,27	0,7863	-2,95	-24,75	18,84
Pre V	-0,08	0,9335	-1,10	-27,60	25,39
Posle V	0,83	0,4111	7,19	-10,24	24,61
Pre spav	0,74	0,4629	8,16	-14,02	30,34
Noću	-0,23	0,8177	-2,46	-23,85	18,92
MBG	0,50	0,6206	8,15	-24,75	41,04
SD	-0,87	0,3896	-34,21	-113,46	45,04
CV	-1,20	0,2370	-3,77	-10,10	2,56

Nakon tromesečne, kao i šestomesečne terapije, nijedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom i od uticaja na vrednost SOD u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, te nije sprovedena multivarijantna regresiona analiza (Tabele 32 i 33).

Tabela 34. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CAT pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	1,52	0,1358	0,26	-0,08	0,60
Pre D	1,22	0,2269	0,11	-0,07	0,29
Posle D	0,11	0,9107	0,01	-0,18	0,20
Pre R	1,04	0,3033	0,11	-0,10	0,32
Posle R	0,55	0,5846	0,03	-0,09	0,15
Pre V	2,21	0,0322	0,19	0,02	0,36
Posle V	1,00	0,3232	0,08	-0,08	0,23
Pre spav	0,93	0,3570	0,10	-0,12	0,33
Noću	-0,26	0,7954	-0,03	-0,25	0,19
MBG	1,12	0,2705	0,13	-0,10	0,36
SD	-0,84	0,4045	-0,28	-0,95	0,39
CV	-1,76	0,0847	-0,06	-0,12	0,01

Pre početka terapije u univarijantnoj analizi kao prediktorska varijabla od značaja za vrednost SOD statistički značajna se pokazala vrednost glikemije pre večere ($p < 0,05$), (Tabela 34).

Tabela 35. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CAT pre početka terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
Pre V	2,02	0,0491	0,17	0,00	0,34
CV	-1,54	0,1300	-0,05	-0,11	0,02
konstanta	8,15	0,0000	9,38	7,06	11,70

R square = 0,14, F = 3,70, df = 2, p = **0,0325**

Na osnovu modela multiple linearne regresije u koji su uvršteni vrednost glikemije pre večere i vrednost koeficijenta varijacije dnevne glikemije, koja je u univarijantnoj analizi pokazala značajnosti od $p = 0,0847$, utvrđeno je da sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$) determinišu 14% varijabilnosti CAT (Tabela 35). U okviru ovog modela kao statistički značajan se pokazao uticaj vrednosti glikemije pre večere, čiji je jedinični porast dovodio do povećanja vrednosti CAT za 0,17 ($p < 0,05$).

Tabela 36. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CAT nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-0,25	0,8043	-0,03	-0,30	0,24
Pre D	0,54	0,5903	0,04	-0,10	0,18
Posle D	0,71	0,4810	0,07	-0,13	0,26
Pre R	-0,72	0,4770	-0,06	-0,23	0,11
Posle R	-0,37	0,7144	-0,03	-0,17	0,12
Pre V	-0,17	0,8631	-0,02	-0,20	0,17
Posle V	0,21	0,8317	0,02	-0,13	0,16
Pre spav	0,66	0,5141	0,06	-0,12	0,23
Noću	-0,41	0,6808	-0,04	-0,21	0,14
MBG	0,08	0,9353	0,01	-0,23	0,24
SD	-0,32	0,7488	-0,08	-0,60	0,44
CV	-0,17	0,8625	0,00	-0,05	0,04

Tabela 37. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CAT nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,18	0,8582	0,02	-0,24	0,28
Pre D	-1,65	0,1057	-0,16	-0,37	0,04
Posle D	-0,76	0,4530	-0,08	-0,30	0,14
Pre R	1,11	0,2721	0,10	-0,08	0,29
Posle R	1,25	0,2188	0,12	-0,07	0,32
Pre V	1,33	0,1911	0,16	-0,08	0,39
Posle V	1,67	0,1018	0,13	-0,03	0,28
Pre spav	0,82	0,4161	0,08	-0,12	0,28
Noću	-0,76	0,4530	-0,07	-0,27	0,12
MBG	0,62	0,5395	0,09	-0,21	0,39
SD	0,08	0,9344	0,03	-0,70	0,75
CV	-0,53	0,5972	-0,02	-0,07	0,04

Nakon tromesečne i šestomesečne terapije nijedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom i od uticaja na vrednost CAT u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, pa nije sprovedena multivarijantna regresiona analiza, (Tabele 36 i 37).

Tabela 38. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost GPx pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-1,15	0,2549	-0,95	-2,60	0,71
Pre D	-1,00	0,3247	-0,42	-1,28	0,43
Posle D	-1,60	0,1168	-0,70	-1,59	0,18
Pre R	-0,50	0,6213	-0,26	-1,29	0,78
Posle R	-1,45	0,1536	-0,40	-0,95	0,15
Pre V	-0,27	0,7870	-0,12	-0,98	0,75
Posle V	0,16	0,8761	0,06	-0,69	0,81
Pre spav	0,53	0,5956	0,29	-0,79	1,36
Noću	-0,66	0,5111	-0,34	-1,39	0,70
MBG	-0,86	0,3936	-0,48	-1,59	0,64
SD	-1,66	0,1036	-2,59	-5,73	0,55
CV	-1,34	0,1879	-0,21	-0,53	0,11

Tabela 39. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost GPx nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,70	0,4878	0,46	-0,86	1,77
Pre D	0,89	0,3782	0,30	-0,38	0,99
Posle D	0,25	0,8039	0,12	-0,83	1,07
Pre R	0,01	0,9910	0,00	-0,85	0,86
Posle R	-0,65	0,5201	-0,23	-0,95	0,49
Pre V	-0,68	0,4977	-0,30	-1,19	0,58
Posle V	0,03	0,9739	0,01	-0,70	0,73
Pre spav	-1,00	0,3225	-0,42	-1,25	0,42
Noću	0,79	0,4314	0,34	-0,51	1,18
MBG	-0,05	0,9640	-0,03	-1,17	1,12
SD	0,37	0,7109	0,47	-2,08	3,02
CV	0,18	0,8609	0,02	-0,20	0,24

Tabela 40. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost GPx nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	-0,37	0,7115	-0,22	-1,38	0,95
Pre D	0,05	0,9620	0,02	-0,91	0,95
Posle D	1,20	0,2357	0,58	-0,39	1,56
Pre R	0,80	0,4277	0,34	-0,52	1,20
Posle R	0,01	0,9898	0,01	-0,89	0,90
Pre V	-0,79	0,4326	-0,42	-1,50	0,65
Posle V	-0,61	0,5438	-0,22	-0,93	0,50
Pre spav	-0,08	0,9345	-0,04	-0,95	0,87
Noću	-0,46	0,6442	-0,20	-1,07	0,67
MBG	0,00	0,9980	0,00	-1,35	1,35
SD	0,11	0,9149	0,17	-3,09	3,44
CV	0,31	0,7588	0,04	-0,22	0,30

Ni pre terapije, a ni nakon tromesečne ni šestomesečne terapije, nijedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom na vrednost GPx u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, te nije sprovedena multivarijantna regresiona analiza (Tabele 38, 39 i 40).

Tabela 41. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CRP pre početka terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,10	0,9208	0,02	-0,38	0,42
Pre D	0,62	0,5386	0,06	-0,14	0,27
Posle D	-0,98	0,3345	-0,10	-0,31	0,11
Pre R	0,42	0,6752	0,05	-0,19	0,30
Posle R	-0,54	0,5916	-0,04	-0,17	0,10
Pre V	0,40	0,6914	0,04	-0,16	0,24
Posle V	0,05	0,9577	0,00	-0,17	0,18
Pre spav	-0,09	0,9296	-0,01	-0,27	0,24
Noću	-0,53	0,5963	-0,07	-0,31	0,18
MBG	-0,13	0,8938	-0,02	-0,28	0,25
SD	1,18	0,2445	0,44	-0,31	1,19
CV	1,47	0,1470	0,06	-0,02	0,13

Tabela 42. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CRP nakon 3 meseca terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	0,62	0,5388	0,08	-0,17	0,33
Pre D	0,87	0,3877	0,06	-0,07	0,19
Posle D	1,10	0,2775	0,10	-0,08	0,28
Pre R	0,05	0,9575	0,00	-0,16	0,17
Posle R	0,85	0,4013	0,06	-0,08	0,20
Pre V	-0,13	0,8985	-0,01	-0,18	0,16
Posle V	1,46	0,1510	0,10	-0,04	0,23
Pre spav	0,66	0,5155	0,05	-0,11	0,21
Noću	-0,08	0,9397	-0,01	-0,17	0,16
MBG	0,89	0,3782	0,10	-0,12	0,31
SD	0,85	0,4005	0,20	-0,28	0,69
CV	0,33	0,7460	0,01	-0,04	0,05

Ni pre terapije, kao ni nakon tromesečne terapije, nijedna prediktorska varijabla nije se pokazala statistički značajnom za vrednost CRP u univarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, pa za ove periode istraživanja nije sprovedena multivarijantna regresiona analiza (Tabele 41 i 42).

Tabela 43. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CRP nakon 6 meseci terapije, rezultati **univarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
HbA1c	1,50	0,1406	0,24	-0,08	0,56
Pre D	1,18	0,2437	0,15	-0,11	0,40
Posle D	1,93	0,0595	0,25	-0,01	0,52
Pre R	0,79	0,4362	0,09	-0,15	0,33
Posle R	1,17	0,2495	0,14	-0,10	0,39
Pre V	0,15	0,8832	0,02	-0,28	0,32
Posle V	0,28	0,7785	0,03	-0,17	0,23
Pre spav	1,27	0,2095	0,16	-0,09	0,41
Noću	0,75	0,4559	0,09	-0,15	0,33
MBG	1,39	0,1714	0,25	-0,11	0,62
SD	-1,09	0,2828	-0,49	-1,38	0,41
CV	-2,09	0,0422	-0,07	-0,14	0,00

Nakon šest meseci terapije u univarijantnoj analizi se kao statistički značajna prediktorska varijabla od uticaja na vrednost CRP dokazala vrednost parametra koeficijenta varijacije dnevne glikemije, na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$ (Tabela 43).

Tabela 44. Procena uticaja faktora od interesa na vrednost CRP nakon šestomesečne terapije, rezultati **multivarijantne** linearne regresione analize

Faktor	t	p	B	Granice 95% IP za B	
				Donja	Gornja
CV	-2,19	0,0338	-0,07	-0,14	0,32
Posle D	2,04	0,0471	0,26	-0,14	0,00
konstanta	1,46	0,1511	1,76	0,78	5,31

R square = 0,16, F = 4,41, df = 2, p = **0,0177**

Osim varijable, koeficijent varijacije dnevne glikemije u model multiple linearne regresije uvrštena je i vrednost glikemije posle doručka koja je u univarijantnoj analizi imala p blizu vrednosti za statistički značajnu prediktorsku varijablu ($p=0,0595$). Ovaj model multiple linearne regresije sa statističkom značajnošću ($p<0,05$) determiniše 16% varijabilnosti CRP. U okviru ovog modela kao statistički značajne su se pokazale obe uvrštene prediktorske varijable ($p<0,05$), s tim da jedinični porast koeficijenta varijacije dnevne glikemije dovodi do smanjenja vrednosti CRP za 0,07, a jedinični porast vrednosti šećera posle doručka dovodi do rasta CRP od 0,26 (Tabela 44).

ANALIZA KORELACIJA GLIKEMIJA, HbA1c I PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA

Tabela 45. Korelacija HbA1c sa glikemijama pre, nakon 3 i 6 meseci terapije

HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
V1	-0,04	-0,07	0,02	0,12	0,26	0,19	0,20	0,07	0,10	-0,10	-0,24
V2	0,17	-0,03	-0,02	-0,03	0,16	0,09	0,22	-0,04	0,11	0,20	0,16
V3	-0,01	-0,08	-0,28	0,06	-0,10	0,04	-0,06	-0,11	-0,08	-0,24	-0,23

Spermanovim koeficijentom nisu utvrđene statistički značajne korelacije HbA1c sa ispitivanim vrednostima glikemija ni pre početka, ni nakon 3 i nakon 6 meseci primenjene terapije (Tabela 45).

Korelacije parametara oksidativnog stresa sa parametrima glikoregulacije

Tabela 46. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa parametrima glikoregulacije pre primene terapije

	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
MDA	0,33 *	-0,19	-0,32 *	-0,32 *	0,01	-0,02	-0,11	-0,06	-0,01	-0,13	-0,07	-0,01
NOx	-0,05	-0,07	0,02	-0,03	-0,05	-0,07	-0,11	-0,21	-0,08	-0,09	-0,16	-0,15
XO	0,10	-0,04	-0,06	-0,03	-0,15	-0,09	0,06	0,05	-0,14	-0,08	-0,09	-0,01

* – $p < 0,05$

Tabela 47. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa parametrima glikoregulacije nakon tromesečne terapije

	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
MDA	-0,10	-0,09	-0,21	0,03	-0,14	-0,18	-0,16	0,09	-0,04	-0,14	-0,10	-0,03
NOx	0,11	0,05	0,18	-0,02	0,11	0,14	-0,01	-0,29	*-0,10	0,01	0,15	0,16
XO	-0,08	0,03	-0,03	-0,17	-0,08	-0,17	-0,15	-0,32	*-0,09	-0,18	-0,06	0,04

* – $p < 0,05$

Tabela 48. Korelacija parametara oksidativnog stresa sa parametrima glikoregulacije nakon šestomesečne terapije

	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
MDA	0,28	0,10	0,09	0,34 *	0,36 *	0,25	0,22	0,17	0,20	0,38 **	0,27	0,04
NOx	0,06	0,06	-0,04	-0,10	-0,06	0,01	0,01	0,02	-0,13	-0,03	0,01	0,02
XO	0,07	0,02	0,04	-0,26	0,09	-0,05	-0,08	-0,06	-0,13	-0,12	-0,11	-0,12

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$

Pre početka terapije kao statistički značajne jedino se izdvajaju pozitivne korelacije srednjeg intenziteta MDA sa vrednostima HbA1c i vrednostima glikemije posle doručka i pre ručka, na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$ (Spearmanov koeficijent korelacije) (Tabela 46).

Nakon tromesečne terapije kao jedine statistički značajne korelacije dokazane su negativne korelacije srednjeg intenziteta parametara XO i NOx sa vrednostima glikemije pred spavanje (Spearmanov koeficijent korelacije) (Tabela 47).

Nakon šestomesečne terapije kao statistički su značajne samo pozitivne korelacije srednjeg intenziteta MDA sa vrednostima glikemije pre i posle ručka, na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$ (Spearmanov koeficijent korelacije), kao i sa vrednostima srednje vrednosti dnevne glikemije na nivou statističke značajnosti od $p < 0,01$ (Pearsonov koeficijent korelacije) (Tabela 48).

Korelacije parametara antioksidativne zaštite sa parametrima glikoregulacije

Tabela 49. Korelacija parametara antioksidativne zaštite sa parametrima glikoregulacije pre primene terapije

	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV	
CAT	0,22	0,13	0,02	0,17	0,05	0,28	*	0,13	0,16	0,01	0,14	-0,16	-0,25
SOD	0,11	0,07	0,15	0,17	0,21	0,17	0,20	0,10	0,02	0,22	0,24	0,15	
GPx	-0,16	-0,14	-0,21	-0,05	-0,21	-0,04	0,02	0,11	-0,10	-0,12	-0,24	-0,17	

* – $p < 0,05$

Tabela 50. Korelacija parametara antioksidativne zaštite sa parametrima glikoregulacije nakon tromesečne terapije

	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
CAT	-0,01	0,09	0,10	-0,10	-0,05	-0,03	0,12	0,19	-0,06	0,01	-0,01	-0,03
SOD	0,08	0,27	0,02	0,08	0,01	0,02	-0,13	-0,10	0,06	0,07	0,19	0,20
GPx	0,06	0,17	0,04	0,00	-0,09	-0,10	0,03	-0,25	0,11	-0,01	0,06	0,11

Tabela 51. Korelacija parametara antioksidativne zaštite sa parametrima glikoregulacije nakon šestomesečne terapije

	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
CAT	-0,08	0,16	0,11	-0,09	0,06	-0,06	0,09	0,14	0,03	0,08	-0,13	-0,29*
SOD	-0,09	-0,05	0,17	0,12	0,00	-0,11	-0,04	-0,02	0,00	0,07	0,10	0,09
GPx	0,28	0,23	0,19	0,12	0,23	0,14	0,13	0,14	0,14	0,26	-0,14	-0,29

* – $p < 0,05$

Pre početka terapije jedino je statistički značajna pozitivna korelacija CAT sa vrednošću glikemije pre večere, na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$ (Spearmanov koeficijent korelacije) (Tabela 49).

Nakon tromesečne terapije nije bilo statistički značajnih korelacija parametara antioksidativne zaštite sa parametrima glikemije (Tabela 50), a nakon šestomesečne terapije jedina statistički značajna je negativna korelacija CAT sa koeficijentom varijacije dnevne glikemije ($p < 0,05$) (Spearmanov koeficijent korelacije), (Tabela 51).

Tabela 52. Korelacija CRP sa parametrima glikoregulacije pre, nakon 3 i 6 meseci terapije

CRP	HbA1c	Pre D	Posle D	Pre R	Posle R	Pre V	Posle V	Pre spav	Noću	MBG	SD	CV
V1	0,04	0,07	-0,15	0,04	-0,05	0,07	0,01	0,07	0,06	-0,01	0,11	0,15
V2	0,14	0,17	0,12	-0,06	0,06	-0,01	0,14	0,07	0,01	0,08	0,18	0,10
V3	0,28	0,23	0,19	0,12	0,23	0,14	0,13	0,14	0,14	0,26	-0,14	-0,29*

* – $p < 0,05$

Spearmanovim koeficijentom korelacije kao statistički značajna je dokazana samo negativna korelacija CRP sa koeficijentom varijacije dnevne glikemije i to nakon šestomesečne terapije ($p < 0,05$), (Tabela 52).

DISKUSIJA

Dijabetes melitus tip 1 (T1DM) je bolest koja, iako predstavlja samo 5 do 10% od ukupnog broja obolelih do dijabetesa, ima veliki značaj koji se ogleda u brojnim i veoma ozbiljnim akutnim i hroničnim komplikacijama do kojih dovodi. Bolest počinje rano u životu i od samog početka oboleli zavise od terapije insulinom, da bi preživeli i sprečili razvoj ketoacidoze.

Ipak, uspešno lečenje T1DM daleko prevazilazi samo upotrebu insulina. Najbolje lečenje obolelih od T1DM se sprovodi kroz saradnju multidisciplinarnog tima koji podrazumeva praćenje obolelog kroz više aspekata, koje sem insulinske terapije podrazumeva i kontinuiranu edukaciju o načinu života, planiranje obroka i fizičke aktivnosti, praćenje i samokontrolu nivoa glukoze u krvi. Multinacionalna studija sa obolelima od T1DM i T2DM je pokazala da strukturisani program samokontrole glikemije može da poboljša rezultate lečenja [Lalić i sar. 2012]. Od posebne je važnosti kontinuirani skrining usmeren na rano otkrivanje postojanja komorbiditeta i postojanja i razvoja komplikacija dijabetesa. Ove komplikacije, pre svega, predstavljaju osnovne razloge za poboljevanje i smrtnost obolelih od T1DM, i podrazumevaju mikrovaskularne i makrovaskularne bolesti.

Razvoj terapijskog pristupa obolelim od T1DM dovodi do stalnog poboljšanja rezultata u postizanju, kako bolje glikemijske kontrole obolelih, tako i u redukciji rizika za razvoj komplikacija. Ipak, još uvek postoje brojni terapijski izazovi u razvoju novih pristupa za lečenje i prevenciju T1DM i njegovih komplikacija.

Terapija T1DM je, od samog početka, terapija insulinom. Kada je početkom dvadesetih godina dvadesetog veka otkriven insulin i otpočela njegova terapijska primena, promenjena je sudbina ovih bolesnika, koji su u vremenu pre toga vrlo brzo nakon postavljanja dijagnoze letalno završavali zbog akutnih komplikacija bolesti. Terapija insulinom pružila im je šansu i nadu da žive sa dijagnozom T1DM duže, po mogućstvu kao i njihovi savremenici nedijabetičari [Banting i sar. 1922]. Tokom godina koje su usledile,

terapija insulinom se usavršavala otkrićem novih tehnika za dobijanje sve pročišćenijih preparata, kao i načina da se promenom farmakokinetike pojedinih preparata insulina obezbedi dnevna terapija koja bi što više odgovarala onom fiziološkom profilu insulina koji luči zdrav pankreas [Rosenfeld 2002].

Tokom više godina, terapija insulinom je dovela do činjenice da se akutne komplikacije bolesti mogu izbeći i da je životni vek dijabetičara značajno produžen, ali još uvek nije izjednačen sa nedijabetičarima. Naime, savremena znanja o etiopatogenezi i terapiji, a posebno o prevenciji akutnih komplikacija, doprinela su značajnom smanjenju ukupne smrtnosti (mortaliteta) od dijabetesa melitusa. Tako je saopšteno da je smrtnost od dijabetesne ketoacidoze manja od 1%. Istovremeno, zbog posledičnog produženja životnog veka bolesnika, beleži se povećanje stope invaliditeta i mortaliteta od hroničnih komplikacija, što ukazuje na njihov veliki medicinski i socijalno-ekonomski značaj. Hronične komplikacije obuhvataju mikroangiopatiju: nefropatiju, retinopatiju, neuropatiju kao i makroangiopatiju: kardiovaskularne bolesti, cerebrovaskularne bolesti i oboljenja perifernih krvnih sudova [Libby i Plutzky 2002; Klein 1995].

Poslednja decenija dvadesetog veka donela je osnovne dogme savremene dijabetologije. Velike studije koje su sprovedene tokom prethodnih godina i koje su objavljene u devedesetim, nepobitno su pokazale da se, nezavisno od tipa bolesti, dobrom metaboličkom kontrolom bolesti (striktnom glikemijskom kontrolom) može odložiti nastanak, kao i usporiti napredovanje već razvijenih hroničnih komplikacija dijabetesa (primarna i sekundarna prevencija komplikacija) [Diabetes Control and Complications Trial Research Group. 1993; UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. 1998a; Stratton i sar. 2000]. Studije koje su nastavile praćenje ovih bolesnika potvrđuju da se protektivni efekat dobre glikoregulacije nastavlja i u godinama koje slede i kada metabolička kontrola više nije tako striktna [Martin i sar. 2006; Cleary i sar. 2006; Nathan i sar. 2005; Nathan i sar. 2003; Holman i sar. 2008].

Rezultati DCCT i UKPDS, koji su pokazali da se intenzivnom kontrolom glikemije može smanjiti učestalost komplikacija, doveli su do stava da pacijenti i njihovi lekari moraju da se stalno trude da obezbede serumski nivo insulina, što sličniji onom koji postoji kod nedijabetičara [Kilpatrick i sar. 2009]. Sekretija insulina iz pankreasa je pak jako kompleksno regulisana i zavisi od unosa hrane, sekrecije drugih gastrointestinalnih peptida, nivoa metaboličkih zahteva organizma (drugačija je kod fizičke aktivnosti u odnosu na mirovanje). Sve ove fiziološke varijable koje predstavljaju izazov kod pokušaja da se

nadoknadi insulin dodatno komplikuje činjenica da pacijenti u suštini sprovode samolečenje, odnosno da uspeh terapije itekako zavisi od psihologije, motivacije i nivoa razumevanja samog pacijenta [Zinman 1989].

Vodeći, i od strane praktično svih preporuka predloženi, vid savremene insulinske terapije T1DM je takozvana intenzivirana insulinska terapija (IIT), ili intenzivirana konvencionalna insulinska terapija (IKIT), sinonimi u svetskoj literaturi su bazal bolus terapija i multiple dnevne injekcije insulina (MDII). Ona podrazumeva obezbeđenje bazalne insulinizacije jednom ili dvema injekcijama srednjedugodelujućeg humanog insulina (NPH insulina) uz davanje tri ili više bolusa humanog solubilnog insulina (regular insulina) pre glavnih obroka. Ovaj način terapije na neki način imitira fiziološki profil insulina koji podrazumeva kontinuiranu, manje više ujednačenu sekreciju insulina iz β ćelija tokom 24 sata, na koju se nadovezuje naglo oslobađanje većih koncentracija insulina iz β ćelija nakon pojave većih koncentracija glukoze u krvi posle obroka (postprandijalno) [Moghissi i Hirsch 2005; Metchick i sar. 2002; Home 1997].

Farmakokinetički profil dejstva preparata humanog insulina nije u potpunosti mogao da obezbedi profil insulina identičan fiziološkom. Naime, nakon injekcije humanog solubilnog insulina njegova koncentracija u plazmi ne raste onoliko brzo i visoko kako se to dešava u zdrave osobe, a takođe se ne smanjuje na vrednosti od pre obroka onako brzo sa normalizacijom glikemije kao kod zdravih osoba. Ukratko rečeno, humani insulin brzog i kratkog dejstva ima dejstvo koje nije ni dovoljno brzo, ni dovoljno kratko. Sa druge strane, bazalna insulinizacija, koja kod zdravih osoba ima prilično ravnomeran nivo tokom 24 sata, ne može se oponašati u potpunosti korišćenjem srednjedugodelujućih preparata insulina (NPH ili lente insulini), jer nivo insulina u plazmi nakon injekcije srednjedugodelujućeg insulina raste postepeno od nivoa koji je u početku nedovoljan i potom dostiže maksimum dejstva, odnosno pik (engl. peak), kada je nivo insulina u plazmi obično previsok, da bi mu potom koncentracija u plazmi opadala, opet često na nivo koji nije dovoljan i pre nego počne dejstvo naredne injekcije srednjedugodelujućeg preparata insulina. Ukratko rečeno, srednjedugodelujućim preparatima insulina nemaju dejstvo koje je dovoljno dugo i, što je još važnije, koje je dovoljno ravnomerno tokom 24 sata [Guerci i Sauvanet 2005; Holl i sar. 2003; DeWitt i Hirsch 2003].

Poslednja decenija u savremenoj dijabetologiji je decenija insulinskih analoga. Promenom molekula insulina kroz manje promene sekvence amino-kiselina u peptidnim lancima insulina nastoji se da se obezbedi promena farmakokinetike, odnosno brzine i dužine

dejstva preparata insulina, bez promene osnovnog hipoglikemijskog dejstva hormona [Hirsch 2005; Bolli i sar. 1999].

Analozi humanog insulina brzog dejstva su proizvedeni tako da se menja prirodna sklonost molekula humanog insulina u rastvoru ka dimerizaciji i u prisustvu Zn ka organizaciji tri dimera u heksamere. Na taj način, uobičajeni sled događaja koji postoji na mestu injekcije humanog insulina u potkožno tkivo, gde je heksamerima insulina potrebno izvesno vreme da disosuju na dimere, a ovi potom na monomere, koji jedino prolaze kroz endotel i u krvnu struju, kojom bivaju odnešeni do mesta delovanja, biva ubrzan, jer molekuli analoga humanog insulina brzog dejstva vrlo brzo disosuju na monomere, pa je postizanje željene koncentracije insulina u plazmi mnogo brže nakon injekcije. Ukupni profil dejstva analoga humanog insulina brzog dejstva je stoga takav da deluju brže i kraće od solubilnog humanog insulina [Mudaliar i sar. 1999; Simpson i Spencer 1999].

Dugodelujući analozi humanog insulina su proizvedeni tako da je molekul insulina promenjen da bi se obezbedilo konzistentno oslobađanje sa mesta injekcije i time dugotrajno i ravnomerno dejstvo, koje će u većoj meri imitirati prirodno bazalno oslobađanje insulina [Ashwell i Home 2001; Pieber i sar. 2000; Rosenstock i sar. 2000].

Na ovaj način modifikovani insulini svojim superiornim farmakokinetiskim profilom mogu da obezbede lakše prevazilaženje problema striktno metaboličke kontrole, odnosno da obezbede bolju glikoregulaciju i bolju kontrolu glikemije i našte i postprandijalno [Vague i sar. 2003; Ratner i sar. 2000].

Uvođenje bazalnih insulinskih analoga u terapiju rezultovalo je serijom kliničkih studija koje nam daju podatke o najefikasnijem načinu upotrebe ovih insulina u terapiji T1DM i T2DM. [DeVries i sar. 2007].

Kako se sve veći broj pacijenata u svetu i sa T1DM i sa T2DM leči insulinskim analogima, važno je saznati njihov uticaj na kliničke ishode ovog lečenja. U ovom trenutku praktično nema podataka o uticaju na konačne, bilo mikrovaskularne, bilo makrovaskularne komplikacije i nema naznaka da će ih i biti u skorijoj budućnosti. Da bi se rukovodili o izboru insulina i da bi pre svega mogli da procenimo da li novi modifikovani analozi insulina nude prednosti u terapiji u odnosu na starije humane insuline, možemo da posmatramo takozvane surogat biohemijske i kliničke markere, odnosno prediktore ishoda. Sve studije koje su poredile humane insuline i analoge insulina su merile nivo HbA1c i poredile stopu hipoglikemija. Značajan i rastući broj studija pruža informacije i o glikemiji našte,

postprandijalnoj glikemiji, dvadesetčetvoročasovnim profilima glikemija i promenama telesne težine.

Praćenje nivoa HbA1c je postalo standardna mera za evaluaciju uspešnosti tretmana svakog individualnog pacijenta, a on predstavlja osnovni i ključni parametar za postavljanje ciljeva u lečenju dijabetesnih bolesnika. Nivo HbA1c obezbeđuje indirektnu meru ukupnom izlaganju organizma povišenoj glukozi u krvi u prethodnom periodu od 2 do 3 meseca, uz procenu da je oko 50% efekta na HbA1c iz poslednjih 30 dana [Peter i sar. 2006; Woerle i sar. 2007].

Zajedničke preporuke za lečenje DM Evropske i Američke asocijacije za dijabetes (The European Association for the Study of Diabetes – EASD i The American Diabetes Association – ADA) savetuju da se teži održanju nivoa HbA1c <7% [Inzucchi i sar. 2012], dok druge asocijacije kao Američko udruženje kliničkih endokrinologa (American Association of Clinical Endocrinologists – AACE) i Međunarodna federacija za dijabetes (The International Diabetes Federation – IDF) preporučuju stroži cilj i nivo HbA1c <6,5% [Rodbard i sar. 2007; IDF Clinical Guidelines Task Force 2005].

U našem nacionalnom vodiču se navodi da je u terapiji svakog pacijenta sa dijabetesom neophodno definisati individualne ciljne vrednosti glikemije i HbA1c, a u skladu sa kriterijumom za HbA1c od 7% [Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse 2012].

Na nivo HbA1c jasno utiču promene standardnih mera glikoregulacije, odnosno nivoi glikemije našte i postprandijalne glikemije, mada je o relativnom doprinosu svake od ovih pojedinačno debata još uvek u toku. U prospektivnoj studiji koja je uključila 164 obolela sa T2DM sa lošom kontrolom bolesti, intenzivni tretman tokom tri meseca sa rigoroznom titracijom doze insulina doveo je do prosečnog smanjenja nivoa HbA1c sa 8,7% na 6,5%. Analiza podataka multiplom linearnom regresijom pokazala je da je sniženje PPG imalo dvostruko veći uticaj na sniženje HbA1c, u odnosu na sniženje glikemije našte [Woerle i sar. 2007]. Nasuprot ovome, studija sprovedena kod 262 pacijenta sa T2DM, koji su bili bez prethodne terapije, pokazala je da nivo HbA1c mnogo snažnije korelira sa nivoom glikemije našte ($r=0,85$), u odnosu na PPG ($r=0,539$) [Peter i sar. 2006]. Diskrepance između studija koje se bave ovim problemom mogu se objasniti činjenicom, da je relativni doprinos PPG nivou HbA1c predominantan u dobro kontrolisanih pacijenata, dok doprinos glikemije našte počinje da dominira kako se glikoregulacija bolesnika pogoršava [Monnier i sar. 2003].

Biološke varijacije u HbA1c alelima mogu takođe da igraju ulogu u određivanju nivoa glikozilacije hemoglobina [McCarter i sar. 2006].

Efekat insulinskih analoga na nivo HbA1c, i brzodelujućih i dugodelujućih, sagledan je kroz dve značajne analize (Cochrane reviews) [Horvath i sar. 2007; Siebenhofer i sar. 2006]. U analizi koja je uključila 49 randomizovanih kliničkih studija sa brzodelujućim insulinskim analogima u poređenju sa humanim insulinima, izračunata je srednja razlika u nivou HbA1c od -0,1% u korist analoga u T1DM. Među pacijentima sa T2DM nije bilo razlika među pacijentima lečenim brzodelujućim insulinskim analogima u poređenju sa humanim regular insulinom [Siebenhofer i sar. 2006]. U sličnoj analizi koja je uključila osam studija koje su poredile dugodelujuće insulinske analoge sa NPH insulinom u obolelih sa T2DM nije bilo klinički značajnih razlika u nivou HbA1c dobijenom sa ova dva tipa insulina [Horvath i sar. 2007]. Značajno je ipak naglasiti da su studije sa bazalnim insulinima načelno dizajnirane tako da se doza titrira po algoritmu, sa ciljem da se kod svih bolesnika dostigne ciljani nivo HbA1c, pa sličan nivo postignutog HbA1c i nije sasvim neočekivan [Gough 2007].

Tri kliničke studije su poredile insulinski režim sa insulinskim analogima (i brzodelujućim i bazalnim) sa režimom sa samo humanim insulinom kod pacijenata sa T1DM [Hermansen i sar. 2004; Murphy i sar. 2003; Ashwell i sar. 2006]. U najvećoj od ove tri studije bazal-bolus režim sa insulinom aspart i insulinom detemir poređen je sa režimom sa regular i NPH humanim insulinom kod 595 pacijenata sa T1DM u trajanju od 18 nedelja [Hermansen i sar. 2004]. Na kraju studije, srednji nivo HbA1c bio je niži u grupi sa aspart/detemir terapijom u odnosu na regular/NPH insulin terapiju (7,88% vs. 8,11%; $p < 0,001$).

U manjoj, ali dužoj po trajanju studiji sa 56 bolesnika sa T1DM, terapijski režim sa insulinom lispro i insulinom glargin postigao je nakon 32 nedelje srednji nivo HbA1c od 7,5% u poređenju sa srednjim nivoom HbA1c od 8% koji je postignut kod bolesnika lečenih humanim regular i NPH insulinom [Ashwell i sar. 2006]. Treća studija sa ukrštenim dizajnom, sprovedena kod 28 adolescenata sa T1DM, nije pokazala statistički značajne razlike u postignutom nivou HbA1c među osobama koje su lečene kombinacijom lispro/glargin u poređenju sa regular/NPH humanim insulinom u trajanju po 16 nedelja (8,7% vs. 9,1%; $p = 0,13$) [Murphy i sar. 2003].

Naši rezultati su pokazali sniženje nivoa HbA1c nakon uvođenja terapije insulinskim analogima. Nakon tri meseca terapije insulinom aspart došlo je do nesignifikantnog sniženja nivoa HbA1c sa početnih $9,28 \pm 1,5\%$ na $8,83 \pm 1,61\%$ ($p=0,159$, ns). Nakon uvođenja i insulina glargin i tromesečne terapije kombinacijom insulinskih analoga (aspart/glargin) došlo je do daljeg signifikantnog sniženja nivoa HbA1c sa $8,83 \pm 1,61\%$ na $8,08 \pm 1,46\%$ ($p<0,01$), odnosno u poređenju na početnu vrednost od $9,28\%$ ($p<0,001$).

Nakon prva tri meseca terapije zabeleženo je značajno sniženje postprandijalnih glikemija posle sva tri glavna obroka. Nije bilo značajnih razlika glikemija našte, pre obroka, pre spavanja i noću, kao ni srednje vrednosti glikemije u profilu. Značajno je bila niža varijabilnost dnevne glikemije mereno vrednošću standardne devijacije vrednosti glikemije u profilima (sa $2,28 \pm 0,78$ mmol/L na $1,90 \pm 0,84$ mmol/L; $p<0,05$).

Srednji porast glikemije nakon obroka (srednja vrednost razlike postprandijalne i preprandijalne glikemije) značajno se smanjio nakon uvođenja insulina aspart kao prandijalnog insulina. Značajne su razlike nakon sva tri obroka pojedinačno i ukupnog postprandijalnog porasta u toku dana. U drugom tromesečnom periodu uz terapiju aspart/glargin nema daljih statistički značajnih razlika u nivou porasta glikemije nakon obroka, ali u poređenju sa početnim vrednostima značajno je manji porast glikemije nakon doručka i naročito ručka, i ukupno postprandijalno u toku dana, ali ne i nakon večere.

Nakon uvođenja i insulina glargin i tromesečne terapije kombinacijom insulinskih analoga (aspart/glargin) došlo je do daljeg signifikantnog sniženja većine vrednosti glikemija u dnevnim profilima, pre svega jutarnje glikemije, srednje vrednosti glikemije u profilima, kao i varijabilnosti dnevne glikemije, jedino se nisu statistički značajno razlikovale vrednosti glikemija posle večere i noću. Sve vrednosti glikemija u profilima na kraju studije bile su statistički značajno niže u odnosu na početne vrednosti, kao i srednje vrednosti glikemije u profilima i varijabilnost dnevne glikemije.

Postprandijalna glikemija se definiše najčešće kao nivo glikemije 2 sata nakon početka obroka. Prema preporukama novog vodiča za praćenje i lečenje postprandijalne glikemije, poželjno je meriti je 1 do 2 sata nakon obroka [International Diabetes Federation 2011b]. Optimalni način za kontrolu i praćenje postprandijalne glikemije prema preporukama je samokontrola glikemije od strane pacijenata aparatima za brzo određivanje glikemije. Raniji terapijski ciljevi predloženi od strane poznatih autoriteta uključuju kao željenu vrednost PPG od $<7,8$ mmol/L [AACE Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task

Force 2007], kao i raniji vodič IDFa [Ceriello i Colagiuri 2008]. Prema preporukama ADA, vrednost ciljne PPG je <10 mmol/L [American Diabetes Association 2012a].

Najnoviji vodič IDFa [International Diabetes Federation 2011b] savetuje da, iako studije u zdravoj populaciji jasno pokazuju da nivo PPG retko prelazi 7,8 mmol/L i vraća se na nivo bazalne glikemije oko tri sata nakon obroka [Polonsky i sar. 1988; Mazze i sar. 2008; Tsujino i sar. 2009], takav nivo u dijabetesnih bolesnika je teško dostižan, pogotovo u smislu bezbednosti, odnosno teško ga je dostići bez velikog rizika od razvoja hipoglikemija. Stoga je prema ovim preporukama, iz razloga bezbednosti, ciljna vrednost PPG <9,0 mmol/L, ukoliko ju je moguće postići uz izbegavanje hipoglikemija.

U novom izdanju našeg nacionalnog vodiča se navodi da je u terapiji pacijenata sa dijabetesom ciljna vrednost postprandijalne glikemije takođe <9,0 mmol/L, sa naznakom da se u T1DM, može tolerisati postprandijalna glikemija <10 mmol/L, ukoliko se ne može postići postprandijalna glikemija prema navedenim kriterijumima bez hipoglikemijskih epizoda [Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse 2012].

Dok su poboljšanja nivoa HbA1c jasno vezana u studijama za manju pojavu klasičnih mikrovaskularnih komplikacija dijabetesa [Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993], sve je više podataka da je redukcija pojave makrovaskularnih komplikacija (ishemijske bolesti srca, cerebrovaskularne bolesti i periferne vaskularne bolesti) možda snažnije vezana za nivo postprandijalne glikemije, naročito u T2DM [Gerich 2003]. Izolovana postprandijalna hiperglikemija (PPG>7,8 mmol/L) kod pacijenata sa normalnom glikemijom našte i optimalnim HbA1c <6,1% povećava dvostruko rizik smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti [Gerich 2003]. U velikim studijama štaviše, u populacijama koje su činili i oboleli od DM i nedijabetičari, nivo PPG (a i glikemije našte) bio je povezan sa ukupnim i kardiovaskularnim mortalitetom [DECODE Study Group, European Diabetes Epidemiology Group 2003; Coutinho i sar. 1999].

U reviji objavljenih studija koje su poredile brzodelujuće insulinske analoge sa humanim insulinom, u bazal-bolus terapiji, brzodelujući insulinski analozi su imali veći uticaj na PPG u svakoj od studija, sa nižim nivoom PPG u odnosu na humane insuline između 0,6 i 2,0 mmol/L [Gough 2007]. U jednoj od najdužih studija (32 nedelje) koja je poredila režim sa insulinskim analogima (lispro/glargin) sa humanim insulinima (regular/NPH humani insulin)

zabeležena je značajno niža PPG AUC uz režim analoga (75 vs. 88 mmol/L/h; $p=0,002$) [Ashwell i sar. 2006].

Naši rezultati su u skladu sa većinom navedenih rezultata iz literature, odnosno uvođenje u terapiju brzodelujućih insulinskih analoga značajno popravlja prandijalnu regulaciju glikemije. U našim rezultatima se to ogleda kroz značajno smanjenje nivoa postprandijalne glikemije posle sva tri glavna dnevna obroka u dnevnim profilima glikemija, kao i kroz smanjenje prandijalnog porasta glikemije nakon sva tri obroka pojedinačno i ukupnog prosečnog prandijalnog porasta glikemije tokom dana.

Strah od hipoglikemije i strah od problema udruženih sa hipoglikemijom (mogućnost nesreće, recimo na poslu ili saobraćajne, kome pa i smrti), ostaje osnovna psihološka barijera za težnje da se postiže sve niža, odnosno sve bolja glikemija, u novim pristupima i težnji ka agresivnoj glikemijskoj kontroli. Pojava teških hipoglikemija bila je tri puta češća u intenzivno tretiranoj grupi u poređenju sa konvencionalno tretiranom grupom u DCCT-u. Štaviše, rizik od hipoglikemija je rastao iz meseca u mesec, kako su se vrednost HbA1c smanjivale [Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993].

U studiji u jednom velikom centru, koja je praktično nastavila praćenje bolesnika nakon DCCT-a, praćeni su parametri kontrole dijabetesa i HbA1c kod 884 pacijenta sa T1DM od 1993. do 1998. godine [Chase i sar. 2001]. U periodu od 1993. do 1996. godine nivo HbA1c je nastavio da se značajno snižava, ali je ovaj trend bio udružen sa značajnim porastom broja teških hipoglikemija ($p<0,001$). Počev od jeseni 1996. godine, velika većina pacijenata, njih 676, je prevedena na lispro insulin, kada je postao dostupan po prvi put. Od tada se nivo HbA1c kod ovih bolesnika i dalje značajno poboljšavao ($p<0,001$), ali se nije nastavio odgovarajući trend porasta broja teških hipoglikemija ($p=0,26$). Štaviše, nivo HbA1c se nije dalje popravljao kod bolesnika koji su ostali na terapiji humanim regular insulinom. Ovi nalazi su sugerisali da intenzivna terapija insulinskim analogima možda nije udružena sa istim rizicima za hipoglikemiju kao stariji režimi insulinske terapije humanim insulinima [Chase i sar. 2001].

U revijalnoj analizi studija (The Cochrane review) ustanovljena je niža medijana incidence teških hipoglikemijskih epizoda sa brzodelujućim insulinskim analogima na 100 pacijent/godina (21,8; opseg od 0 do 247,4) u poređenju sa humanim insulinom (46,1; opseg od 0 do 544) [Siebenhofer i sar. 2006]. Takođe je i analiza studija sa dugodelujućim insulinskim analogima ustanovila značajno niži rizik od noćnih hipoglikemija, kod pacijenata

lečenih insulinom glargin ($p=0,00003$) i insulinom detemir ($p<0,00001$) u poređenju sa NPH insulinom. Rizik od simptomatskih hipoglikemija bio je takođe niži i za insulin glargin u poređenju sa NPH insulinom ($p=0,005$), i za insulin detemir ($p=0,00003$) [Horvath i sar. 2007]. Stopa teških hipoglikemija je bila niža sa oba bazalna insulinska analoga u poređenju sa NPH insulinom, mada nije dosegnut prag statističke značajnosti ($p=0,2$).

Naši rezultati pokazali su značajno sniženje broja hipoglikemija nakon uvođenja u terapiju insulinskih analoga. Ukupan broj hipoglikemija je manji nakon tri meseca i uvođenja insulina aspart u terapiju (nalaz nešto iznad granice značajnosti, $p=0,06$), a smanjuje se naročito nakon uvođenja u terapiju insulina glargin, odnosno ukupan broj hipoglikemija izražen kao broj hipoglikemija po pacijent/mesecu je manji na kraju studije i u odnosu na prva tri meseca terapije, a naročito u odnosu na period pre uvođenja analoga u terapiju ($p<0,001$). Značajne su razlike pre svega u broju simptomatskih hipoglikemija, koji se smanjuje i nakon tri meseca terapije i na kraju šestog meseca. Broj asimptomatskih hipoglikemija je manji na kraju studije u odnosu na prva tri meseca terapije i u odnosu na početak studije, dok nema razlike broja asimptomatskih glikemija nakon tri meseca u odnosu na početak. Ovaj podatak bi se mogao sagledati u sklopu ukupnog smanjenja broja hipoglikemija, i simptomatskih i asimptomatskih, i eventualno bi mogao da se tumači boljim prepoznavanjem hipoglikemija koje je opisano kod obolelih kod kojih se dobrom kontrolom i izbegavanjem hipoglikemija popravljaju autonomni odgovor na hipoglikemiju i njeno prepoznavanje [Fanelli i sar. 1993; Fanelli i sar. 1994; Cranston i sar. 1994; Dagogo-Jack i sar. 1994]. Za ovaj efekat je potrebno izvesno vreme za ispoljavanje i stoga se je eventualno značajnije iskazao u drugoj polovini naše studije. Broj noćnih hipoglikemija takođe nije pokazao promene nakon prva tri meseca terapije, ali je nakon uvođenja u terapiju insulina glargin broj noćnih hipoglikemija značajno niži i u odnosu na momenat pre njegovog uključivanja i u odnosu na početak studije, odnosno na period terapije samo humanim insulinima ($p<0,001$). Ova istaknuta i jako značajna prednost insulina glargin u odnosu na humane bazalne insuline se slaže sa ranijim saopštenjima, i u svetu i u našoj sredini [Ratner i sar. 2000; Pešić i sar. 2007]. U tom kontekstu i podatak da je na kraju studije nivo skoro svih glikemija u dnevnim profilima bio niži u odnosu na period nakon tri meseca, sem noćne glikemije, treba sagledati kao prednost insulina glargin u smislu njegove bolje bezbednosti, jer je noćni period u kontekstu pojave hipoglikemija svakako najosetljiviji i najopasniji po bolesnike.

Veći broj studija je pokazao da dijabetesni bolesnici koji koriste insulinske analoge opisuju veće zadovoljstvo terapijom u odnosu na one koji koriste humane insuline [Sheldon i sar. 2009].

U prospektivnoj, multicentričnoj, randomizovanoj otvorenoj studiji sa paralelnim grupama, koja je uključila 423 pacijenta sa T1DM na bazal bolus terapiji, učesnici su dobili ili insulin aspart ili humani insulin kao bolusni insulin. Zadovoljstvo terapijom je procenjeno upotrebom The World Health Organization Diabetes Treatment Satisfaction Questionnaire – WHO DTSQ [Tamás i sar. 2001]. Ukupan skor odgovora na pitanje koje se odnosi na percepciju hiperglikemije bio je niži u grupi lečenih insulinom aspart, što ukazuje da su ti bolesnici imali osećaj, da je neprihvatljivo visok nivo glikemije bio manje izražen nego kod bolesnika lečenih humanim insulinom ($p=0,005$). Grupa bolesnika lečena insulinom aspart je takođe istakla veći stepen fleksibilnosti terapije u poređenju sa onima lečenim humanim insulinom ($p=0,022$).

U prospektivnoj studiji koja je trajala 6 meseci i koja je vođena u 88 centara u 8 zemalja Evrope, 1070 odraslih pacijenata sa T1DM je randomizovano u odnosu 2:1 na terapiju insulinom aspart ili humanim insulinom pred obroke, a sve uz NPH insulin kao bazalni insulin. Zadovoljstvo terapijom, iskazano kroz rezultate upitnika WHO DTSQ je bilo značajno veće u grupi koja je koristila insulin aspart (razlika u skor u odnosu na početni 2,3 poena; $p<0,001$) [Home i sar. 2000].

Treća studija koja je poredila kvalitet života i imala crossover dizajn, uključila je 468 pacijenata sa T1DM, koji su bili po tri meseca na terapiji bilo insulinom lispro ili regular humanim insulinom kao delom bazal-bolus režima insulinske terapije. Zadovoljstvo terapijom u grupama lečenim insulinom lispro se uvećavalo značajno u poređenju na period lečenja humanim insulinom ($p<0,001$). Skor koji se odnosi na fleksibilnost terapije bio je značajno veći sa insulinom lispro ($p=0,001$) [Kotsanos i sar. 1997].

Kod naših bolesnika sproveli smo testiranje standardnim upitnikom za procenu zadovoljstva terapijom (WHO DTSQ). Ukupan skor na pitanja o zadovoljstvu terapijom je značajno viši nakon prva tri meseca terapije u odnosu na skor pre početka terapije analogima, a nakon šest meseci ukupan skor je još viši, značajno viši u odnosu na skor pre početka terapije analogima, ali bez statistički značajne razlike u odnosu na skor nakon prva tri meseca terapije. Skor na pitanje o percepciji hiperglikemije je značajno niži nakon šest meseci terapije, odnosno nakon uvođenja insulina glargin, i to u odnosu na skor na početku terapije i

nakon trećeg meseca. Identičan rezultat je pokazalo i pitanje o hipoglikemiji na koje je značajno niži skor zabeležen na kraju studije. Ovi rezultati ukazuju da i sami pacijenti percipiraju poboljšanje glikoregulacije i smanjenje broja hipoglikemija, koje donosi terapija insulinskim analogima, i koje se registruje rezultatima ovog rada, a i izražavaju veće zadovoljstvo ovim vidom terapije.

Brojne su studije dokumentovale da je poboljšanje glikoregulacije koje se postiže primenom insulina (ali i oralnih antidijabetika) često udruženo sa neželjenim efektom na porast telesne težine [Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993; Purnell i Weyer 2003]. U DCCT-u je čak i blagi porast telesne težine imao negativan uticaj na lipidni profil i sistolni krvni pritisak [Purnell i sar. 1998]. Intenzivna insulinska terapija je takođe korelirana sa kompleksnim promenama u markerima inflamacije, koje su potencijalno zavisne od stepena dobitka telesne težine, a mogu predstavljati rizik za razvoj ateroskleroze [Schaumberg i sar. 2005].

Dobijanje u telesnoj težini koje je uzrokovano insulinom pripisuje se smanjenju urinarne ekskrecije glukoze (kalorijska retencija) i smanjenju metaboličke stope, gde su oba direktna posledica poboljšanja glukoznog metabolizma [Hermansen i sar. 2007; Jacob i sar. 2006]. Takođe postoje postulati da se dobitak u telesnoj težini, koji se primećuje uz poboljšanje glikoregulacije, i u T1DM i u T2DM, može smatrati takozvanim „catch-up“ dobitkom telesne težine, odnosno da odgovara vraćanju na potencijalnu telesnu težinu koju bi osoba imala da nema dijabetes [Larger 2005]. Insulinu je inherentna anabolička aktivnost i u masnom tkivu, ali i u mišićnom tkivu, pa se ona može označiti odgovornom za prolongirane periode dobijanja u telesnoj težini i posle inicijalne faze, za „glikoregulaciju vezanog“ dobitka telesne težine, odnosno ponovnog dobitka telesne težine (weight gain or re-gain) [Sallé i sar. 2005]. Postoji i takozvano „odbrambeno grickanje“ („defensive snacking“ behaviors), koje je rukovođeno strahom od hipoglikemija i koje takođe može značajno da doprinese dobitku telesne težine kod pacijenata na terapiji insulinom.

Ironično je da su pacijenti koji su u najvećem riziku od dobijanja u telesnoj težini oni koji imaju i najveću potrebu za insulinom (T2DM loše regulisani oralnom terapijom), oni koji su motivisani da otpočnu intenzivnu terapiju insulinom i oni koji dobro odgovaraju na tretman [Hermansen i sar. 2007]. Čak se kao glavni prediktori dobitka telesne težine opisuju visoka inicijalna glikemija i stepen popravljavanja glikoregulacije [Larger 2005; Yki-Järvinen i sar. 2000]. Još jedna neželjena karakteristika je i ta da je stopa dobitka telesne težine najveća

u početnim mesecima terapije kada se i glikemijska kontrola bolesti dramatično koriguje [Hermansen i Davies 2007].

Dokora se smatralo da je dobijanje u TT nezaobilazna posledica insulinske terapije. Međutim, zbog razloga koji nisu još uvek sasvim jasni, dugodelujući insulinski analog detemir, prema rastućem broju dokaza ima u stvari povoljniji efekat da ne izaziva takav porast. Mehanizmi iza ovog efekta insulina detemir nisu u potpunosti jasni. U odnosu na druge preparacije humanih dugodelujućih insulina, detemir je udružen sa manjim brojem hipoglikemija, što je konzistentno sa njegovom većom farmakokinetikom predvidljivošću dejstva i ravnomernijim profilom dejstva tokom vremena. Za insulin glargin je takođe pokazano da redukuje rizik od hipoglikemija u poređenju sa NPH insulinom, ali je uprkos tome i dalje povezan sa porastom TT [Ratner i sar. 2000; Yki-Järvinen i sar. 2000].

Naši rezultati su pokazali manje pozitivne promene TT naših bolesnika, koja je bila 70,43 kg na početku terapije, 70,49 kg nakon prva tri meseca a 69,96 kg nakon šestog meseca, i razlika u TT od -0,53 kg na kraju u odnosu na TT pre uvođenja insulina glargin statistički značajna na nivou statističke značajnosti od $p < 0,01$, odnosno u odnosu na početnu TT razlika od -0,47 kg je na nivou statističke značajnosti od $p < 0,05$. Ovo isto važi za razliku nivoa IMT. Činjenica da poboljšanje glikoregulacije u prva tri meseca nije bilo praćeno značajnom promenom, odnosno značajnim porastom TT, je pozitivna za insulin aspart. Dodatno i još značajnije poboljšanje glikoregulacije nakon uvođenja insulina glargin, koje je čak bilo praćeno malim, ali značajnim padom TT, opravdava tvrdnje da bazalni insulinski analozi u odnosu na NPH insulin imaju značajno povoljniji efekat na TT bolesnika. Neutralnost u pogledu TT novih preparacija insulina, koja se notira i kod naših bolesnika je jedna od značajnijih prednosti insulinskih analoga u odnosu na humane insuline.

Činjenicu da smo kod naših bolesnika zabeležili diskretan, ali značajan pad TT uz jasno i veoma značajno poboljšanje glikoregulacije, možemo tumačiti i kroz analizu ukupne dnevne doze insulina. Naime, naši rezultati pokazuju smanjenje ukupne dnevne doze insulina sa 59,88 J na 58,73 J nakon tri meseca terapije ($p = ns$), odnosno na 56,86 J na kraju studije ($p < 0,01$ u odnosu na tri meseca i $p < 0,001$ u odnosu na početak studije). Postizanje istog ili čak i boljeg stepena glikoregulacije (kao u našoj studiji) uz manje doze insulina je još jedna od prednosti insulinskih analoga. Smanjenje doze u našoj studiji je pre svega na račun smanjenja bolusnog, brzog insulina. Doza bolusa na početku studije od 34,29 J je pala na 31,55 J nakon tri meseca, a na 29,22 J na kraju studije (sve ove razlike su visoko statistički značajne, $p < 0,001$). Nasuprot ovom, doza bazalnog insulina je sa početnih 25,59 J povećana

na 27,18 J nakon tri meseca ($p < 0,001$), a potom na 27,63 J ($p = ns$ u odnosu na vrednost nakon tri meseca). Može se zaključiti da je efekat brzog, bolusnog insulina potencijalno onaj, koji vezujemo za porast apetita, povećanje unosa hrane i konsekventni porast TT. Činjenica da se taj efekat ispoljava pre svega nakon promene bazalnog insulina i uvođenja insulina glargin u terapiju, potvrđuje činjenicu da je neophodna dobra bazalna insulinizacija, koja će omogućiti dobru početnu jutarnju glikemiju i ravnomernu insulinizaciju između obroka. Na taj način se doze bolusa mogu prilagoditi planiranom kalorijskom unosu, odnosno veličini obroka, i tako nema zaostajanja dejstva bolusnog insulina nakon obroka i potrebe za dodatnim unosom hrane, što potencijalno može dovesti do porasta TT. U prilog ovom govori i značajno smanjenje varijabilnosti dnevne glikemije, koje se beleži i nakon tri meseca terapije i na kraju studije.

Do sada je više puta istaknuto da stanje hronične inflamacije niskog stepena, praćeno porastom cirkulatornog nivoa inflamatornih markera, u prvom redu CRP, predstavlja rizik za razvoj različitih hroničnih komplikacija.

C-reaktivni protein je reaktant akutne faze koji se sintetiše u najvećoj meri u jetri, regulisan predominantno od cirkulišućeg nivoa IL-6, iako i IL-1 i TNF- α mogu da indukuju hepatsku ekspresiju iRNK za CRP [Yudkin i sar. 1999]. Sve više je dokaza da povišeni nivo CRP postaje jedan od najsnažnijih nezavisnih prediktivnih faktora za koronarnu bolest srca [Ridker 2003], što pokazuju njegove korelacije sa IBS u većem broju prospektivnih populacionih studija, uključujući: the US Physicians Health Study, the monitoring of trends and determinants in cardiovascular disease (MONICA)-Augsburg Cohort Study, the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) study, the Women's Health Study [Ridker 2003; Visser i sar. 1999].

Podaci ukazuju da je stanje perzistentnog povećanja nivoa cirkulatornih markera inflamacije, čak i u opsegu klinički referentnih vrednosti, zapravo stanje rizika za kardiovaskularne bolesti, kako u sredovećnih [Rost i sar. 2001; Pradhan i sar. 2002; Pai i sar. 2004] tako i u starijih osoba [Gussekklo i sar. 2000; Cesari i sar. 2003; Tice i sar. 2003; Cao i sar. 2003].

Centar za kontrolu i prevenciju bolesti iz SAD (US Centers for Disease Control and Prevention) i Američka asocijacija za srce (The American Heart Association) ukazuju da osobe sa vrednostima CRP u gornjem tercilu za adultnu populaciju ($>3,0$ mg/L) imaju

dvostruko veći kardiovaskularni rizik u odnosu na osobe kod kojih je vrednost CRP manja od 1,0 mg/L [Pearson i sar. 2003].

C-reaktivni protein nije samo inflamatorni marker, već i direktni učesnik u procesu aterogeneze, tako što dovodi do modulacije endotelne funkcije. U kulturi endotelijalnih ćelija, CRP u koncentracijama za koje je poznato da predviđaju kardiovaskularne događaje, indukuje ekspresiju VCAM-1, ICAM-1, selektina i MCP-1, preko porasta sekrecije endotelina 1, potentnog endogenog vazokonstriktora, i IL-6 [Pasceri i sar. 2000; Verma i sar. 2002a]. C-reaktivni protein umanjuje bazalnu i stimulisanu endotelijalnu produkciju NO smanjujući (down regulacijom) ekspresiju iRNK za NO sintazu u endotelnim ćelijama [Verma i sar. 2002b]. Interesantan je i podatak, da hiperglikemija potencira efekat CRP na endotelnu disfunkciju i da se ovi efekti smanjuju pod dejstvom tiazolidindiona (insulin senzitivizujućih lekova) [Verma i sar. 2003]. C-reaktivni protein može imati koordinišuću ulogu povećavajući proinflamatornu aktivnost drugih adipokina. Na primer, CRP povećava ekspresiju i aktivnost PAI-1 u endotelijalnim ćelijama [Devaraj i sar. 2003].

Naši rezultati pokazuju statistički značajno smanjenje nivoa CRP u prva tri meseca sa 3,43 mg/L na 2,25 mg/L ($p < 0,001$), što se održava do kraja studije i u naredna tri meseca (2,07 mg/L; $p < 0,001$ u odnosu na početak, $p = ns$ u odnosu na vrednost posle trećeg meseca). Ovakvo smanjenje CRP, odnosno stepena inflamacije je pre svega povezano sa smanjenjem prandijalnog stresa, odnosno vrednosti postprandijalnih glikemija i prandijalnog porasta (inkrementa) glikemije. Studije podržavaju dokaze da akutna hiperglikemija tokom hiperglikemijskog klampa [Esposito i sar. 2002] ili u postprandijalnom stanju [Nappo i sar. 2002] može povećati produkciju plazmatskih inflamatornih citokina, kakvi su IL-6, TNF- α i IL-18, a koncept da je ateroskleroza inflamatorna bolest i u dijabetesu je potvrđen [Plutzky 2004].

Zabeleženo smanjenje nivoa CRP se takođe može dovesti u vezu i sa nalazom diskretne redukcije TT i smanjenja ukupne dnevne doze insulina, što odgovara dosadašnjim saopštenjima u kojima je intenzivna insulinska terapija takođe korelirana sa kompleksnim promenama u markerima inflamacije, koje su potencijalno zavisne od stepena dobitka telesne težine, a mogu predstavljati rizik za razvoj ateroskleroze [Schaumberg i sar. 2005]. U ovoj analizi podgrupa iz DCCT studije, među onima koji su bili na IIT, nivo hsCRP je porastao kod onih koji su najviše dobili na TT, dok se je smanjio među onima koji su bili u najnižoj trećini dobitka TT. U zaključku se navodi da je IIT u pacijenata sa T1DM snizila nivo sICAM-1, a povisila nivoe sTNF-R1 i hsCRP među onima koji su dobili na TT, i da ovi

podaci pokazuju da je efekat IIT na inflamaciju kompleksan i, obzirom da je hsCRP rizikofaktor, sugerišu da rizik od ateroskleroze među dijabetesnim pacijentima može biti pod uticajem stepena dobitka u TT kada su na IIT.

Urađena analiza vrednosti standardnih biohemijskih parametara nije pokazala značajnije razlike u praktično svim ovim parametrima, što odgovara dosadašnjim saopštenjima o bezbednosti terapije insulinskim analogima. Kako bismo procenili eventualne poremećaje hematoloških parametara rađena je kompletna krvna slika (nivo hemoglobina i broj eritrocita, leukocita i trombocita) i svi parametri nisu pokazali promene tokom studije. Od standardnih laboratorijskih analiza seruma rađeni su urea, kreatinin, urati, ukupni proteini, albumini, ukupni holesterol, HDL holesterol, LDL holesterol, trigliceridi i ni među ovim parametrima nije bilo značajnijih razlika tokom studije.

Od standardnih enzima određivani su enzimi intraćelijskog metabolizma: aminotransferaze (AST i ALT), laktat dehidrogenaza (LDH) i kreatin kinaza (CK). Rezultati određivanja aktivnosti enzima intraćelijskog metabolizma ne pokazuju veće statistički značajne razlike tokom studije, sem što postoji diskretna razlika u nivou AST u smislu manjeg pada i što postoji diskretna razlika u nivou LDH u smislu diskretnog porasta, ali sve u granicama referentnih vrednosti, što znači da je održana osnovna homeostaza ćelija. Određivani su i membranski enzimi: alkalna fosfataza (ALP) i gama glutamil transpeptidaza (GGT). Takođe, ni membranski enzimi ne pokazuju razlike u aktivnosti, što upućuje na zaključak da na membranama ne dolazi do oštećenja koja bi bila detektibilna određivanjem ovih enzima.

Dijabetesno stanje je udruženo sa povećanjem oksidativnog stresa, koji igra važnu ulogu u razvoju hroničnih dijabetesnih komplikacija. Dijabetesne komplikacije karakteriše endotelna (vaskularna) disfunkcija. Brojne su studije koje sugerišu da RVK igraju važnu ulogu u patogenezi dijabetesne vaskularne disfunkcije i da putevi razvoja dijabetesnih komplikacija imaju bliske veze sa oksidativnim stresom [Brownlee 2001]. Povišena glukoza u krvi pre svega dovodi do povećane produkcije RVK u mitohondrijama. Superoksid anjon je slobodni radikal koji u reakciji sa NO produkuje peroksinitrit. Peroksinitrit indukuje oštećenje ćelije kroz sniženje tetrahidrobiopterina (BH₄), kofaktora za endotelnu izoformu NOS (eNOS). Putevi ćelijskog oštećenja peroksinitritom uključuju i kidanje lanaca DNK, aktivaciju nuklearnog enzima poli (ADP ribozo) polimeraze (PARP) i inhibiciju enzima gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaze (GAPDH). Takođe, ovo podrazumeva i aktivaciju „klasičnih“ puteva dijabetesnih komplikacija, uključujući poliolski put, put uznapredovalih

produkata glikozilacije (AGE), put aktivacije protein kinaze C (PKC) i heksozaminski put. Aktivacija PARP može takođe da dovede do povećanja (ushodne regulacije) različitih proinflamatornih puteva koji vode do patološke modifikacije ekspresije adhezivnih molekula, angiogeneze i drugih procesa [Pitocco i sar. 2010].

U više navrata je naglašeno da postoji jasan odnos između dugotrajne glikemijske kontrole i razvoja dijabetesnih komplikacija i to ne samo mikrovaskularnih, već i makrovaskularnih [Kannel i McGee 1979; Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993; Laakso 1999]. Vaskularne endotelne ćelije su važna meta hiperglikemijskog oštećenja, ali sami mehanizmi tog oštećenja i dalje nisu u potpunosti rasvetljeni [De Vriese i sar. 2000].

Postoje sugestije da u dijabetesu ključnu ulogu u patogenezi vaskularnih komplikacija igra oksidativni stres, i to i u razvoju mikrovaskularnih, i u razvoju makrovaskularnih komplikacija, a da je rani marker tog oštećenja endotelna disfunkcija [Giugliano i sar. 1996; Cai i sar. 2000]. Sa druge strane, uloga oksidativnog stresa u dijabetesu se dovodi u pitanje rezultatima intervencionih studija sa antioksidantima, koje su delom neuspešne i delom bez jasnih rezultata [Marchioli i sar. 2001].

Rezultati studija su doveli do pogleda na ulogu oksidativnog stresa u razvoju dijabetesnih komplikacija koji otvara mogućnosti za inovativne terapijske pokušaje potencijalno kauzalnog antioksidativnog tretmana.

Vaskularna funkcija je dosta istraživana u dijabetesu, i u animalnim modelima i kod ljudi. Poremećaj endotel-zavisne vazodilatacije je stalni nalaz u animalnim modelima dijabetesa izazvanim aloksanom ili streptozotocinom [Meraji i sar. 1987; Mayhan 1989]. Slično ovom, i u studijama kod obolelih i od T1DM i T2DM utvrđeno je postojanje endotelne disfunkcije u poređenju sa nedijabetičarima [Johnstone i sar. 1993; McVeigh i sar. 1992]. In vitro studije sugerišu direktnu ulogu hiperglikemije kroz dokaze da arterije izolovane iz normalnih životinja i izložene egzogenoj hiperglikemiji, pokazuju oslabljenu endotel zavisnu relaksaciju [Bohlen i Lash 1993]. Slično ovom, u in vivo studijama, pokazano je da hiperglikemija direktno uzrokuje endotelnu disfunkciju i kod zdravih i kod dijabetičara [Giugliano i sar. 1997; Kawano i sar. 1999].

Podaci da je i in vitro i in vivo moguće oponirati akutni efekat hiperglikemije antioksidansima, ukazuju na ulogu slobodnih radikala, proizvedenih pod uticajem hiperglikemije, u nastanku endotelne disfunkcije [Tesfamariam i Cohen 1992; Beckman i sar.

2001; Ting i sar. 1996]. Ukazuje se na ključnu ulogu produkcije superoksida u mitohondrijama endotelnih ćelija u patogenezi dijabetesnih komplikacija [Brownlee 2001]. Ovaj mehanizam je u skladu sa četiri puta koji se navode kao važni u razvoju dijabetesnih komplikacija (povećani fluks kroz poliolski put, povećana produkcija uznapredovalih produkata glikozilacije, aktivacija protein kinaze C i povećani fluks kroz heksozaminski put) i ova hipoteza ih objedinjuje kroz efekat hiperglikemije na ćelijsku disfunkciju [Du i sar. 2000; Nishikawa i sar. 2000]. In vitro studije su sprovedene na endotelnim ćelijama koje su podvrgnute različitim fiziološki relevantnim nivoima glikemije u modelima koji su procenjivali vaskularni odgovor na hiperglikemiju, jer glukozni transporter nezavisan od insulina GLUT1 ubrzava difuziju glukoze u ćelije endotela. Pokazano je da je u prisustvu visokih nivoa glukoze, stvaranje reaktivnih vrsta kiseonika, a naročito superoksid anjona povećano [Nishikawa i sar. 2000]. Postoji više mehanizama potencijalno odgovornih za produkciju slobodnih vrsta kiseonika u ćeliji. Među njima su NAD(P)H oksidaza, respiratorni lanac mitohondrija, ksantin oksidaza, kaskada arahidonske kiseline (lipooksigenaza i ciklooksigenaza) i mikrozomalni enzimi [Cross i Jones 1991]. U radovima Brownlee-a i saradnika utvrđeno je da je glavni izvor slobodnih radikala u endotelnim ćelijama, inkubiranim u sredini sa visokim nivoom glukoze, transport piruvata nastalog iz glikolize, u mitohondrije, na nivou kompleksa II (sukcinat/ubikvinon oksidoreduktaza), jednog od četiri kompleksa koji su asocirani sa unutrašnjom membranom i zaduženi za oksidativnu fosforilaciju. Podaci ukazuju da, bar u ćelijskoj kulturi, u uslovima koji imitiraju fiziološku hiperglikemiju, endotelne ćelije ne mogu da kontrolišu svoj apetit za glukozu. Povećani fluks glukoze kroz glikolizu i usmeravanje tako stvorenog piruvata kroz ciklus trikarbonskih kiselina dovodi do preopterećenja mitohondrija, što dovodi do ekscesivnog stvaranja slobodnih radikala [Nishikawa i sar. 2000]. Iako je pokazano da postoji fiziološka uloga slobodnih radikala u prenosu signala, njihova stalna i prekomerna produkcija u endotelnim ćelijama, kada su izložene visokom nivou glukoze, svakako ima značajan efekat na integritet i svojstva ćelija. Svaki od puteva za koje se smatra da učestvuju u razvoju dijabetesnih komplikacija može se dovesti u vezu, odnosno potiče od jedinstvenog zajedničkog mehanizma [Brownlee 2001]. Centralni doprinos radova Brownlee-a i saradnika je da supresija intracelularne produkcije slobodnih radikala korišćenjem niskomolekularnih inhibitora ili ekspresijom antioksidantnog enzima mangan superoksid dizmutaze, prevenira svaki od ovih događaja, odnosno sledi da stvaranje oksidanasa indukovano glukozom predstavlja prvi korak u oštećenju ćelije [Nishikawa i sar. 2000].

Aktivacija nuklearnog faktora NF- κ B pomoću slobodnih radikala povezuje hiperglikemiju sa ekspresijom brojnih gena uključenih u vaskularni odgovor na stres [Collins 1993].

Iako je povećana produkcija superoksida pod uticajem hiperglikemije ključni događaj u aktivaciji drugih mehanizama u patogenezi dijabetesnih komplikacija, ona predstavlja samo prvi korak u nastanku endotelne disfunkcije u dijabetesu. Produkcija NO igra centralnu ulogu u modulaciji endotelne funkcije [Moncada i Higgs 1991]. On se stvara iz amino-kiseline L-arginina od strane enzima azot oksid sintaze (NOS), koji ima tri izoforme, konstitutivne iz neurona (nNOS) i endotela (eNOS) i inducibilnu (iNOS) [Nathan i Xie 1994]. Ova poslednja (iNOS) biva indukovana de novo različitim stimulusima, uključujući i hiperglikemiju [Baek i sar. 1993], dok superoksid generisan u mitohondrijama može inhibisati eNOS, iako se i dalje dovoljno produkuje NO [Du i sar. 2001].

Superoksid anjon može neutralisati NO i tako smanjiti efikasnost potentnog sistema vazodilatacije porekla iz endotela, koji učestvuje u održanju osnovne homeostaze vaskulature [Benz i sar. 2002]. Postoje dokazi da tokom hiperglikemije postoji smanjena raspoloživost NO [Giugliano i sar. 1997].

Aktivacija protein kinaze C zbog prekomerne produkcije superoksida indukuje de novo sintezu enzima NAD(P)H oksidaze koji značajno doprinosi produkciji još više superoksidnih anjona [Hink i sar. 2001]. Hiperglikemija takođe, preko aktivacije NF- κ B, pojačava prekomernu ekspresiju i NAD(P)H i iNOS. Prekomerna ekspresija iNOS je udružena sa povećanom produkcijom NO [Spitaler i Graier 2002]. Prekomerna produkcija superoksida, kada je udružena sa prekomernom produkcijom NO, dovodi do formiranja snažnog oksidansa peroksinitrita, koji sa svoje strane snažno oksiduje kofaktor iNOS tetrahidrobiopterin u dihidrobiopterin [Beckman i Koppenol 1996; Guzik i sar. 2002]. U uslovima deficita tetrahidrobiopterina iNOS je u tzv. uncoupled stanju, što znači da elektroni koji prelaze sa reduktaza domena iNOS na oksigenaza domen iNOS bivaju usmereni na molekularni kiseonik umesto na L-arginin, što dovodi do toga da se produkuje superoksid umesto NO [Brodsky i sar. 2002; Cosentino i sar. 1997]. Izlaganje peroksinitritu tokom hiperglikemije takođe promovise „uncoupled“ stanje eNOS, verovatno preko smanjenja cinka u enzimu što stimuliše prekomernu produkciju superoksida [Zou i sar. 2002]. Tako je u hiperglikemijskim stanjima pokazano da postoji prekomerna produkcija i superoksida i NO, sa trostrukim porastom produkcije superoksida [Cosentino i sar. 1997]. To favorizuje produkciju toksičnog reaktivnog proizvoda, peroksinitritnog anjona. Peroksinitrit je

citotoksičan jer oksiduje sulfhidrilne grupe u proteinima, inicira lipidnu peroksidaciju i vrši nitrovanje amino-kiselina kakav je tirozin, što utiče na mnoge puteve signalne transdukcije [Beckman i Koppenol 1996]. Produkcija peroksinitrita se može indirektno procenjivati određivanjem prisustva nitrotirozina [Ischiropoulos 1998].

U obolelih od dijabetesa su pokazani povišeni nivoi nitrotirozina i dokazana povišena produkcija nitrotirozina u dijabetesu [Ceriello i sar. 2001]. U više radova je pokazano da je u ovome direktna uloga hiperglikemije. Pokazana je produkcija nitrotirozina u zidu arterija majmuna tokom hiperglikemije [Pennathur i sar. 2001], takođe i u plazmi zdravih osoba tokom hiperglikemijskog klampa [Marfella i sar. 2001], kao i kod dijabetičara tokom porasta postprandijalne hiperglikemije [Ceriello i sar. 2002a]. Hiperglikemija je takođe povezana i sa prekomernim nakupljanjem nitrotirozina u perfundovanom srcu pacova koje radi, i to je povezano sa dizbalansom u produkciji NO i superoksida zbog prekomerne ekspresije iNOS [Ceriello i sar. 2002b]. Formiranje nitrotirozina je praćeno razvojem endotelne disfunkcije i u zdravih osoba i u koronarnim arterijama perfundovanog srca [Pennathur i sar. 2001; Ceriello i sar. 2002b], i ovaj efekat nije iznenađujuć obzirom da je pokazano da nitrotirozin može biti direktno štetan za endotelne ćelije [Mihm i sar. 2000].

Toksični efekti nitrotirozina, a samim tim verovatno i peroksinitrita, su pokazani rezultatima studija. Povećana apoptoza miocita, endotelnih ćelija i fibroblasta iz biopsija srca dijabetesnih bolesnika [Frustaci i sar. 2000], iz srca pacova sa streptozotocinom indukovanim dijabetesom [Kajstura i sar. 2001] i iz perfundovanih srca pacova koja rade tokom hiperglikemije [Ceriello i sar. 2002b], je bila udružena sa nivoom nitrotirozina otkrivenim u tim ćelijama.

Peroksinitrit je potentan inicijator kidanja jednog lanca DNK, što je obavezno stimulus za aktivaciju nuklearnog enzima poli (ADP-ribozo) polimeraze [Garcia Soriano i sar. 2001]. U uslovima hiperglikemije dolazi u endotelnim ćelijama do stvaranja reaktivnih vrsta kiseonika i azota i potom brzo nastupa, kroz oštećenje DNK, aktiviranje ovog enzima [Soriano i sar. 2001a]. Uloga hiperglikemije i sa njom povezanog oksidativnog stresa u oštećenju DNK je pokazana u studiji, gde je dokazano povećano prisustvo 8-hidroksiguanina i 8-hidroksideoksiguanozina, koji su markeri oksidativnog oštećenja DNK, u plazmi i tkivima dijabetesnih pacova. Ove povećane koncentracije se mogu smanjiti korekcijom hiperglikemije ili upotrebom antioksidanasa (vitamina E i probukola) [Park i sar. 2001].

Aktivacija PARP smanjuje intracelularnu koncentraciju svog supstrata NAD^+ čime se smanjuje stopa glikolize, transporta elektrona i produkcije ATP, i vrši ADP-ribozilaciju GADPH [Kamoshima i sar. 1997]. Ovaj proces dovodi do akutne endotelne disfunkcije u dijabetesnim krvnim sudovima. Potvrda za ove događaje je postojanje mogućnosti da se dijabetesna endotelna disfunkcija normalizuje korišćenjem specifičnog inhibitora PARP (PJ34) [Soriano i sar. 2001b; Pacher i sar. 2002].

U in vivo uslovima, ni superoksid ni NO nisu izrazito toksični, jer postoje efikasni načini da se minimizira njihova akumulacija [Beckman 1996]. Superoksid se brzo uklanja visokom aktivnošću enzima koji ga metabolišu, pre svega superoksid dizmutazama, čiji izoenzimi postoje u mitohondrijama, citoplazmi i ekstracelularnom prostoru. Azot monoksid se brzo uklanja zahvaljujući svojoj brznoj difuziji kroz tkiva do eritrocita u kojima se brzo konvertuje u nitate reakcijom sa oksihemoglobinom [Butler i sar. 1998; Joshi i sar. 2002]. Ovo ograničava biološki poluživot NO in vivo na manje od sekunde. Međutim, ukoliko se superoksid i NO sintetišu u blizini jedan do drugog, na razdaljini od nekoliko ćelijskih dijametara, kombinuju se spontano i formiraju peroksinitrit u reakciji koju limitira samo brzina difuzije [Huie i Padmaja 1993]. U suštini, svaki put kada se NO i superoksid sudare formira se peroksinitrit. Nije potreban nijedan enzim da katalizuje ovu reakciju, štaviše nema enzima koji bi mogli da katalizuju tako brzu reakciju. Azot monoksid je jedini poznati biološki molekul koji tako brzo reaguje sa superoksidom, i proizvodi se u takvoj količini in vivo, da može da prevaziđe njegovu reakciju sa superoksid dizmutazom nezavisno od njenog endogenog nivoa.

Formiranje reaktivnih vrsta azota nije neizbežna posledica stvaranja NO. On se efikasno uklanja reakcijom sa oksihemoglobinom i formira se nitrat, što i u uslovima najviše endogene produkcije NO sprečava direktnu reakciju NO i kiseonika i formiranje azot dioksida. Ipak, simultana aktivacija sinteze superoksida, uz sintezu NO, će u potpunosti promeniti biološki efekat NO kroz formiranje peroksinitrita. Navedeno je da više enzimskih sistema može biti aktivisano da proizvodi značajne količine superoksida (NADPH oksidaze, ksantin oksidaza, nekuplovana iNOS). Umeren porast proizvodnje i NO i superoksida do 10 puta dovodi do povećanja produkcije peroksinitrita sto puta. U proinflamatornim uslovima, gde može doći do simultane i povećane produkcije NO i superoksida po hiljadu puta, dolazi do porasta produkcije peroksinitrita milion puta. Superoksid i NO ne moraju da nastanu u istoj ćeliji da bi se formirao peroksinitrit, obzirom na veliku sposobnost NO da prolazi kroz membrane i između ćelija [Pacher i sar. 2007].

Naši rezultati su pokazali da je u našoj populaciji bolesnika sa T1DM nivo oksidativnog stresa, sagledan kroz porast lipidne peroksidacije, a meren nivoom MDA, značajno viši u odnosu na kontrolnu populaciju. Značajno viši nivo TBARS u obolelih od T1DM u odnosu na kontrolne subjekte pokazali su i Ruiz [Ruiz i sar. 1999] i Griesmacher [Griesmacher i sar. 1995], i on je bio povezan sa lošijom glikemijskom kontrolom, odnosno oboleli sa dobrom metaboličkom kontrolom (sa nivoom HbA1c <6,5%) imali su značajno niži nivo TBARS od onih sa lošijom kontrolom, ali ipak značajno viši nivo od kontrolne grupe. Takođe je nivo TBARS bio viši u grupi sa razvijenim vaskularnim komplikacijama. Niži nivo MDA kod pacijenata lečenih IIT u odnosu na pacijente lečene konvencionalnom terapijom navodi se i u rezultatima iz naše sredine i tumači razlikom u aktivnosti XO [Kocić i sar. 2007]. Viši nivo MDA kod obolelih od T1DM sa dijabetesnom retinopatijom u odnosu na pacijente bez retinopatije i u odnosu na zdrave kontrolne subjekte potvrđuju i rezultati Losade i Alio-a [1996]. Smanjenje antioksidativnog kapaciteta i viši nivo markera oksidativnog stresa u T1DM u odnosu na zdrave, a bez korelacije sa nivoom metaboličke kontrole, dokazani su u studiji Santini-ja i sar. [1997]. Povišen nivo lipidne peroksidacije (iskazan kao TBARS ili MDA) još se češće javlja u obolelih od T2DM u odnosu na zdrave [Soliman 2008; Mahboob i sar. 2005; Pasaoglu i sar. 2004; Kesavulu i sar. 2000].

Nivo MDA se kod naših pacijenata značajno smanjio nakon prva tri meseca terapije, a potom još više i nakon šest meseci terapije. Ovaj rezultat se uklapa u većinu navedenih da se nivo lipidne peroksidacije nalazi u značajnom odnosu sa nivoom metaboličke kontrole i da je najviši kod obolelih sa najvišim nivoima glikemije.

Laboratorijsko određivanje NO je ekstremno teško, obzirom na kratak poluživot i vrlo niske koncentracije u biološkim tečnostima. Nitrati (NO_3^-) i nitriti (NO_2^-) su najstabilniji metaboliti endogenog NO. Oni su dostupni za kvantitativno određivanje, pa se ispostavilo da je određivanje ovih neorganskih metabolita u krvi i urinu najpogodnija metoda za indirektnu procenu produkcije NO in vivo. Rezultati ovog rada pokazali su izrazito visok nivo nitrata i nitrita u obolelih od T1DM u odnosu na kontrolu. Njihov nivo se smanjuje nakon terapije, ali i dalje ostaje značajno viši u odnosu na kontrolu. Podaci u literaturi o visokom nivou nitrata i nitrita kao pokazatelja metabolizma NO, i posredno kao pokazatelja porasta oksidativnog odnosno nitrozativnog stresa su brojni. U studijama u T1DM u kojima su određivani parametri oksidativnog stresa na početku bolesti i tokom njenog razvoja, potvrđeno je da postoji značajan oksidativni stres i na samom početku bolesti, kada možemo reći da je praktično jedina anomalija koja postoji hiperglikemija, a da se značajno povećava sa

trajanjem bolesti [Domínguez i sar. 1998]. U studiji sa ženama obolelim od T1DM, koji je skoro počeo, pokazano je postojanje oksidativnog stresa sa visokim nivoima nitrata i nitrita, i sledstveno niži nivo mokraćne kiseline, verovatno usled inhibicije ksantin oksidaze [Pitocco i sar. 2008]. Ova ista grupa je, u radu na takođe 99 žena sa T1DM koji traje manje od 10 godina, potvrdila ove iste rezultate i značajno visok nivo nitrata i nitrita [Pitocco i sar. 2009]. Ipak, tačni mehanizam koji uzrokuje porast koncentracije NO_x još uvek nije potpuno jasan. U navedenom radu je pokazano da nedovoljna inhibicija NOS može imati ključni uticaj u ovom. Pokazan je i udeo inducibilne NOS u razvoju dijabetesnih komplikacija u hiperglikemičnih pacova [Vareniuk i sar. 2008]. Moguće je stoga da je u uslovima pojačane sinteze NO usled indukcije iNOS izazvane hiperglikemijom, zajedno sa redukovanom inhibicijom iNOS, produkcija NO jako uvećana [Cooke i Davidge 2002]. Još je više radova koji pokazuju značajni porast koncentracije nitrata i nitrita u T2DM [Bhatia i sar. 2003; Aydin i sar. 2001]. Uticaj i značaj oksidativnog i nitrozativnog stresa u razvoju klasičnih dijabetesnih komplikacija je često istraživani i u više radova je pokazan porast koncentracije nitrata i nitrita u obolelih od DM sa izraženim komplikacijama, među kojima je najčešća dijabetesna periferna neuropatija [El Boghdady i Badr 2012; Stojanovic i sar. 2013].

Superoksid anjon izgleda igra naročito važnu ulogu u patogenezi dijabetesne vaskularne disfunkcije, i ovaj radikal je označen kao pokretač većine poznatih mehanizama oštećenja u dijabetesu, a kao rezultat hiperglikemije koja pokreće oksidativni stres preko brojnih mehanizama [Giacco i Brownlee 2010]. Ćelijski izvori superoksida su brojni i, sem više puta navedenog mitohondrijalnog respiratornog lanca, između ostalih to su NAD(P)H oksidaze i ksantin oksidaza. Postoje skorašnje studije koje ukazuju na značajnu ulogu XO u stvaranju slobodnih radikala u dijabetesu.

Ksantin oksidoreduktaza je ubikvitarna i postoji u dve forme koje mogu prelaziti jedna u drugu, ali su ipak funkcionalno različite [Harrison 2002]. Ksantin oksidoreduktaza katalizuje sekvencijalnu hidrosilaciju hipoksantina u ksantin i potom u mokraćnu kiselinu. Enzim može postojati u dve izoforme koje se razlikuju po specifičnosti za oksidaciju supstrata. Dehidrogenazna forma prevashodno koristi NAD⁺ kao akceptor elektrona, ali je takođe sposobna da donira elektrone molekulskom kiseoniku. Procesima proteolize i tiol oksidacije ksantin dehidrogenaza se konvertuje u oksidaza formu, koja redovno donira elektrone molekulskom kiseoniku i tako proizvodi superoksid i vodonik peroksid, a ne redukuje NAD⁺. Sve je više studija koje ukazuju da je stvaranje superoksida od strane XO važno u različitim oblicima tkivnih i vaskularnih oštećenja u hroničnim bolestima, i u

eksperimentalnim i u humanim studijama. Inhibitor XO alopurinol i njegov aktivni metabolit oksipurinol, pokazali su mnoštvo korisnih efekata u tretmanu ovih poremećaja, i u eksperimentalnim animalnim modelima i u manjim humanim kliničkim studijama [Pacher i sar. 2006].

Dokazi o ulozi XO u patogenezi vaskularne disfunkcije udružene sa dijabetesom u rezultatima koje su pokazali Desco i sar. [2002] su da postoji povišen nivo XO i u plazmi i u jetri pacijenata sa T1DM. U aortama iz zečeva sa dijabetesom izazvanim aloksanom povećana je endotelna produkcija superoksida i može biti blokirana alopurinolom. Heparin koji oslobađa XO vezanu na endotelne ćelije (XO se vezuje za endotelne ćelije glikozaminoglikanima i od te veze može da se oslobodi heparinom [Adachi i sar. 1993]), takođe smanjuje produkciju superoksida u aortalnim prstenovima dijabetičkih zečeva. Takođe, dijabetes povećava aktivnost XO u jetri dijabetičkih pacova i XO se pojačano otpušta iz jetre ovih životinja, a da ovo nije posledica lize hepatocita, jer nema porasta aktivnosti drugih enzima, odnosno transaminaza [Desco i sar. 2002].

U fiziološkim okolnostima, nivo aktivnosti XO je nepromenljiv u skoro svim tipovima ćelija, ali senzitivne tehnologije spin rezonance su pokazale da je XO važan izvor vaskularne produkcije superoksida u eksperimentalnom modelu T1DM. Plazmatska aktivnost je bila povećana u dijabetičkih miševa i korelirala je sa stepenom produkcije superoksida dve nedelje nakon razvoja DM i mogla je biti normalizovana pretretmanom alopurinolom ili oksipurinolom [Matsumoto i sar. 2003]. U pacijenata sa T1DM, alopurinol je smanjio stepen oksidativnog stresa (oksidaciju glutationa i peroksidaciju lipida) [Desco i sar. 2002], dok je kod pacijenata sa T2DM i blagom hipertenzijom produženi tretman alopurinolom doveo do značajnog poboljšanja u perifernoj endotel zavisnoj vazorelaksaciji [Butler i sar. 2000].

Studija na dijabetičkim miševima je pokazala da u ćelijama skeletnih mišića postoji oksidativni stres indukovani hiperglikemijom. Ovo je rezultat pre svega povećanja produkcije slobodnih radikala, a ne redukcije endogenog nivoa antioksidanata. Ovaj rad takođe potvrđuje podatke, in vivo, da u nastanku oksidativnog stresa učestvuju i mitohondrije i XO u mišićnim ćelijama u dijabetesu. Implikacije uloge XO su veoma važne, jer je njenom inhibicijom oksipurinolom moguće redukovati nivo oksidacije proteina, kao i poremećaje mitohondrija, i to i u mišjem modelu T1DM, i u mišjem modelu T2DM. Autori zaključuju da bi, shodno ovome, potencijalni terapijski cilj mogla da bude upravo XO, čime bi se smanjilo oštećenje mišića oksidativnim stresom, kao i da se poboljša oksidativni kapacitet u mišićima u stanju dijabetesa [Bravard i sar. 2011].

Produkcija superoksida od strane XO ima i značajan uticaj u razvoju dijabetesne kardiomiopatije, a inhibicija XO alopurinolom popravlja dijabetesom izazvanu kardijalnu disfunkciju smanjujući oksidativni i nitrozativni stres i smanjujući aktivaciju sledstvenih mehanizama oštećenja (kao npr. PARP) i fibrozu [Rajesh i sar. 2009]. Ova studija, kao i podaci iz drugih radova sa animalnim modelima srčane slabosti, i iz manjih kliničkih studija u humanoj populaciji, koji su sagledani u revijama [Pacher i sar. 2006; Kittleson i Hare 2005], i koji pokazuju korisne efekte alopurinola u njima, deluju ohrabrujuće u smislu mogućeg budućeg terapijskog efekta alopurinola kod dijabetesnih bolesnika.

Inhibicija XO alopurinolom ima i pozitivan efekat na cerebralnu funkciju NO, što potencijalno može uticati na cerebrovaskularno zdravlje. Autori stoga preporučuju dalje istraživanje u ovom pravcu, i eventualno upotrebu alopurinola u prevenciji šloga [Dawson i sar. 2009].

Aktivnost XO u našoj studiji je značajno povišena u obolelih od T1DM u odnosu na kontrolu. Nakon uvođenja u terapiju brzodelujućeg analoga insulina i nakon tri meseca terapije nivo XO se značajno snižava. Postoji i dalji blag i nesignifikantan pad XO i u naredna tri meseca terapije. Naši rezultati koji pokazuju pad XO u prvoj polovini studije kada postoji najizraženiji pad postprandijalnih glikemija i smanjenje varijabilnosti dnevne glikemije govore o smanjenju oksidativnog stresa, koji je u dijabetesu uzrokovan prvenstveno hiperglikemijom, i koji je opisan u navedenim radovima.

Antioksidativni kapacitet uključuje endogene komponente (glutation, bilirubin, mokraćnu kiselinu, superoksid dizmutaze, katalazu, glutation peroksidazu itd.) i egzogene komponente (karotenoide, tokoferole, askobat, bioflavonoide itd.). Ovi antioksidantni molekuli mogu se svrstati u tri kategorije: enzimske sisteme, male molekule i proteine.

U literaturi se opisuje porast aktivnosti SOD [Seghrouchni i sar. 2002; Domínguez i sar. 1998; Srivatsan i sar. 2009; Godin i sar. 1988; Yildirim i sar. 2009; Soliman 2008], ali i nepromenjena aktivnost [Kajanachumpol i sar. 1997; Bono i sar. 1987; Peuchant i sar. 1997], kao i pad aktivnosti SOD [Sundaram i sar. 1996; Matkovics i sar. 1982; Song i sar. 2007; Hartnett i sar. 2000].

Postoje saopštenja o značajnoj udruženosti smanjenja aktivnosti SOD i DM (i T1DM i T2DM). Ovo je naizgled neočekivano, jer je logično da se u bolesti koja sa sobom nosi porast oksidativnih jedinjenja pojavi kompenzatorni porast antioksidativnih enzima. U vaskularnim endotelnim ćelijama izloženim malim koncentracijama vodonik peroksida,

dolazi do promene ekspresije nivoa antioksidantnih enzima, što ukazuje na adaptivni mehanizam [Lu i sar. 1993]. Aktivnost SOD predstavlja glavni mehanizam za uklanjanje superoksid radikala. Literatura pokazuje protivurečne dokaze o promenama aktivnosti SOD u DM. Neke studije navode snižen nivo aktivnosti [Rema i sar. 1995; Vucić i sar. 1997], dok neke ne pokazuju vezu između DM i aktivnosti bilo SOD bilo GSH-Px [Peuchant i sar. 1997; Akkuş i sar. 1996; Walter i sar. 1991]. Obzirom da neenzimska glikacija jedne forme SOD (Cu-Zn-SOD) može da izazove fragmentaciju enzima [Ookawara i sar. 1992], time može da snizi njenu aktivnost [Arai i sar. 1987]. U radu u kome je praćen oksidativni stres u T1DM na početku bolesti i u njenom daljem toku zabeležen je porast SOD na samom početku bolesti, što se objašnjava indukcijom ovog enzima postojanjem radikala, koji su važni i u samoj patogenezi bolesti. Ipak porast aktivnosti SOD nije dovoljna zaštita od oksidativnog oštećenja, što potvrđuje simultano dokazan porast MDA, koji je marker već nastalog oštećenja ćelija. Tokom daljeg trajanja T1DM beleži se pad aktivnosti SOD, što se tumači padom indukcije i predominacijom neenzimske glikozilacije u daljem toku bolesti [Domínguez i sar. 1998].

Naši rezultati pokazuju značajan pad aktivnosti SOD u obolelih od T1DM u odnosu na kontrolu, a tokom terapije analogima insulina dolazi do značajnog porasta aktivnosti SOD pre svega u prva tri meseca, ali konačni nivo je ipak niži u odnosu na kontrolnu grupu.

Porast aktivnosti katalaze može se tumačiti kao adaptivni mehanizam i odgovor na povećanje produkcije vodonik peroksida, i može da se smatra odrazom odgovora na izazov oksidativnog stresa u dijabetesu. Takođe i porast GPx može da se objasni kao adaptivni proces u borbi sa peroksidnim oštećenjem.

U literaturi postoje brojne kontroverze oko ovoga jer se opisuje i porast aktivnosti CAT [Kesavulu i sar. 2000; Matkovics i sar. 1997; Kesavulu i sar. 2001], i smanjenje aktivnosti CAT [Sundaram i sar. 1996; Parthiban i sar. 1995; Ramakrishna i sar. 2008; Kuppusamy i sar. 2005] i nepromenjena aktivnost ovog enzima [Peuchant i sar. 1997; VanderJagt i sar. 2001]. Slično je i sa GPx, opisan je porast aktivnosti [Sundaram i sar. 1996; Matkovics i sar. 1982; Parthiban i sar. 1995], smanjenje aktivnosti [Domínguez i sar. 1998; Dinçer i sar. 2002; Uzel i sar. 1987; Pan i sar. 2010] i nepromenjena aktivnost [Seghrouchni i sar. 2002; Peuchant i sar. 1997; Kajanachumpol i sar. 1997; VanderJagt i sar. 2001].

Nivoi aktivnosti i katalaze i glutation peroksidaze su u našoj grupi obolelih od T1DM značajno viši u odnosu na kontrolnu grupu, a tokom terapije pokazuju značajni pad i

nakon tri meseca, a naročito nakon šest meseci terapije, u odnosu na početak terapije, mada ostaju i dalje viši u odnosu na aktivnost u kontrolnoj grupi.

ZAKLJUČCI

Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogom insulinom aspart u IIT (uz bazalni NPH insulin) tokom tri meseca dovodi do:

- nesignifikantnog sniženja nivoa HbA1c;
- značajnog sniženja nivoa postprandijalnih glikemija;
- značajnog sniženja porasta glikemije posle obroka;
- značajnog sniženja varijabilnosti dnevne glikemije u profilima;
- nesignifikantnog (granično signifikantnog) smanjenja ukupnog broja hipoglikemija;
- značajnog smanjenja broja simptomatskih hipoglikemija;
- porasta zadovoljstva terapijom;
- signifikantnog sniženja nivoa CRP i
- tokom terapije postoji signifikantno smanjenje ukupne dnevne doze insulina, pre svega smanjenje doze bolusnog insulina uz povećanje doze bazalnog insulina.

Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogima insulinom aspart i insulinom glargin u IIT tokom tri meseca dovodi do:

- značajnog sniženja nivoa HbA1c;
- značajnog sniženja nivoa glikemije našte;
- značajnog sniženja nivoa svih glikemija u profilima;
- značajnog sniženja srednje vrednosti glikemije u profilima;
- značajnog sniženja varijabilnosti dnevne glikemije u profilima;
- značajnog sniženja ukupnog broja hipoglikemija;
- značajnog smanjenja broja simptomatskih hipoglikemija;
- značajnog smanjenja broja asimptomatskih hipoglikemija;
- značajnog smanjenja broja noćnih hipoglikemija;
- značajnog porasta zadovoljstva terapijom i značajnog sniženja osećaja postojanja hiperglikemije i hipoglikemije;

- malog, ali značajnog sniženja telesne težine bolesnika;
- manjeg nesignifikantnog pada nivoa CRP i
- tokom terapije postoji signifikantno smanjenje ukupne dnevne doze insulina i smanjenje doze bolusnog insulina.

U našoj populaciji bolesnika sa T1DM u odnosu na kontrolnu populaciju:

- nivo oksidativnog stresa, sagledan kroz porast lipidne peroksidacije, a meren nivoom MDA, značajno je viši;
- nivo nitrata i nitrita značajno je viši;
- aktivnost XO značajno je viša;
- aktivnost SOD značajno je niža;
- aktivnost i katalaze i GPx značajno je viša.

Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogom insulinom aspart u IIT (uz bazalni NPH insulin) tokom tri meseca dovodi do:

- signifikantnog sniženja nivoa MDA;
- signifikantnog sniženja nivoa nitrata i nitrita;
- signifikantnog sniženja aktivnosti XO;
- signifikantnog porasta aktivnosti SOD;
- signifikantnog sniženja aktivnosti katalaze;
- signifikantnog sniženja aktivnosti GPx.

Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogima insulinom aspart i insulinom glargin u IIT tokom tri meseca dovodi do:

- značajnog sniženja nivoa MDA;
- manjeg nesignifikantnog pada nivoa nitrata i nitrita;
- manjeg nesignifikantnog pada aktivnosti XO;
- manjeg nesignifikantnog porasta aktivnosti SOD;
- značajnog sniženja aktivnosti katalaze;
- manjeg nesignifikantnog pada aktivnosti GPx.

Opšti zaključci

- Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogima insulinom aspart i insulinom glargin u IIT dovodi do poboljšanja glikoregulacije uz smanjenje broja hipoglikemija i lako smanjenje TT.
- Terapija bolesnika sa T1DM insulinskim analogima insulinom aspart i insulinom glargin u IIT, poboljšanjem glikoregulacije, utiče na poboljšanje parametara oksidativnog stresa.

LITERATURA

- AACE Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. *Endocr Pract* 2007;13(suppl 1):1-68.
- Abbud ZA, Shindler DM, Wilson AC, Kostis JB. Effect of diabetes mellitus on short- and long-term mortality rates of patients with acute myocardial infarction: a statewide study. Myocardial Infarction Data Acquisition System Study Group. *Am Heart J*. 1995;130(1):51-8.
- Abiru N, Kawasaki E, Eguch K. Current knowledge of Japanese type 1 diabetic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002;18(5):357-66.
- Adachi T, Fukushima T, Usami Y, Hirano K. Binding of human xanthine oxidase to sulphated glycosaminoglycans on the endothelial-cell surface. *Biochem J*. 1993;289(Pt 2):523-7.
- Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR; UKPDS GROUP. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int*. 2003;63(1):225-32.
- Adler S. Diabetic nephropathy: linking histology, cell biology, and genetics. *Kidney Int*. 2004;66(5):2095-106.
- Akkuş I, Kalak S, Vural H, Caglayan O, Menekşe E, Can G, Durmuş B. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 1996;244(2):221-7.
- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998;15(7):539-53.

- Alexander RW. Theodore Cooper Memorial Lecture. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension*. 1995;25(2):155-61.
- Aliciguzel Y, Ozen I, Aslan M, Karayalcin U. Activities of xanthine oxidoreductase and antioxidant enzymes in different tissues of diabetic rats. *J Lab Clin Med*. 2003;142(3):172-7.
- American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2005;28(5):1245-9.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2012b;35 Suppl 1:S64-71.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2010;33 Suppl 1:S62-9.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2013;36 Suppl 1:S67-74.
- American Diabetes Association. Postprandial blood glucose. *Diabetes Care*. 2001;24(4):775-8.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2012. *Diabetes Care*. 2012a;35 Suppl 1:S11-63.
- Amiel SA, Sherwin RS, Simonson DC, Tamborlane WV. Effect of intensive insulin therapy on glycemic thresholds for counterregulatory hormone release. *Diabetes*. 1988;37(7):901-7.
- Amiri F, Shaw S, Wang X, Tang J, Waller JL, Eaton DC, Marrero MB. Angiotensin II activation of the JAK/STAT pathway in mesangial cells is altered by high glucose. *Kidney Int*. 2002;61(5):1605-16.
- Anderson JH Jr, Brunelle RL, Koivisto VA, Pfützner A, Trautmann ME, Vignati L, DiMarchi R. Reduction of postprandial hyperglycemia and frequency of hypoglycemia in IDDM patients on insulin-analog treatment. Multicenter Insulin Lispro Study Group. *Diabetes*. 1997;46(2):265-70.
- Andreeva LI, Kozhemiakin LA, Kishkun AA. [Modification of the method of determining lipid peroxidation in a test using thiobarbituric acid]. *Lab Delo*. 1988;(11):41-3.

- Arai K, Iizuka S, Tada Y, Oikawa K, Taniguchi N. Increase in the glucosylated form of erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase in diabetes and close association of the nonenzymatic glucosylation with the enzyme activity. *Biochim Biophys Acta*. 1987;924(2):292-6.
- Arbelaez AM, Powers WJ, Videen TO, Price JL, Cryer PE. Attenuation of counterregulatory responses to recurrent hypoglycemia by active thalamic inhibition: a mechanism for hypoglycemia-associated autonomic failure. *Diabetes*. 2008;57(2):470-5.
- Ashall V, Dawes T. Metformin and lactic acidosis. *Br J Anaesth*. 2008;101(6):876-7.
- Ashwell SG, Amiel SA, Bilous RW, Dashora U, Heller SR, Hepburn DA, Shutler SD, Stephens JW, Home PD. Improved glycaemic control with insulin glargine plus insulin lispro: a multicentre, randomized, cross-over trial in people with Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2006;23(3):285-92.
- Ashwell SG, Home PD. Insulin glargine: the first clinically useful extended-action insulin analogue. *Expert Opin Pharmacother*. 2001;2(11):1891-902.
- Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*. 2001;358(9277):221-9.
- Avignon A, Radauceanu A, Monnier L. Nonfasting plasma glucose is a better marker of diabetic control than fasting plasma glucose in Type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1997;20(12):1822-6.
- Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, İşimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem*. 2001;34(1):65-70.
- Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2002;347(12):911-20.
- Bäcklund LB, Algvare PV, Rosenqvist U. New blindness in diabetes reduced by more than one-third in Stockholm County. *Diabet Med*. 1997;14(9):732-40.
- Baek KJ, Thiel BA, Lucas S, Stuehr DJ. Macrophage nitric oxide synthase subunits. Purification, characterization, and role of prosthetic groups and substrate in regulating their association into a dimeric enzyme. *J Biol Chem*. 1993;268(28):21120-9.

- Baisch JM, Weeks T, Giles R, Hoover M, Stastny P, Capra JD. Analysis of HLA-DQ genotypes and susceptibility in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1990;322(26):1836-41.
- Banarer S, Cryer PE. Sleep-related hypoglycemia-associated autonomic failure in type 1 diabetes: reduced awakening from sleep during hypoglycemia. *Diabetes.* 2003;52(5):1195-203.
- Banting FG, Best CH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus: preliminary report. 1922. *CMAJ.* 1991;145(10):1281-6.
- Barbash GI, White HD, Modan M, Van de Werf F. Significance of diabetes mellitus in patients with acute myocardial infarction receiving thrombolytic therapy. Investigators of the International Tissue Plasminogen Activator/Streptokinase Mortality Trial. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22(3):707-13.
- Barker JM, Barriga KJ, Yu L, Miao D, Erlich HA, Norris JM, Eisenbarth GS, Rewers M; Diabetes Autoimmunity Study in the Young. Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Aug;89(8):3896-902.
- Barker JM, Yu J, Yu L, Wang J, Miao D, Bao F, Hoffenberg E, Nelson JC, Gottlieb PA, Rewers M, Eisenbarth GS. Autoantibody “subspecificity” in type 1 diabetes: risk for organ-specific autoimmunity clusters in distinct groups. *Diabetes Care.* 2005;28(4):850-5.
- Barker JM. Clinical review: Type 1 diabetes associated autoimmunity: natural history, genetic associations, and screening. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(4):1210-7.
- Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation.* 2001;103(12):1618-23.
- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996;271(5 Pt 1):C1424-37.
- Beckman JS. Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite. *Chem Res Toxicol.* 1996;9(5):836-44.
- Benz D, Cadet P, Mantione K, Zhu W, Stefano G. Tonal nitric oxide and health--a free radical and a scavenger of free radicals. *Med Sci Monit.* 2002;8(1):RA1-4.

- Betterle C, Zanette F, Pedini B, Presotto F, Rapp LB, Monciotti CM, Rigon F. Clinical and subclinical organ-specific autoimmune manifestations in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients and their first-degree relatives. *Diabetologia*. 1984;26(6):431-6.
- Betts PR, Mulligan J, Ward P, Smith B, Wilkin TJ. Increasing body weight predicts the earlier onset of insulin dependent diabetes in childhood: Testing the 'Accelerator Hypothesis' (2). *Diabet Med*. 2005;22(2):144-51.
- Beutler E, Blume KG, Kaplan JC, Löhr GW, Ramot B, Valentine WN. International Committee for Standardization in Haematology: recommended methods for red-cell enzyme analysis. *Br J Haematol*. 1977;35(2):331-40.
- Bhatia S, Shukla R, Venkata Madhu S, Kaur Gambhir J, Madhava Prabhu K. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin Biochem*. 2003;36(7):557-62.
- Bohlen HG, Lash JM. Topical hyperglycemia rapidly suppresses EDRF-mediated vasodilation of normal rat arterioles. *Am J Physiol*. 1993;265(1 Pt 2):H219-25.
- Bolli GB, De Feo P, De Cosmo S, Perriello G, Ventura MM, Benedetti MM, Santeusanio F, Gerich JE, Brunetti P. A reliable and reproducible test for adequate glucose counterregulation in type I diabetes mellitus. *Diabetes*. 1984;33(8):732-7.
- Bolli GB, Di Marchi RD, Park GD, Pramming S, Koivisto VA. Insulin analogues and their potential in the management of diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1999;42(10):1151-67.
- Bonifacio E, Yu L, Williams AK, Eisenbarth GS, Bingley PJ, Marcovina SM, Adler K, Ziegler AG, Mueller PW, Schatz DA, Krischer JP, Steffes MW, Akolkar B. Harmonization of glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2 autoantibody assays for National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Consortia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(7):3360-7.
- Bono A, Caimi G, Catania A, Sarno A, Pandolfo L. Red cell peroxide metabolism in diabetes mellitus. *Horm Metab Res*. 1987;19(6):264-6.
- Bonora E, Calcaterra F, Lombardi S, Bonfante N, Formentini G, Bonadonna RC, Muggeo M. Plasma glucose levels throughout the day and HbA1c interrelationships in Type 2 diabetes. Implications for treatment and monitoring of metabolic control. *Diabetes Care*. 2001;24(12):2023-9.

- Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Muggeo M. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study. *Diabetes*. 1998;47(10):1643-9.
- Boulton AJ, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. The global burden of diabetic foot disease. *Lancet*. 2005;366(9498):1719-24.
- Boyle PJ, Schwartz NS, Shah SD, Clutter WE, Cryer PE. Plasma glucose concentrations at the onset of hypoglycemic symptoms in patients with poorly controlled diabetes and in nondiabetics. *N Engl J Med*. 1988;318(23):1487-92.
- Bradley C, Speight J. Patient perceptions of diabetes and diabetes therapy: assessing quality of life. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002;18 Suppl 3:S64-9.
- Bravard A, Bonnard C, Durand A, Chauvin MA, Favier R, Vidal H, Rieusset J. Inhibition of xanthine oxidase reduces hyperglycemia-induced oxidative stress and improves mitochondrial alterations in skeletal muscle of diabetic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;300(3):E581-91.
- Brener SJ, Mehran R, Dressler O, Cristea E, Stone GW. Diabetes mellitus, myocardial reperfusion, and outcome in patients with acute ST-elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty (from HORIZONS AMI). *Am J Cardiol*. 2012;109(8):1111-6.
- Brodsky SV, Gao S, Li H, Goligorsky MS. Hyperglycemic switch from mitochondrial nitric oxide to superoxide production in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283(5):H2130-9.
- Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med*. 1995;46:223-34.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-20.
- Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care*. 1992;15(12):1835-43.
- Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-25.

- Bui TP, Werther GA, Cameron FJ. Trends in diabetic ketoacidosis in childhood and adolescence: a 15-yr experience. *Pediatr Diabetes*. 2002;3(2):82-8.
- Bunce C, Xing W, Wormald R. Causes of blind and partial sight certifications in England and Wales: April 2007–March 2008. *Eye (Lond)*. 2010;24(11):1692-9.
- Butler AR, Megson IL, Wright PG. Diffusion of nitric oxide and scavenging by blood in the vasculature. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1425(1):168-76.
- Butler R, Morris AD, Belch JJ, Hill A, Struthers AD. Allopurinol normalizes endothelial dysfunction in type 2 diabetics with mild hypertension. *Hypertension*. 2000;35(3):746-51.
- Byers T. Body weight and mortality. *N Engl J Med*. 1995;333(11):723-4.
- Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*. 2000;87(10):840-4.
- Candido R, Forbes JM, Thomas MC, Thallas V, Dean RG, Burns WC, Tikellis C, Ritchie RH, Twigg SM, Cooper ME, Burrell LM. A breaker of advanced glycation end products attenuates diabetes-induced myocardial structural changes. *Circ Res*. 2003;92(7):785-92.
- Cao JJ, Thach C, Manolio TA, Psaty BM, Kuller LH, Chaves PH, Polak JF, Sutton-Tyrrell K, Herrington DM, Price TR, Cushman M. C-reactive protein, carotid intima-media thickness, and incidence of ischemic stroke in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 2003;108(2):166-70.
- Carson JL, Scholz PM, Chen AY, Peterson ED, Gold J, Schneider SH. Diabetes mellitus increases short-term mortality and morbidity in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40(3):418-23.
- Ceriello A, Colagiuri S. International Diabetes Federation guideline for management of postmeal glucose: a review of recommendations. *Diabet Med*. 2008;25(10):1151-6.
- Ceriello A, Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*. 2001;44(7):834-8.

- Ceriello A, Quagliaro L, Catone B, Pascon R, Piazzola M, Bais B, Marra G, Tonutti L, Taboga C, Motz E. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care*. 2002a;25(8):1439-43.
- Ceriello A, Quagliaro L, D'Amico M, Di Filippo C, Marfella R, Nappo F, Berrino L, Rossi F, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat. *Diabetes*. 2002b;51(4):1076-82.
- Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Rubin SM, Ding J, Simonsick EM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation*. 2003;108(19):2317-22.
- Chapman TM, Noble S, Goa KL. Spotlight on insulin aspart in type 1 and 2 diabetes mellitus. *Treat Endocrinol*. 2003;2(1):71-6.
- Chase HP, Lockspeiser T, Peery B, Shepherd M, MacKenzie T, Anderson J, Garg SK. The impact of the diabetes control and complications trial and humalog insulin on glycohemoglobin levels and severe hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2001;24(3):430-4.
- Chaturvedi N, Sjolie AK, Stephenson JM, Abrahamian H, Keipes M, Castellarin A, Rogulja-Pepeonik Z, Fuller JH. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. The EUCLID Study Group. EURODIAB Controlled Trial of Lisinopril in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Lancet*. 1998;351(9095):28-31.
- Chen JW, Gall MA, Deckert M, Jensen JS, Parving HH. Increased serum concentration of von Willebrand factor in non-insulin dependent diabetic patients with and without diabetic nephropathy. *BMJ*. 1995;311(7017):1405-6.
- Chinn S, Hughes JM, Rona RJ. Trends in growth and obesity in ethnic groups in Britain. *Arch Dis Child*. 1998;78(6):513-7.
- Cinar MG, Ulker S, Alper G, Evinç A. Effect of dietary vitamin E supplementation on vascular reactivity of thoracic aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacology*. 2001;62(1):56-64.

- Cleary PA, Orchard TJ, Genuth S, Wong ND, Detrano R, Backlund JY, Zinman B, Jacobson A, Sun W, Lachin JM, Nathan DM; DCCT/EDIC Research Group. The effect of intensive glyceamic treatment on coronary artery calcification in type 1 diabetic participants of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study. *Diabetes*. 2006;55(12):3556-65.
- Cohen JW. *Statistical power analysis for behavioral sciences*. 2nd edn. Hillsdale NJ, Lawrence Erlbaum Associates, 1988.
- Collins T. Endothelial nuclear factor-kappa B and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest*. 1993;68(5):499-508.
- Colombel A, Murat A, Krempf M, Kuchly-Anton B, Charbonnel B. Improvement of blood glucose control in Type 1 diabetic patients treated with lispro and multiple NPH injections. *Diabet Med*. 1999;16(4):319-24.
- Cooke CL, Davidge ST. Peroxynitrite increases iNOS through NF-kappaB and decreases prostacyclin synthase in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;282(2):C395-402.
- Cooperberg BA, Breckenridge SM, Arbelaez AM, Cryer PE. Terbutaline and the prevention of nocturnal hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2008;31(12):2271-2.
- Cosentino F, Hishikawa K, Katusic ZS, Lüscher TF. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 1997;96(1):25-8.
- Couser WG, Nangaku M. Cellular and molecular biology of membranous nephropathy. *J Nephrol*. 2006;19(6):699-705.
- Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care*. 1999;22(2):233-40.
- Cox DJ, Gonder-Frederick L, Ritterband L, Clarke W, Kovatchev BP. Prediction of severe hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2007;30(6):1370-3.
- Cranston I, Lomas J, Maran A, Macdonald I, Amiel SA. Restoration of hypoglycaemia awareness in patients with long-duration insulin-dependent diabetes. *Lancet*. 1994;344(8918):283-7.

- Craven PA, Davidson CM, DeRubertis FR. Increase in diacylglycerol mass in isolated glomeruli by glucose from de novo synthesis of glycerolipids. *Diabetes*. 1990;39(6):667-74.
- Craven PA, Studer RK, Felder J, Phillips S, DeRubertis FR. Nitric oxide inhibition of transforming growth factor-beta and collagen synthesis in mesangial cells. *Diabetes*. 1997;46(4):671-81.
- Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta*. 1991;1057(3):281-98.
- Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *N Engl J Med*. 2005;352(24):2477-86.
- Cryer PE, Davis SN, Shamon H. Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(6):1902-12.
- Cryer PE. Hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39(3):641-54.
- Cryer PE. Hypoglycemia, functional brain failure, and brain death. *J Clin Invest*. 2007;117(4):868-70.
- Cryer PE. Mechanisms of sympathoadrenal failure and hypoglycemia in diabetes. *J Clin Invest*. 2006;116(6):1470-3.
- Cryer PE. Preventing hypoglycaemia: what is the appropriate glucose alert value? *Diabetologia*. 2009;52(1):35-7.
- Cryer PE. The barrier of hypoglycemia in diabetes. *Diabetes* 2008;57(12):3169–76.
- Dabelea D, Bell RA, D'Agostino RB Jr, Imperatore G, Johansen JM, Linder B, Liu LL, Loots B, Marcovina S, Mayer-Davis EJ, Pettitt DJ, Waitzfelder B. Incidence of diabetes in youth in the United States. *JAMA*. 2007;297(24):2716-24.
- Dabelea D, Pihoker C, Talton JW, D'Agostino RB Jr, Fujimoto W, Klingensmith GJ, Lawrence JM, Linder B, Marcovina SM, Mayer-Davis EJ, Imperatore G, Dolan LM; SEARCH for Diabetes in Youth Study. Etiological approach to characterization of diabetes type: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care*. 2011;34(7):1628-33.

- Dagogo-Jack S, Rattarasarn C, Cryer PE. Reversal of hypoglycemia unawareness, but not defective glucose counterregulation, in IDDM. *Diabetes*. 1994;43(12):1426-34.
- D'Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, Kannel WB. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham heart study. *Circulation*. 2008;117(6):743-53.
- Dahlquist G, Mustonen L. Analysis of 20 years of prospective registration of childhood onset diabetes time trends and birth cohort effects. Swedish Childhood Study Group. *Acta Paediatr*. 2000;89(10):1231-7.
- Daneman D. Is the 'Accelerator Hypothesis' worthy of our attention? *Diabet Med*. 2005;22(2):115-7.
- Daneman D. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2006;367(9513):847-58.
- Dantas AP, Fortes ZB, de Carvalho MH. Vascular disease in diabetic women: why do they miss the female protection? *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:570598.
- Davis S, Alonso MD. Hypoglycemia as a barrier to glycemic control. *J Diabetes Complications*. 2004;18(1):60-8.
- Dawson J, Quinn T, Harrow C, Lees KR, Weir CJ, Cleland SJ, Walters MR. Allopurinol and nitric oxide activity in the cerebral circulation of those with diabetes: a randomized trial. *Diabetes Care*. 2009;32(1):135-7.
- DCCT Research Group. Epidemiology of severe hypoglycemia in the diabetes control and complications trial. *Am J Med*. 1991;90(4):450-9.
- De Block CE, De Leeuw IH, Vertommen JJ, Rooman RP, Du Caju MV, Van Campenhout CM, Weyler JJ, Winnock F, Van Autreve J, Gorus FK; Belgian Diabetes Registry. Beta-cell, thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2001;126(2):236-41.
- De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol*. 2000;130(5):963-74.
- DECODE Study Group, European Diabetes Epidemiology Group. Is the current definition for diabetes relevant to mortality risk from all causes and cardiovascular and noncardiovascular diseases? *Diabetes Care*. 2003;26(3):688-96.

- DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-h diagnostic criteria. *Arch Intern Med.* 2001;161(3):397-405. Maia FF, Araujo LR. Efficacy of continuous glucose monitoring system (CGMS) to detect postprandial hyperglycemia and unrecognized hypoglycemia in Type 1 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;75(1):30-4.
- DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. *Arch Intern Med.* 2001;161(3):397-405.
- Del Prato S. In search of normoglycaemia in diabetes: controlling postprandial glucose. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26 Suppl 3:S9-17.
- DeRosa MA, Cryer PE. Hypoglycemia and the sympathoadrenal system: neurogenic symptoms are largely the result of sympathetic neural, rather than adrenomedullary, activation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;287(1):E32-41.
- Derr R, Garrett E, Stacy GA, Saudek CD. Is HbA(1c) affected by glycemic instability? *Diabetes Care.* 2003;26(10):2728-33.
- Derubertis FR, Craven PA. Activation of protein kinase C in glomerular cells in diabetes: mechanism and potential links to the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Diabetes.* 1994;43(1):1-8.
- Desco MC, Asensi M, Márquez R, Martínez-Valls J, Vento M, Pallardó FV, Sastre J, Viña J. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol. *Diabetes.* 2002;51(4):1118-24.
- Després JP, Lamarche B, Mauriège P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, Lupien PJ. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 1996;334(15):952-7.
- Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation.* 2003;107(3):398-404.
- Devendra D, Liu E, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: recent developments. *BMJ.* 2004;328(7442):750-4.

- Devereux RB, Roman MJ, Paranicas M, O'Grady MJ, Lee ET, Welty TK, Fabsitz RR, Robbins D, Rhoades ER, Howard BV. Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study. *Circulation*. 2000;101(19):2271-6.
- DeVries JH, Nattrass M, Pieber TR. Refining basal insulin therapy: what have we learned in the age of analogues? *Diabetes Metab Res Rev*. 2007;23(6):441-54.
- DeWitt DE, Hirsch IB. Outpatient insulin therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus: scientific review. *JAMA*. 2003;289(17):2254-64.
- Diabetes Control and Complication Trial Research Group. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial. *Diabetes*. 1995;44(8):968-83.
- Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-86.
- DIAMOND Project Group. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990–1999. *Diabet Med*. 2006;23(8):857-66.
- Dinçer Y, Alademir Z, Ilkova H, Akçay T. Susceptibility of glutathione and glutathione-related antioxidant activity to hydrogen peroxide in patients with type 2 diabetes: effect of glycemic control. *Clin Biochem*. 2002;35(4):297-301.
- Dinneen S, Gerich JE, Rizza R. Carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1992;327(10):707-13.
- Domínguez C, Ruiz E, Gussinye M, Carrascosa A. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care*. 1998;21(10):1736-42.
- Du X, Edelstein D, Obici S, Higham N, Zou MH, Brownlee M. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. *J Clin Invest*. 2006;116(4):1071-80.
- Du X, Matsumura T, Edelstein D, Rossetti L, Zsengeller Z, Szabo C, Brownlee M. Inhibition of GAPDH activity by poly(ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. *J Clin Invest*. 2003;112(7):1049-57.

- Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest.* 2001;108(9):1341-8.
- Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(22):12222-6.
- Ebskov B, Ebskov L. Major lower limb amputation in diabetic patients: development during 1982 to 1993. *Diabetologia.* 1996;39(12):1607-10.
- Eckardt K, Eckel J. Insulin analogues: action profiles beyond glycaemic control. *Arch Physiol Biochem.* 2008;114(1):45-53.
- Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacol Ther.* 2008;120(1):1-34.
- Ehrlich R, Harris A, Ciulla TA, Kheradiya N, Winston DM, Wirostko B. Diabetic macular oedema: physical, physiological and molecular factors contribute to this pathological process. *Acta Ophthalmol.* 2010;88(3):279-91.
- Eisenbarth GS, Gottlieb PA. Autoimmune Polyendocrine Syndromes. *N Engl J Med.* 2004;350(20):2068-79.
- Eisenbarth GS. Banting Lecture 2009: An unfinished journey: molecular pathogenesis to prevention of type 1A diabetes. *Diabetes.* 2010;59(4):759-74.
- Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med.* 1986;314(21):1360-8.
- 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):328-34.
- Elrishi MA, Jarvis J, Khunti K, Davies MJ. Insulin glargine and its role in glycaemic management of Type 2 diabetes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2008;4(8):1099-110.
- Engerman RL, Kern TS, Larson ME. Nerve conduction and aldose reductase inhibition during 5 years of diabetes or galactosaemia in dogs. *Diabetologia.* 1994;37(2):141-4.

- Erickson KK, Sundstrom JM, Antonetti DA. Vascular permeability in ocular disease and the role of tight junctions. *Angiogenesis*. 2007;10(2):103-17.
- Erlinger TP, Brancati FL. Postchallenge hyperglycemia in a national sample of US adults with Type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2001;24(10):1734-8.
- Ertl AC, Davis SN. Evidence for a vicious cycle of exercise and hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004;20(2):124-30.
- Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliaro L, Ceriello A, Giugliano D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 2002;106(16):2067-72.
- EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet*. 2000;355(9207):873-6.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*. 2003;52(1):1-8.
- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 2002;23(5):599-622.
- Falkenberg M, Finnström K. Associations with retinopathy in type 2 diabetes: a population-based study in a Swedish rural area. *Diabet Med*. 1994;11(9):843-9.
- Fanelli CG, Epifano L, Rambotti AM, Pampanelli S, Di Vincenzo A, Modarelli F, Lepore M, Annibale B, Ciofetta M, Bottini P, Porcellati F, Scionti L, Santeusanio F, Brunetti P, Bolli GB. Meticulous prevention of hypoglycemia normalizes the glycemic thresholds and magnitude of most of neuroendocrine responses to, symptoms of, and cognitive function during hypoglycemia in intensively treated patients with short-term IDDM. *Diabetes*. 1993;42(11):1683-9.
- Fanelli CG, Pampanelli S, Epifano L, Rambotti AM, Vincenzo AD, Modarelli F, Ciofetta M, Lepore M, Annibale B, Torlone E, Perriello G, De Feo P, Santeusanio F, Brunetti P, Bolli GB. Long-term recovery from unawareness, deficient counterregulation and lack of cognitive dysfunction during hypoglycaemia, following institution of rational, intensive insulin therapy in IDDM. *Diabetologia*. 1994;37(12):1265-76.

- Fava S, Azzopardi J, Muscat HA, Fenech FF. Factors that influence outcome in diabetic subjects with myocardial infarction. *Diabetes Care*. 1993;16(12):1615-8.
- Feener EP, Xia P, Inoguchi T, Shiba T, Kunisaki M, King GL. Role of protein kinase C in glucose and angiotensin II-induced plasminogen activator inhibitor expression. *Contrib Nephrol*. 1996;118:180-7.
- Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Barker-Collo SL, Parag V. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2009;8(4):355-69.
- Felner EI, White PC. Improving management of diabetic ketoacidosis in children. *Pediatrics*. 2001;108(3):735-40.
- Festa A, Williams K, D'Agostino R Jr, Wagenknecht LE, Haffner SM. The natural course of betacell function in nondiabetic and diabetic individuals: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 2006;55(4):1114–20.
- Flaherty JD, Davidson CJ. Diabetes and coronary revascularization. *JAMA*. 2005;293(12):1501-8.
- Fleegler FM, Rogers KD, Drash A, Rosenbloom AL, Travis LB, Court JM. Age, sex, and season of onset of juvenile diabetes in different geographic areas. *Pediatrics*. 1979;63(3):374-9.
- Frayling TM. Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. *Nat Rev Genet* 2007;8(9):657–62.
- Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, Nadal-Ginard B, Anversa P. Myocardial cell death in human diabetes. *Circ Res*. 2000;87(12):1123-32.
- Gaede P, Lund-Andersen H, Parving HH, Pedersen O. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;358(6):580-91.
- Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GVH, Parving HH, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2003;348(5):383-93.
- Gale EA. A missing link in the hygiene hypothesis? *Diabetologia*. 2002b;45(4):588-94.

- Gale EA. A randomized, controlled trial comparing insulin lispro with human soluble insulin in patients with Type 1 diabetes on intensified insulin therapy. The UK Trial Group. *Diabet Med.* 2000;17(3):209-14.
- Gale EA. Declassifying diabetes. *Diabetologia.* 2006;49(9):1989-95.
- Gale EA. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes.* 2002a;51(12):3353-61.
- Gall MA, Borch-Johnsen K, Hougaard P, Nielsen FS, Parving HH. Albuminuria and poor glycaemic control predict mortality in NIDDM. *Diabetes.* 1995;44(11):1303-9.
- Ganz MB, Seftel A. Glucose-induced changes in protein kinase C and nitric oxide are prevented by vitamin E. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(1):E146-52.
- Garber AJ. Attenuating CV risk factors in patients with diabetes: clinical evidence to clinical practice. *Diabetes Obes Metab.* 2002;4 Suppl 1:S5-12.
- Garcia Soriano F, Virág L, Jagtap P, Szabó E, Mabley JG, Liaudet L, Marton A, Hoyt DG, Murthy KG, Salzman AL, Southan GJ, Szabó C. Diabetic endothelial dysfunction: the role of poly(ADP-ribose) polymerase activation. *Nat Med.* 2001;7(1):108-13.
- Garg S, Moser E, Dain MP, Rodionova A. Clinical experience with insulin glargine in type 1 diabetes. *Diabetes Technol Ther.* 2010;12(11):835-46.
- Garnock-Jones KP, Plosker GL. Insulin glulisine: a review of its use in the management of diabetes mellitus. *Drugs.* 2009;69(8):1035-57.
- Geddes J, Schopman JE, Zammitt NN, Frier BM. Prevalence of impaired awareness of hypoglycaemia in adults with Type 1 diabetes. *Diabet Med.* 2008;25(4):501-4.
- Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes.* 1965;14(10):619-33.
- Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res.* 2010;106(8):1319-31.
- Gerich JE. Clinical significance, pathogenesis, and management of postprandial hyperglycemia. *Arch Intern Med.* 2003;163(11):1306-16.
- Ghattas A, Lip PL, Lip GY. Renin-angiotensin blockade in diabetic retinopathy. *Int J Clin Pract.* 2011;65(2):113-6.

- Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010;107(9):1058-70.
- Gillespie KM, Bain SC, Barnett AH, Bingley PJ, Christie MR, Gill GV, Gale EA. The rising incidence of childhood type 1 diabetes and reduced contribution of high-risk HLA haplotypes. *Lancet.* 2004;364(9446):1699-700.
- Gillies PS, Figgitt DP, Lamb HM. Insulin glargine. *Drugs.* 2000;59(2):253-60; discussion 261-2.
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care.* 1996;19(3):257-67.
- Giugliano D, Marfella R, Coppola L, Verrazzo G, Acampora R, Giunta R, Nappo F, Lucarelli C, D'Onofrio F. Vascular effects of acute hyperglycemia in humans are reversed by L-arginine. Evidence for reduced availability of nitric oxide during hyperglycemia. *Circulation.* 1997;95(7):1783-90.
- Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. The road ahead. *Cell.* 2001;104(4):503-16.
- Godin DV, Wohaieb SA, Garnett ME, Goumeniouk AD. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes. *Mol Cell Biochem.* 1988;84(2):223-31.
- Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation.* 2006;114(6):597-605.
- Gonder-Frederick LA, Fisher CD, Ritterband LM, Cox DJ, Hou L, DasGupta AA, Clarke WL. Predictors of fear of hypoglycemia in adolescents with type 1 diabetes and their parents. *Pediatr Diabetes.* 2006;7(4):215-22.
- Gough SC. A review of human and analogue insulin trials. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77(1):1-15.
- Granger CB, Califf RM, Young S, Candela R, Samaha J, Worley S, Kereiakes DJ, Topol EJ. Outcome of patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction treated with thrombolytic agents. The Thrombolysis and Angioplasty in Myocardial Infarction (TAMI) Study Group. *J Am Coll Cardiol.* 1993;21(4):920-5.
- Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation.* 2003a;108(16):1912-6.

- Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies. *Circulation*. 2003b;108(17):2034-40.
- Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, Pietschmann P, Prager R, Schnack C, Scherthaner G, Mueller MM. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med*. 1995;98(5):469-75.
- Guerci B, Sauvanet JP. Subcutaneous insulin: pharmacokinetic variability and glycemic variability. *Diabetes Metab*. 2005;31(4 Pt 2):4S7-4S24.
- Gussekloo J, Schaap MC, Frölich M, Blauw GJ, Westendorp RG. C-reactive protein is a strong but nonspecific risk factor of fatal stroke in elderly persons. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(4):1047-51.
- Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, Sadowski J, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2002;105(14):1656-62.
- Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyörala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998;339(4):229-34.
- Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am*. 2005;52(6):1553-78.
- Harjutsalo V, Sjöberg L, Tuomilehto J. Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet*. 2008;371(9626):1777-82.
- Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med*. 2002;33(6):774-97.
- Hartnett ME, Stratton RD, Browne RW, Rosner BA, Lanham RJ, Armstrong D. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2000;23(2):234-40.
- Hayden MR, Tyagi SC. Myocardial redox stress and remodeling in metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and congestive heart failure. *Med Sci Monit*. 2003;9(7):SR35-52.

- Haymond MW, Schreiner B. Mini-dose glucagon rescue for hypoglycemia in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2001;24(4):643-5.
- Heilig CW, Concepcion LA, Riser BL, Freytag SO, Zhu M, Cortes P. Overexpression of glucose transporters in rat mesangial cells cultured in a normal glucose milieu mimics the diabetic phenotype. *J Clin Invest*. 1995;96(4):1802-14.
- Heinemann L, Linkeschova R, Rave K, Hompesch B, Sedlack M, Heise T. Timeaction profile of the long-acting insulin analog insulin glargine (HOE901) in comparison with those of NPH and placebo. *Diabetes Care*. 2000;23(5):644-9.
- Heinemann L, Richter B. Clinical pharmacology of human insulin. *Diabetes Care*. 1993;16 Suppl 3:90-100.
- Heise T, Bott S, Rave K, Dressler A, Rosskamp R, Heinemann L. No evidence for accumulation of insulin glargine (Lantus): a multiple injection study in patients with Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2002;19(6):490-5.
- Helgason T, Jonasson MR. Evidence for a food additive as a cause of ketosis-prone diabetes. *Lancet*. 1981;2(8249):716-20.
- Heller R, Unbehaun A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem*. 2001;276(1):40-7.
- Heller SR, Cryer PE. Reduced neuroendocrine and symptomatic responses to subsequent hypoglycemia after 1 episode of hypoglycemia in nondiabetic humans. *Diabetes*. 1991;40(2):223-6.
- Hermansen K, Davies M. Does insulin detemir have a role in reducing risk of insulin-associated weight gain? *Diabetes Obes Metab*. 2007;9(3):209-17.
- Hermansen K, Fontaine P, Kukolja KK, Peterkova V, Leth G, Gall MA. Insulin analogues (insulin detemir and insulin aspart) versus traditional human insulins (NPH insulin and regular human insulin) in basal-bolus therapy for patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2004;47(4):622-9.
- Hinchliffe RJ, Valk GD, Apelqvist J, Armstrong DG, Bakker K, Game FL, Hartemann-Heurtier A, Löndahl M, Price PE, van Houtum WH, Jeffcoate WJ. A systematic review of the effectiveness of interventions to enhance the healing of chronic ulcers of the foot in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008;24 Suppl 1:S119-44.

- Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, Skatchkov M, Thaiss F, Stahl RA, Warnholtz A, Meinertz T, Griendling K, Harrison DG, Forstermann U, Munzel T. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res.* 2001;88(2):E14-22.
- Hirsch IB. Insulin analogues. *N Engl J Med.* 2005;352(2):174-83.
- Hirsch IB. Intensive treatment of type 1 diabetes. *Med Clin North Am.* 1998;82(4):689-719.
- Holl RW, Swift PG, Mortensen HB, Lynggaard H, Hougaard P, Aanstoot HJ, Chiarelli F, Daneman D, Danne T, Dorchy H, Garandeanu P, Greene S, Hoey HM, Kaprio EA, Kocova M, Martul P, Matsuura N, Robertson KJ, Schoenle EJ, Sovik O, Tsou RM, Vanelli M, Aman J. Insulin injection regimens and metabolic control in an international survey of adolescents with type 1 diabetes over 3 years: results from the Hvidovre study group. *Eur J Pediatr.* 2003;162(1):22-9.
- Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008;359(15):1577-89.
- Home PD, Lindholm A, Hylleberg B, Round P. Improved glycemic control with insulin aspart: a multicenter randomized double-blind crossover trial in type 1 diabetic patients. UK Insulin Aspart Study Group. *Diabetes Care.* 1998;21(11):1904-9.
- Home PD, Lindholm A, Riis A; European Insulin Aspart Study Group. Insulin aspart vs. human insulin in the management of long-term blood glucose control in Type 1 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Diabet Med.* 2000;17(11):762-70.
- Home PD. Intensive insulin therapy in clinical practice. *Diabetologia.* 1997;40 Suppl 2:S83-7.
- Horvath K, Jeitler K, Berghold A, Ebrahim SH, Gratzner TW, Plank J, Kaiser T, Pieber TR, Siebenhofer A. Long-acting insulin analogues versus NPH insulin (human isophane insulin) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(2):CD005613.
- Hovind P, Tarnow L, Rossing K, Rossing P, Eising S, Larsen N, Binder C, Parving HH. Decreasing incidence of severe diabetic microangiopathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26(4):1258-64.
- Howey DC, Bowsher RR, Brunelle RL, Woodworth JR. [Lys(B28), Pro(B29)]-human insulin. A rapidly absorbed analogue of human insulin. *Diabetes.* 1994;43(3):396-402.

- Huang C, Kim Y, Caramori ML, Moore JH, Rich SS, Mychaleckyj JC, Walker PC, Mauer M. Diabetic nephropathy is associated with gene expression levels of oxidative phosphorylation and related pathways. *Diabetes*. 2006;55(6):1826-31.
- Huie RE, Padmaja S. The reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res Commun*. 1993;18(4):195-9.
- Hyöty H. Environmental causes: viral causes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2004;33(1):27-44, viii.
- IDF Clinical Guidelines Task Force. Global guideline for Type 2 diabetes. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2005.
- Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sportsman JR, Heath W, King GL. Preferential elevation of protein kinase C isoform beta II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(22):11059-63.
- International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel, Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, Dyer AR, Leiva Ad, Hod M, Kitzmiller JL, Lowe LP, McIntyre HD, Oats JJ, Omori Y, Schmidt MI. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care*. 2010;33(3):676-82.
- International Diabetes Federation. 2011 Guideline for Management of PostMeal Glucose in Diabetes; Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2011b.
- International Diabetes Federation. IDF DIABETES ATLAS 5th edition, 2012 update; Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2012.
- International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 5th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2011a.
- International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(7):1327-34.

- Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR; American Diabetes Association (ADA); European Association for the Study of Diabetes (EASD). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2012;35(6):1364-79.
- Ischiropoulos H. Biological tyrosine nitration: a pathophysiological function of nitric oxide and reactive oxygen species. *Arch Biochem Biophys*. 1998;356(1):1-11.
- Ito C, Maeda R, Ishida S, Sasaki H, Harada H. Correlation among fasting plasma glucose, two-hour plasma glucose levels in OGTT and HbA1c. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000;50(3):225-30.
- Jacob AN, Salinas K, Adams-Huet B, Raskin P. Potential causes of weight gain in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2006;8(4):404-11.
- Jacoby RM, Nesto RW. Acute myocardial infarction in the diabetic patient: pathophysiology, clinical course and prognosis. *J Am Coll Cardiol*. 1992;20(3):736-44.
- Jain SK, Nagi DK, Slavin BM, Lumb PJ, Yudkin JS. Insulin therapy in type 2 diabetic subjects suppresses plasminogen activator inhibitor (PAI1) activity and proinsulin-like molecules independently of glycaemic control. *Diabet Med*. 1993;10(1):27-32.
- Jeganathan VS. The therapeutic implications of renin-angiotensin system blockade in diabetic retinopathy. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12(3):392-5.
- Jerums G, Panagiotopoulos S, Premaratne E, MacIsaac RJ. Integrating albuminuria and GFR in the assessment of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol*. 2009;5(7):397-406.
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*. 2005;4(1):5.
- Johnston CI, Risvanis J, Naitoh M, Tikkanen I. Mechanism of progression of renal disease: current hemodynamic concepts. *J Hypertens Suppl*. 1998;16(4):S3-7.
- Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1993;88(6):2510-6.

- Joshi MS, Ferguson TB Jr, Han TH, Hyduke DR, Liao JC, Rassaf T, Bryan N, Feelisch M, Lancaster JR Jr. Nitric oxide is consumed, rather than conserved, by reaction with oxyhemoglobin under physiological conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(16):10341-6.
- Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group. The effect of continuous glucose monitoring in well-controlled type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(8):1378-83.
- Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group, Tamborlane WV, Beck RW, Bode BW, Buckingham B, Chase HP, Clemons R, Fiallo-Scharer R, Fox LA, Gilliam LK, Hirsch IB, Huang ES, Kollman C, Kowalski AJ, Laffel L, Lawrence JM, Lee J, Mauras N, O'Grady M, Ruedy KJ, Tansey M, Tsalikian E, Weinzimer S, Wilson DM, Wolpert H, Wysocki T, Xing D. Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2008;359(14):1464-76.
- Kahn SE. The relative contribution of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2003;46(1):3-19.
- Kaila B, Taback SP. The effect of day care exposure on the risk of developing type 1 diabetes: a meta-analysis of case-control studies. *Diabetes Care*. 2001;24(8):1353-8.
- Kaiser N, Sasson S, Feener EP, Boukobza-Vardi N, Higashi S, Moller DE, Davidheiser S, Przybylski RJ, King GL. Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Diabetes*. 1993;42(1):80-9.
- Kajanachumpol S, Komindr S, Mahaisiriyodom A. Plasma lipid peroxide and antioxidant levels in diabetic patients. *J Med Assoc Thai*. 1997;80(6):372-7.
- Kajstura J, Fiordaliso F, Andreoli AM, Li B, Chimenti S, Medow MS, Limana F, Nadal-Ginard B, Leri A, Anversa P. IGF-1 overexpression inhibits the development of diabetic cardiomyopathy and angiotensin II-mediated oxidative stress. *Diabetes*. 2001;50(6):1414-24.
- Kamoshima W, Kitamura Y, Nomura Y, Taniguchi T. Possible involvement of ADP-ribosylation of particular enzymes in cell death induced by nitric oxide-donors in human neuroblastoma cells. *Neurochem Int*. 1997;30(3):305-11.

- Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979;241(19):2035-8.
- Karlson BW, Herlitz J, Hjalmarson A. Prognosis of acute myocardial infarction in diabetic and non-diabetic patients. *Diabet Med*. 1993;10(5):449-54.
- Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care*. 2000;23(10):1516-26.
- Katayama T, Nakashima H, Takagi C, Honda Y, Suzuki S, Iwasaki Y, Yano K. Clinical outcomes and left ventricular function in diabetic patients with acute myocardial infarction treated by primary coronary angioplasty. *Int Heart J*. 2005;46(4):607-18.
- Kawamura M, Heinecke JW, Chait A. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. *J Clin Invest*. 1994;94(2):771-8.
- Kawano H, Motoyama T, Hirashima O, Hirai N, Miyao Y, Sakamoto T, Kugiyama K, Ogawa H, Yasue H. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34(1):146-54.
- Kedziora-Kornatowska K, Szram S, Kornatowski T, Szadujkis-Szadurski L, Kedziora J, Bartosz G. Effect of vitamin E and vitamin C supplementation on antioxidative state and renal glomerular basement membrane thickness in diabetic kidney. *Nephron Exp Nephrol*. 2003;95(4):e134-43.
- Kelly MA, Mijovic CH, Barnett AH. Genetics of type 1 diabetes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2001;15(3):279-91.
- Kempner JH, O'Colmain BJ, Leske MC, Haffner SM, Klein R, Moss SE, Taylor HR, Hamman RF; Eye Diseases Prevalence Research Group. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. *Arch Ophthalmol*. 2004;122(4):552-63.
- Kern TS. Contributions of inflammatory processes to the development of the early stages of diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res*. 2007;2007:95103.
- Kesavulu MM, Giri R, Kameswara Rao B, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab*. 2000;26(5):387-92.

- Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract.* 2001;53(1):33-9.
- Kilpatrick ES, Rigby AS, Atkins SL. The Diabetes Control and Complications Trial: the gift that keeps giving. *Nat Rev Endocrinol.* 2009;5(10):537-45.
- Kilpatrick ES. Arguments for and against the role of glucose variability in the development of diabetes complications. *J Diabetes Sci Technol.* 2009;3(4):649-55.
- Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crisis in adult patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(7):1335-43.
- Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2006;29(12):2739-48.
- Kittleson MM, Hare JM. Xanthine oxidase inhibitors: an emerging class of drugs for heart failure. *Eur Heart J.* 2005;26(15):1458-60.
- Kizaki H, Sakurada T. Simple micro-assay methods for enzymes of purine metabolism. *J Lab Clin Med.* 1977;89(5):1135-44.
- Klein R. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care.* 1995;18(2):258-68.
- Kocić R, Pavlović D, Kocić G. Impact of intensive insulin treatment on the development and consequences of oxidative stress in insulin-dependent diabetes mellitus. *Vojnosanit Pregl.* 2007;64(9):623-8.
- Kolm-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehmann R, Schleicher ED. High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J Clin Invest.* 1998;101(1):160-9.
- Kordonouri O, Hartmann R, Deiss D, Wilms M, Gruters-Kieslich A. Natural course of autoimmune thyroiditis in type 1 diabetes: association with gender, age, diabetes duration, and puberty. *Arch Dis Child.* 2005;90(4):411-4.
- Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Lett.* 1997;416(1):15-8.

- Kotsanos JG, Vignati L, Huster W, Andrejasich C, Boggs MB, Jacobson AM, Marrero D, Mathias SD, Patrick D, Zalani S, Anderson J. Health-related quality-of-life results from multinational clinical trials of insulin lispro. Assessing benefits of a new diabetes therapy. *Diabetes Care*. 1997;20(6):948-58.
- Koves IH, Neutze J, Donath S, Lee W, Werther GA, Barnett P, Cameron FJ. The accuracy of clinical assessment of dehydration during diabetic ketoacidosis in childhood. *Diabetes Care*. 2004;27(10):2485-7.
- Koya D, Jirousek MR, Lin YW, Ishii H, Kuboki K, King GL. Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanoids in the glomeruli of diabetic rats. *J Clin Invest*. 1997;100(1):115-26.
- Krischer JP, Cuthbertson DD, Yu L, Orban T, Maclaren N, Jackson R, Winter WE, Schatz DA, Palmer JP, Eisenbarth GS. Screening strategies for the identification of multiple antibody-positive relatives of individuals with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(1):103-8.
- Kuboki K, Jiang ZY, Takahara N, Ha SW, Igarashi M, Yamauchi T, Feener EP, Herbert TP, Rhodes CJ, King GL. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo: a specific vascular action of insulin. *Circulation*. 2000;101(6):676-81.
- Kuppusamy UR, Indran M, Ahmad T, Wong SW, Tan SY, Mahmood AA. Comparison of oxidative damage in Malaysian end-stage renal disease patients with or without non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 2005;351(1-2):197-201.
- Laakso M, Lehto S, Penttilä I, Pyörälä K. Lipids and lipoproteins predicting coronary heart disease mortality and morbidity in patients with non-insulin-dependent diabetes. *Circulation*. 1993;88(4 Pt 1):1421-30.
- Laakso M. Hyperglycemia and cardiovascular disease in Type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;48(5):937-42.
- Lachin JM, Genuth S, Nathan DM, Zinman B, Rutledge BN; DCCT/EDIC Research Group. Effect of glycemic exposure on the risk of microvascular complications in the diabetes control and complications trial: revisited. *Diabetes*. 2008;57(4):995-1001.

- Lalić N, Tankova T, Nourredine M, Parkin C, Schweppe U, Amann-Zalan I. Value and utility of structured self-monitoring of blood glucose in real world clinical practice: findings from a multinational observational study. *Diabetes Technol Ther.* 2012;14(4):338-43.
- Lalić NM. The case for: hypoglycemia is of cardiovascular importance. *Diabetes Care.* 2013;36 Suppl 2:S264-6.
- Lalli C, Ciofetta M, Del Sindaco P, Torlone E, Pampanelli S, Compagnucci P, Cartechini MG, Bartocci L, Brunetti P, Bolli GB. Long-term intensive treatment of type 1 diabetes with the short-acting insulin analog lispro in variable combination with NPH insulin at mealtime. *Diabetes Care.* 1999;22(3):468-77.
- Lambert AP, Gillespie KM, Thomson G, Cordell HJ, Todd JA, Gale EA, Bingley PJ. Absolute risk of childhood-onset type 1 diabetes defined by human leukocyte antigen class II genotype: a population-based study in the United Kingdom. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(8):4037-43.
- Lammi N, Karvonen M, Tuomilehto J. Do microbes have a causal role in type 1 diabetes? *Med Sci Monit.* 2005;11(3):RA63-9.
- Lampeter EF, Homberg M, Quabeck K, Schaefer UW, Wernet P, Bertrams J, Grosse-Wilde H, Gries FA, Kolb H. Transfer of insulin-dependent diabetes between HLA-identical siblings by bone marrow transplantation. *Lancet.* 1993;341(8855):1243-4.
- Landin-Olsson M, Karlsson FA, Lernmark A, Sundkvist G. Diabetes Incidence Study in Sweden Group. Islet cell and thyrogastic antibodies in 633 consecutive 15- to 34-year-old patients in the Diabetes Incidence Study in Sweden. *Diabetes.* 1992;41(8):1022-7.
- Landon MB, Spong CY, Thom E, Carpenter MW, Ramin SM, Casey B, Wapner RJ, Varner MW, Rouse DJ, Thorp JM Jr., Sciscione A, Catalano P, Harper M, Saade G, Lain KY, Sorokin Y, Peaceman AM, Tolosa JE, Anderson GB. A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *N Engl J Med.* 2009;361(14):1339-48.
- Larger E. Weight gain and insulin treatment. *Diabetes Metab.* 2005;31(4 Pt 2):4S51-4S56.
- Lemley KV. A basis for accelerated progression of diabetic nephropathy in Pima Indians. *Kidney Int Suppl.* 2003;(83):S38-42.

- Lepore M, Pampanelli S, Fanelli C, Porcellati F, Bartocci L, Di Vincenzo A, Cordonni C, Costa E, Brunetti P, Bolli GB. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of subcutaneous injection of long-acting human insulin analog glargine, NPH insulin, and ultralente human insulin and continuous subcutaneous infusion of insulin lispro. *Diabetes*. 2000;49(12):2142-8.
- Levy-Marchal C, Patterson CC, Green A. Geographical variation of presentation at diagnosis of type I diabetes in children: the EURODIAB study. *European and Diabetes*. 2001;44 (Suppl 3):B75–B80.
- Lewis EJ, Lewis JB. Treatment of diabetic nephropathy with angiotensin II receptor antagonist. *Clin Exp Nephrol*. 2003;7(1):1-8.
- Libby P, Plutzky J. Diabetic macrovascular disease: the glucose paradox? *Circulation*. 2002;106(22):2760-3.
- Lie BA, Ronningen KS, Akselsen HE, Thorsby E, Undlien DE. Application and interpretation of transmission/disequilibrium tests: transmission of HLA-DQ haplotypes to unaffected siblings in 526 families with type 1 diabetes. *Am J Hum Genet*. 2000;66(2):740-3.
- Linke A, Adams V, Schulze PC, Erbs S, Gielen S, Fiehn E, Möbius-Winkler S, Schubert A, Schuler G, Hambrecht R. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation*. 2005;111(14):1763-70.
- Little AA, Edwards JL, Feldman EL. Diabetic neuropathies. *Pract Neurol*. 2007;7(2):82-92.
- Liu Y, Terata K, Chai Q, Li H, Kleinman LH, Gutterman DD. Peroxynitrite inhibits Ca²⁺-activated K⁺ channel activity in smooth muscle of human coronary arterioles. *Circ Res*. 2002;91(11):1070-6.
- Losada M, Alio JL. Malondialdehyde serum concentration in type 1 diabetic with and without retinopathy. *Doc Ophthalmol*. 1996-1997;93(3):223-9.
- Lu D, Maulik N, Moraru II, Kreutzer DL, Das DK. Molecular adaptation of vascular endothelial cells to oxidative stress. *Am J Physiol*. 1993;264(3 Pt 1):C715-22.
- Lynch M, Gammage MD, Lamb P, Natrass M, Pentecost BL. Acute myocardial infarction in diabetic patients in the thrombolytic era. *Diabet Med*. 1994;11(2):162-5.

- Maclaren N, Lan M, Coutant R, Schatz D, Silverstein J, Muir A, Clare-Salzer M, She JX, Malone J, Crockett S, Schwartz S, Quattrin T, DeSilva M, Vander Vegt P, Notkins A, Krischer J. Only multiple autoantibodies to islet cells (ICA), insulin, GAD65, IA-2 and IA-2beta predict immune-mediated (Type 1) diabetes in relatives. *J Autoimmun.* 1999;12(4):279-87.
- Maclaren NK, Riley WJ. Thyroid, gastric, and adrenal autoimmunities associated with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1985;8 Suppl 1:34-8.
- Mahboob M, Rahman MF, Grover P. Serum lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in male and female diabetic patients. *Singapore Med J.* 2005;46(7):322-4.
- Mancia G. Effects of intensive blood pressure control in the management of patients with type 2 diabetes mellitus in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Circulation.* 2010;122(8):847-9.
- Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, Dyal L, Schumacher H, Pogue J, Wang X, Maggioni A, Budaj A, Chaithiraphan S, Dickstein K, Keltai M, Metsärinne K, Oto A, Parkhomenko A, Piegas LS, Svendsen TL, Teo KK, Yusuf S; ONTARGET investigators. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet.* 2008;372(9638):547-53.
- Manson JE, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Hunter DJ, Hankinson SE, Hennekens CH, Speizer FE. Body weight and mortality among women. *N Engl J Med.* 1995;333(11):677-85.
- Marchioli R, Schweiger C, Levantesi G, Tavazzi L, Valagussa F. Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: epidemiological and clinical trial data. *Lipids.* 2001;36 Suppl:S53-63.
- Marfella R, Quagliaro L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest.* 2001;108(4):635-6.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003;17(1):24-38.

- Martin CL, Albers J, Herman WH, Cleary P, Waberski B, Greene DA, Stevens MJ, Feldman EL; DCCT/EDIC Research Group. Neuropathy among the diabetes control and complications trial cohort 8 years after trial completion. *Diabetes Care*. 2006;29(2):340-4.
- Matkovics B, Kotormán M, Varga IS, Hai DQ, Salgó L, Novák Z. Pro-, antioxidant and rheologic studies in the blood of type 2 diabetic patients. *Acta Physiol Hung*. 1997-1998;85(2):107-12.
- Matkovics B, Varga SI, Szabó L, Witas H. The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horm Metab Res*. 1982;14(2):77-9.
- Matsumoto S, Koshiishi I, Inoguchi T, Nawata H, Utsumi H. Confirmation of superoxide generation via xanthine oxidase in streptozotocin-induced diabetic mice. *Free Radic Res*. 2003;37(7):767-72.
- Mauer M, Zinman B, Gardiner R, Suissa S, Sinaiko A, Strand T, Drummond K, Donnelly S, Goodyer P, Gubler MC, Klein R. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2009;361(1):40-51.
- Mayhan WG. Impairment of endothelium-dependent dilatation of cerebral arterioles during diabetes mellitus. *Am J Physiol*. 1989;256(3 Pt 2):H621-5.
- Mazze RS, Strock E, Wesley D, Borgman S, Morgan B, Bergenstal R, Cuddihy R. Characterizing glucose exposure for individuals with normal glucose tolerance using continuous glucose monitoring and ambulatory glucose profile analysis. *Diabetes Technol Ther*. 2008;10(3):149-59.
- McCarter RJ, Hempe JM, Chalew SA. Mean blood glucose and biological variation have greater influence on HbA1c levels than glucose instability: an analysis of data from the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*. 2006;29(2):352-5.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969;244(22):6049-55.
- McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1992;35(8):771-6.

- Mekinova D, Chorvathova V, Volkovova K, Staruchova M, Grancicova E, Klvanoca J, Ondreicka R. Effect of intake of exogenous vitamins C, E and beta-carotene on the antioxidative status in kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Nahrung*. 1995;39(4):257-61.
- Meraji S, Jayakody L, Senaratne MP, Thomson AB, Kappagoda T. Endothelium-dependent relaxation in aorta of BB rat. *Diabetes*. 1987;36(8):978-81.
- Metchick LN, Petit WA Jr, Inzucchi SE. Inpatient management of diabetes mellitus. *Am J Med*. 2002;113(4):317-23.
- Mihm MJ, Jing L, Bauer JA. Nitrotyrosine causes selective vascular endothelial dysfunction and DNA damage. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2000;36(2):182-7.
- Moberg E, Kollind M, Lins PE, Adamson U. Estimation of blood-glucose variability in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest*. 1993;53(5):507-14.
- Moghissi ES, Hirsch IB. Hospital management of diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2005;34(1):99-116.
- Mohamed Q, Gillies MC, Wong TY. Management of diabetic retinopathy: a systematic review. *JAMA*. 2007;298(8):902-16.
- Molbak AG, Christau B, Marnier B, Borch-Johnsen K, Nerup J. Incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in age groups over 30 years in Denmark. *Diabet Med*. 1994;11(7):650-5.
- Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest*. 1991;21(4):361-74.
- Monnier L, Lapinski H, Colette C. Contributions of fasting and postprandial plasma glucose increments to the overall diurnal hyperglycemia of Type 2 diabetic patients: variations with increasing levels of HbA1c. *Diabetes Care*. 2003;26(3):881-5.
- Monnier L. Is postprandial glucose a neglected cardiovascular risk factor in type 2 diabetes? *Eur J Clin Invest*. 2000;30 Suppl 2:3-11.
- Morales J. Defining the role of insulin detemir in Basal insulin therapy. *Drugs*. 2007;67(17):2557-84.

- Mudaliar SR, Lindberg FA, Joyce M, Beerdsen P, Strange P, Lin A, Henry RR. Insulin aspart (B28 asp-insulin): a fast-acting analog of human insulin: absorption kinetics and action profile compared with regular human insulin in healthy nondiabetic subjects. *Diabetes Care*. 1999;22(9):1501-6.
- Murphy NP, Keane SM, Ong KK, Ford-Adams M, Edge JA, Acerini CL, Dunger DB. Randomized cross-over trial of insulin glargine plus lispro or NPH insulin plus regular human insulin in adolescents with type 1 diabetes on intensive insulin regimens. *Diabetes Care*. 2003;26(3):799-804.
- Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso G, Marfella R, Giugliano D. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(7):1145-50.
- Nascimento NR, Lessa LM, Kerntopf MR, Sousa CM, Alves RS, Queiroz MG, Price J, Heimark DB, Larner J, Du X, Brownlee M, Gow A, Davis C, Fonteles MC. Inositols prevent and reverse endothelial dysfunction in diabetic rat and rabbit vasculature metabolically and by scavenging superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(1):218-23.
- Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell*. 1994;78(6):915-8.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, Raskin P, Zinman B; Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2005;353(25):2643-53.
- Nathan DM, Lachin J, Cleary P, Orchard T, Brillon DJ, Backlund JY, O'Leary DH, Genuth S; Diabetes Control and Complications Trial; Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2003;348(23):2294-303.
- Navarro-González JA, García-Benayas C, Arenas J. Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin Chem*. 1998;44(3):679-81.
- Nepom GT, Kwok WW. Molecular basis for HLA-DQ associations with IDDM. *Diabetes*. 1998;47(8):1177-84.

- Nicolucci A, Carinci F, Cavaliere D, Scorpiglione N, Belfiglio M, Labbrozzi D, Mari E, Benedetti MM, Tognoni G, Liberati A. A meta-analysis of trials on aldose reductase inhibitors in diabetic peripheral neuropathy. The Italian Study Group. The St. Vincent Declaration. *Diabet Med.* 1996;13(12):1017-26.
- Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000;404(6779):787-90.
- Nishino T, Horii Y, Shiiki H, Yamamoto H, Makita Z, Bucala R, Dohi K. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products within the vascular lesions and glomeruli in diabetic nephropathy. *Hum Pathol.* 1995;26(3):308-13.
- Norata GD, Pirillo A, Catapano AL. Modified HDL: biological and physiopathological consequences. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006;16(5):371-86.
- Norris JM, Barriga K, Hoffenberg EJ, Taki I, Miao D, Haas JE, Emery LM, Sokol RJ, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers M. Risk of celiac disease autoimmunity and timing of gluten introduction in the diet of infants at increased risk of disease. *JAMA.* 2005;293(19):2343-51.
- Norris JM, Yin X, Lamb MM, Barriga K, Seifert J, Hoffman M, Orton HD, Baron AE, Clare-Salzler M, Chase HP, Szabo NJ, Erlich H, Eisenbarth GS, Rewers M. Omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes. *JAMA.* 2007;298(12):1420-8.
- Nunes S, Pires I, Rosa A, Duarte L, Bernardes R, Cunha-Vaz J. Microaneurysm turnover is a biomarker for diabetic retinopathy progression to clinically significant macular edema: findings for type 2 diabetics with nonproliferative retinopathy. *Ophthalmologica.* 2009;223(5):292-7.
- O'Donnell M, Yusuf S. Tackling the global burden of stroke: the need for large-scale international studies. *Lancet Neurol.* 2009;8(4):306-7.
- Ookawara T, Kawamura N, Kitagawa Y, Taniguchi N. Site-specific and random fragmentation of Cu,Zn-superoxide dismutase by glycation reaction. Implication of reactive oxygen species. *J Biol Chem.* 1992;267(26):18505-10.

- Orlander PR, Goff DC, Morrissey M, Ramsey DJ, Wear ML, Labarthe DR, Nichaman MZ. The relation of diabetes to the severity of acute myocardial infarction and post-myocardial infarction survival in Mexican-Americans and non-Hispanic whites. The Corpus Christi Heart Project. *Diabetes*. 1994;43(7):897-902.
- Owens DR, Coates PA, Luzio SD, Tinbergen JP, Kurzhals R. Pharmacokinetics of 125I-labeled insulin glargine (HOE 901) in healthy men: comparison with NPH insulin and the influence of different subcutaneous injection sites. *Diabetes Care*. 2000;23(6):813-9.
- Owens DR, Zinman B, Bolli GB. Insulins today and beyond. *Lancet*. 2001;358(9283):739-46.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. 2007;87(1):315-424.
- Pacher P, Liaudet L, Soriano FG, Mabley JG, Szabó E, Szabó C. The role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes*. 2002;51(2):514-21.
- Pacher P, Nivorozhkin A, Szabó C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol Rev*. 2006;58(1):87-114.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70(1):158-69.
- Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, Curhan GC, Rifai N, Cannuscio CC, Stampfer MJ, Rimm EB. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med*. 2004;351(25):2599-610.
- Pan HZ, Zhang L, Guo MY, Sui H, Li H, Wu WH, Qu NQ, Liang MH, Chang D. The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Acta Diabetol*. 2010;47 Suppl 1:71-6.
- Park KS, Kim JH, Kim MS, Kim JM, Kim SK, Choi JY, Chung MH, Han B, Kim SY, Lee HK. Effects of insulin and antioxidant on plasma 8-hydroxyguanine and tissue 8-hydroxydeoxyguanosine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*. 2001;50(12):2837-41.

- Parthiban A, Vijayalingam S, Shanmugasundaram KR, Mohan R. Oxidative stress and the development of diabetic complications--antioxidants and lipid peroxidation in erythrocytes and cell membrane. *Cell Biol Int*. 1995;19(12):987-93.
- Pasaoglu H, Sancak B, Bukan N. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med*. 2004;203(3):211-8.
- Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102(18):2165-8.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511.
- Pennathur S, Wagner JD, Leeuwenburgh C, Litwak KN, Heinecke JW. A hydroxyl radical-like species oxidizes cynomolgus monkey artery wall proteins in early diabetic vascular disease. *J Clin Invest*. 2001;107(7):853-60.
- Pešić M, Živić S, Radenković S, Velojić M, Dimić D, Antić S. [Comparison between basal insulin glargine and NPH insulin in patients with diabetes type 1 on conventional intensive insulin therapy]. *Vojnosanit Pregl*. 2007;64(4):247-52.
- Peter R, Luzio SD, Dunseath G, Pauvaday V, Mustafa N, Owens DR. Relationship between HbA1c and indices of glucose tolerance derived from a standardized meal test in newly diagnosed treatment naive subjects with Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2006;23(9):990-5.
- Peuchant E, Delmas-Beauvieux MC, Couchouron A, Dubourg L, Thomas MJ, Perromat A, Clerc M, Gin H. Short-term insulin therapy and normoglycemia. Effects on erythrocyte lipid peroxidation in NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1997;20(2):202-7.
- Pfützner A, Küstner E, Forst T, Schulze-Schleppinghoff B, Trautmann ME, Haslbeck M, Schatz H, Beyer J. Intensive insulin therapy with insulin lispro in patients with type 1 diabetes reduces the frequency of hypoglycemic episodes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1996;104(1):25-30.

- Pickup J, Keen H. Continuous subcutaneous insulin infusion 25 years: evidence base for the expanding use of insulin pump therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2002;25(3):593-8.
- Pieber TR, Eugene-Jolchine I, Derobert E. Efficacy and safety of HOE 901 versus NPH insulin in patients with type 1 diabetes. The European Study Group of HOE 901 in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(2):157-62.
- Pitocco D, Di Stasio E, Romitelli F, Zaccardi F, Tavazzi B, Manto A, Caputo S, Musella T, Zuppi C, Santini SA, Ghirlanda G. Hypouricemia linked to an overproduction of nitric oxide is an early marker of oxidative stress in female subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008;24(4):318-23.
- Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Martini F, Scaglione GL, Speranza D, Santini S, Zuppi C, Ghirlanda G. Role of asymmetric-dimethyl-L-arginine (ADMA) and nitrite/nitrate (NOx) in the pathogenesis of oxidative stress in female subjects with uncomplicated type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009;86(3):173-6.
- Plutzky J. Inflammation in atherosclerosis and diabetes mellitus. *Rev Endocr Metab Disord*. 2004;5(3):255-9.
- Polidori MC, Praticó D, Savino K, Rokach J, Stahl W, Mecocci P. Increased F2 isoprostane plasma levels in patients with congestive heart failure are correlated with antioxidant status and disease severity. *J Card Fail*. 2004;10(4):334-8.
- Polonsky KS, Given BD, Van Cauter E. Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. *J Clin Invest*. 1988;81(2):442-8.
- Powrie KJ, Watts FG, Ingham NJ, Taub AN, Talmud JP, Shaw MK. Role of glycaemic control in development of microalbuminuria in patients with insulin dependent diabetes. *BMJ*. 1994;309(6969):1608-12.
- Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, Wallace RB, Jackson RD, Pettinger MB, Ridker PM. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA*. 2002;288(8):980-7.
- Prohaska JR, Oh SH, Hoekstra WG, Ganther HE. Glutathione peroxidase: inhibition by cyanide and release of selenium. *Biochem Biophys Res Commun*. 1977;74(1):64-71.

- Purnell JQ, Hokanson JE, Marcovina SM, Steffes MW, Cleary PA, Brunzell JD. Effect of excessive weight gain with intensive therapy of type 1 diabetes on lipid levels and blood pressure: results from the DCCT. *Diabetes Control and Complications Trial. JAMA.* 1998;280(2):140-6.
- Purnell JQ, Weyer C. Weight effect of current and experimental drugs for diabetes mellitus: from promotion to alleviation of obesity. *Treat Endocrinol.* 2003;2(1):33-47.
- Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Martinelli L, Motz E, Ceriello A. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells: the role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation. *Diabetes.* 2003;52(11):2795-804.
- Radenković SP, Pešić MM, Velojić Golubović MD, Dimić DN, Radojković DB, Ćirić VM, Kocić RD. Continuous subcutaneous insulin infusion vs. multiple daily injections. *Cent Eur J Med.* 2011;6(5):575-81.
- Ragbir S, Farmer JA. Dysfunctional high-density lipoprotein and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2010;12(5):343-8.
- Rajesh M, Mukhopadhyay P, Bátkai S, Mukhopadhyay B, Patel V, Haskó G, Szabó C, Mabley JG, Liaudet L, Pacher P. Xanthine oxidase inhibitor allopurinol attenuates the development of diabetic cardiomyopathy. *J Cell Mol Med.* 2009;13(8B):2330-41.
- Raju B, Arbelaez AM, Breckenridge SM, Cryer PE. Nocturnal hypoglycemia in type 1 diabetes: an assessment of preventive bedtime treatments. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(6):2087-92.
- Raju B, Cryer PE. Loss of the decrement in intraislet insulin plausibly explains loss of the glucagon response to hypoglycemia in insulin-deficient diabetes: documentation of the intraislet insulin hypothesis in humans. *Diabetes.* 2005;54(3):757-64.
- Ramakrishna V, Jaiikhani R. Oxidative stress in non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) patients. *Acta Diabetol.* 2008;45(1):41-6.
- Ramasamy R, Goldberg IJ. Aldose reductase and cardiovascular diseases, creating human-like diabetic complications in an experimental model. *Circ Res.* 2010;106(9):1449-58.

- Raskin P, Holcombe JH, Tamborlane WV, Malone JJ, Strowig S, Ahern JA, Lavent F. A comparison of insulin lispro and buffered regular human insulin administered via continuous subcutaneous insulin infusion pump. *J Diabetes Complications*. 2001;15(6):295-300.
- Rathur HM, Boulton AJ. The diabetic foot. *Clin Dermatol*. 2007;25(1):109-20.
- Ratner RE, Hirsch IB, Neifing JL, Garg SK, Mecca TE, Wilson CA. Less hypoglycemia with insulin glargine in intensive insulin therapy for type 1 diabetes. U.S. Study Group of Insulin Glargine in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(5):639-43.
- Raymond NT, Jones JR, Swift PG, Davies MJ, Lawrence G, McNally PG, Burden ML, Gregory R, Burden AC, Botha JL. Comparative incidence of Type I diabetes in children aged under 15 years from South Asian and White or Other ethnic backgrounds in Leicestershire, UK, 1989 to 1998. *Diabetologia*. 2001;44 Suppl 3:B32-6.
- Redondo MJ, Fain PR, Eisenbarth GS. Genetics of type 1A diabetes. *Recent Prog Horm Res*. 2001;56:69-89.
- Reichard P, Berglund A, Britz A, Levander S, Rosenqvist U. Hypoglycemic episodes during intensified insulin treatment: increased frequency but no effect on cognitive function. *J Intern Med*. 1991;229(1):9-16.
- Rema M, Mohan V, Bhaskar A, Shanmugasundaram KR. Does oxidant stress play a role in diabetic retinopathy? *Indian J Ophthalmol*. 1995;43(1):17-21.
- Remuzzi G, Ruggenti P, Mauer SM. Pancreas and kidney/pancreas transplants: experimental medicine or real improvement? *Lancet*. 1994;343(8888):27-31.
- Renner R, Pfützner A, Trautmann M, Harzer O, Sauter K, Landgraf R. Use of insulin lispro in continuous subcutaneous insulin infusion treatment. Results of a multicenter trial. German Humalog-CSII Study Group. *Diabetes Care*. 1999;22(5):784-8.
- Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje Diabetes Mellitusa. Drugo izmenjeno i dopunjeno izdanje, novembar 2012. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije
- Rewers A, Chase HP, Mackenzie T, Walravens P, Roback M, Rewers M, Hamman RF, Klingensmith G. Predictors of acute complications in children with type 1 diabetes. *JAMA*. 2002;287(19):2511-8.

- Rewers M, Bugawan TL, Norris JM, Blair A, Beaty B, Hoffman M, McDuffie RS, Jr, Hamman RF, Klingensmith G, Eisenbarth GS, Erlich HA. Newborn screening for HLA markers associated with IDDM: diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). *Diabetologia*. 1996;39(7):807-12.
- Rewers M, Laporte RE, Walczak M, Dmochowski K, Bogaczynska E. Apparent epidemic of insulin-dependent diabetes mellitus in Midwestern Poland. *Diabetes*. 1987;36(1):106-13.
- Rewers M. The fallacy of reduction. *Pediatr Diabetes*. 2012;13(4):340-3.
- Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003;107(3):363-9.
- Roche EF, Menon A, Gill D, Hoey H. Clinical presentation of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2005;6(2):75-8.
- Rodbard HW, Blonde L, Braithwaite SS, Brett EM, Cobin RH, Handelsman Y, Hellman R, Jellinger PS, Jovanovic LG, Levy P, Mechanick JI, Zangeneh F; AACE Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the management of diabetes mellitus. *Endocr Pract*. 2007;13 Suppl 1:1-68.
- Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, Carnethon MR, Dai S, de Simone G, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Greenlund KJ, Hailpern SM, Heit JA, Ho PM, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, McDermott MM, Meigs JB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Rosamond WD, Sorlie PD, Stafford RS, Turan TN, Turner MB, Wong ND, Wylie-Rosett J; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(4):e18-e209.
- Roivainen M. Enteroviruses: new findings on the role of enteroviruses in type 1 diabetes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(5-6):721-5.
- Rosenfeld L. Insulin: discovery and controversy. *Clin Chem*. 2002;48(12):2270-88.

- Rosenstock J, Park G, Zimmerman J; U.S. Insulin Glargine (HOE 901) Type 1 Diabetes Investigator Group. Basal insulin glargine (HOE 901) versus NPH insulin in patients with type 1 diabetes on multiple daily insulin regimens. U.S. Insulin Glargine (HOE 901) Type 1 Diabetes Investigator Group. *Diabetes Care*. 2000;23(8):1137-42.
- Rossetti P, Pampanelli S, Fanelli C, Porcellati F, Costa E, Torlone E, Scionti L, Bolli GB. Intensive replacement of basal insulin in patients with type 1 diabetes given rapid-acting insulin analog at mealtime: a 3-month comparison between administration of NPH insulin four times daily and glargine insulin at dinner or bedtime. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1490-6.
- Rossetti P, Porcellati F, Bolli GB, Fanelli CG. Prevention of hypoglycemia while achieving good glycemic control in type 1 diabetes: the role of insulin analogs. *Diabetes Care*. 2008;31 Suppl 2:S113-20.
- Roskamp RH, Park G. Long-acting insulin analogs. *Diabetes Care*. 1999;22 Suppl 2:B109-13.
- Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, D'Agostino RB, Franzblau C, Wilson PW. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke*. 2001;32(11):2575-9.
- Rudberg S, Ullman E, Dahlquist G. Relationship between early metabolic control and the development of microalbuminuria-a longitudinal study in children with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1993;36(12):1309-14.
- Ruiz C, Alegría A, Barberá R, Farré R, Lagarda MJ. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type 1 diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59(2):99-105.
- Said G. Diabetic neuropathy--a review. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007;3(6):331-40.
- Sallé A, Ryan M, Guilloteau G, Bouhanick B, Berrut G, Ritz P. 'Glucose control-related' and 'non-glucose control-related' effects of insulin on weight gain in newly insulin-treated type 2 diabetic patients. *Br J Nutr*. 2005;94(6):931-7.
- Sandoval DA, Guy DL, Richardson MA, Ertl AC, Davis SN. Effects of low and moderate antecedent exercise on counterregulatory responses to subsequent hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(7):1798-806.

- Santini SA, Marra G, Giardina B, Cotroneo P, Mordente A, Martorana GE, Manto A, Ghirlanda G. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes*. 1997;46(11):1853-8.
- Savola K, Bonifacio E, Sabbah E, Kulmala P, Vahasalo P, Karjalainen J, Tuomilehto-Wolf E, Merilainen J, Akerblom HK, Knip M. IA-2 antibodies — a sensitive marker of IDDM with clinical onset in childhood and adolescence. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetologia*. 1998;41(4):424-9.
- Sawa A, Khan AA, Hester LD, Snyder SH. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: nuclear translocation participates in neuronal and nonneuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(21):11669-74.
- Sayeski PP, Kudlow JE. Glucose metabolism to glucosamine is necessary for glucose stimulation of transforming growth factor- α gene transcription. *J Biol Chem*. 1996;271(25):15237-43.
- Schaumberg DA, Glynn RJ, Jenkins AJ, Lyons TJ, Rifai N, Manson JE, Ridker PM, Nathan DM. Effect of intensive glycemic control on levels of markers of inflammation in type 1 diabetes mellitus in the diabetes control and complications trial. *Circulation*. 2005;111(19):2446-53.
- SEARCH for Diabetes in Youth Study Group, Liese AD, D'Agostino RB Jr, Hamman RF, Kilgo PD, Lawrence JM, Liu LL, Loots B, Linder B, Marcovina S, Rodriguez B, Standiford D, Williams DE. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics*. 2006;118(4):1510-8.
- Seghrouchni I, Draï J, Bannier E, Rivière J, Calmard P, Garcia I, Orgiazzi J, Revol A. Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*. 2002;321(1-2):89-96.
- Selam J.L. How to measure glycemic instability? *Diabetes Metab*. 2000;26(2):148-51.
- Service FJ, Molnar GD, Rosevear JW, Ackerman E, Gatewood LC, Taylor WF. Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability. *Diabetes*. 1970;19(9):644-55.

- Seshasai SR, Kaptoge S, Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, Sarwar N, Whincup PH, Mukamal KJ, Gillum RF, Holme I, Njølstad I, Fletcher A, Nilsson P, Lewington S, Collins R, Gudnason V, Thompson SG, Sattar N, Selvin E, Hu FB, Danesh J. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med.* 2011;364(9):829-41.
- Sheldon B, Russell-Jones D, Wright J. Insulin analogues: an example of applied medical science. *Diabetes Obes Metab.* 2009;11(1):5-19.
- Shen X, Zheng S, Metreveli NS, Epstein PN. Protection of cardiac mitochondria by overexpression of MnSOD reduces diabetic cardiomyopathy. *Diabetes.* 2006;55(3):798-805.
- Shiba T, Inoguchi T, Sportsman JR, Heath WF, Bursell S, King GL. Correlation of diacylglycerol level and protein kinase C activity in rat retina to retinal circulation. *Am J Physiol.* 1993;265(5 Pt 1):E783-93.
- Siebenhofer A, Plank J, Berghold A, Jeitler K, Horvath K, Narath M, Gfrerer R, Pieber TR. Short acting insulin analogues versus regular human insulin in patients with diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(2):CD003287.
- Simpson KL, Spencer CM. Insulin aspart. *Drugs.* 1999;57(5):759-65; discussion 766-7.
- Singh N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA.* 2005;293(2):217-28.
- Skovbjerg H, Tarnow L, Locht H, Parving HH. The prevalence of coeliac disease in adult Danish patients with type 1 diabetes with and without nephropathy. *Diabetologia.* 2005;48(7):1416-7.
- Skrivarhaug T, Bangstad HJ, Stene LC, Sandvik L, Hanssen KF, Joner G. Long-term mortality in a nationwide cohort of childhood-onset type 1 diabetic patients in Norway. *Diabetologia.* 2006;49(2):298-305.

- Skyler JS, Bergenstal R, Bonow RO, Buse J, Deedwania P, Gale EA, Howard BV, Kirkman MS, Kosiborod M, Reaven P, Sherwin RS; American Diabetes Association; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Intensive glycemic control and the prevention of cardiovascular events: implications of the ACCORD, ADVANCE, and VA diabetes trials: a position statement of the American Diabetes Association and a scientific statement of the American College of Cardiology Foundation and the American Heart Association. *Diabetes Care*. 2009;32(1):187-92.
- Soliman GZ. Blood lipid peroxidation (superoxide dismutase, malondialdehyde, glutathione) levels in Egyptian type 2 diabetic patients. *Singapore Med J*. 2008;49(2):129-36.
- Song F, Jia W, Yao Y, Hu Y, Lei L, Lin J, Sun X, Liu L. Oxidative stress, antioxidant status and DNA damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed Type 2 diabetes. *Clin Sci (Lond)*. 2007;112(12):599-606.
- Soriano FG, Pacher P, Mabley J, Liaudet L, Szabó C. Rapid reversal of the diabetic endothelial dysfunction by pharmacological inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase. *Circ Res*. 2001b;89(8):684-91.
- Soriano FG, Virág L, Szabó C. Diabetic endothelial dysfunction: role of reactive oxygen and nitrogen species production and poly(ADP-ribose) polymerase activation. *J Mol Med (Berl)*. 2001a;79(8):437-48.
- Spitaler MM, Graier WF. Vascular targets of redox signalling in diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2002;45(4):476-94.
- Srivatsan R, Das S, Gadde R, Manoj-Kumar K, Taduri S, Rao N, Ramesh B, Baharani A, Shah K, Kamireddy SC, Priyatham G, Balakumaran TA, Balakumaran SS, Kamath A, Rao A. Antioxidants and lipid peroxidation status in diabetic patients with and without complications. *Arch Iran Med*. 2009;12(2):121-7.
- Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12 year cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*. 1993;16(2):434-44.
- Steed DL, Attinger C, Colaizzi T, Crossland M, Franz M, Harkless L, Johnson A, Moosa H, Robson M, Serena T, Sheehan P, Veves A, Wiersma-Bryant L. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers. *Wound Repair Regen*. 2006;14(6):680-92.

- Stensvold I, Tverdal A, Urdal P, Graff-Iversen S. Non-fasting serum triglyceride concentration and mortality from coronary heart disease and any cause in middle aged Norwegian women. *BMJ*. 1993;307(6915):1318-22.
- Stiegler H, Standl E, Frank S, Mendler G. Failure of reducing lower extremity amputations in diabetic patients: results of two subsequent population based surveys 1990 and 1995 in Germany. *Vasa*. 1998;27(1):10-4.
- Stitt AW, Li YM, Gardiner TA, Bucala R, Archer DB, Vlassara H. Advanced glycation end products (AGEs) co-localize with AGE receptors in the retinal vasculature of diabetic and of AGE-infused rats. *Am J Pathol*. 1997;150(2):523-31.
- Stojanovic I, Djordjevic G, Pavlovic R, Djordjevic V, Pavlovic D, Cvetkovic T, Ljubisavljevic S, Basic J, Zabar K. The importance of L-arginine metabolism modulation in diabetic patients with distal symmetric polyneuropathy. *J Neurol Sci*. 2013;324(1-2):40-4.
- Stoner GD. Hyperosmolar hyperglycemic state. *Am Fam Physician*. 2005;71(9):1723-30.
- Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000;321(7258):405-12.
- Strong K, Mathers C, Bonita R. Preventing stroke: saving lives around the world. *Lancet Neurol*. 2007;6(2):182-7.
- Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005;365(9467):1333-46.
- Su MA, Anderson MS. Aire: an update. *Curr Opin Immunol*. 2004;16(6):746-52.
- Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications *Clin Sci (Lond)*. 1996;90(4):255-60.
- Sydow K, Münzel T. Diabetes mellitus, oxidative stress and endothelial dysfunction. *Int. Congr. Ser*. 2003;1253:125-38.

- Tamás G, Marre M, Astorga R, Dedov I, Jacobsen J, Lindholm A; Insulin Aspart Study Group. Glycaemic control in type 1 diabetic patients using optimised insulin aspart or human insulin in a randomised multinational study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2001;54(2):105-14.
- Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: Molecular and cellular mechanisms. *Hypertension.* 2003;42(6):1075-81.
- Tansey MJ, Tsalikian E, Beck RW, Mauras N, Buckingham BA, Weinzimer SA, Janz KF, Kollman C, Xing D, Ruedy KJ, Steffes MW, Borland TM, Singh RJ, Tamborlane WV; Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. The effects of aerobic exercise on glucose and counterregulatory hormone concentrations in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(1):20-5.
- Tervaert TW, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, Ferrario F, Fogo AB, Haas M, de Heer E, Joh K, Noël LH, Radhakrishnan J, Seshan SV, Bajema IM, Bruijn JA; Renal Pathology Society. Pathologic classification of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(4):556-63.
- Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol.* 1992;263(2 Pt 2):H321-6.
- Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, Lauria G, Malik RA, Spallone V, Vinik A, Bernardi L, Valensi P; Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care.* 2010;33(10):2285-93.
- Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med.* 1995;332(10):635-41.
- Thrainsdottir IS, Aspelund T, Thorgeirsson G, Gudnason V, Hardarson T, Malmberg K, Sigurdsson G, Rydén L. The association between glucose abnormalities and heart failure in the population-based Reykjavik study. *Diabetes Care.* 2005;28(3):612-6.
- Tice JA, Browner W, Tracy RP, Cummings SR. The relation of C-reactive protein levels to total and cardiovascular mortality in older U.S. women. *Am J Med.* 2003;114(3):199-205.

- Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1996;97(1):22-8.
- Todd JA, Walker NM, Cooper JD, Smyth DJ, Downes K, Plagnol V, Bailey R, Nejentsev S, Field SF, Payne F, Lowe CE, Szeszko JS, Hafler JP, Zeitels L, Yang JH, Vella A, Nutland S, Stevens HE, Schuilenburg H, Coleman G, Maisuria M, Meadows W, Smink LJ, Healy B, Burren OS, Lam AA, Ovington NR, Allen J, Adlem E, Leung HT, Wallace C, Howson JM, Guja C, Ionescu-Tîrgoviște C; Genetics of Type 1 Diabetes in Finland, Simmonds MJ, Heward JM, Gough SC; Wellcome Trust Case Control Consortium, Dunger DB, Wicker LS, Clayton DG. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nat Genet.* 2007;39(7):857-64.
- Towler DA, Havlin CE, Craft S, Cryer P. Mechanism of awareness of hypoglycemia. Perception of neurogenic (predominantly cholinergic) rather than neuroglycopenic symptoms. *Diabetes.* 1993;42(12):1791-8.
- Trautner C, Icks A, Haastert B, Plum F, Berger M. Incidence of blindness in relation to diabetes. A population-based study. *Diabetes Care.* 1997;20(7):1147-53.
- Tremblay MS, Willms JD. Secular trends in the body mass index of Canadian children. *CMAJ.* 2000;163(11):1429-33.
- Trumpower BL. The protonmotive Q cycle: energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc1 complex. *J Biol Chem.* 1990;265(20):11409-12.
- Tryggvason K, Pettersson E. Causes and consequences of proteinuria: the kidney filtration barrier and progressive renal failure. *J Intern Med.* 2003;254(3):216-24.
- Tsalikian E, Mauras N, Beck RW, Tamborlane WV, Janz KF, Chase HP, Wysocki T, Weinzimer SA, Buckingham BA, Kollman C, Xing D, Ruedy KJ; Diabetes Research In Children Network Direcnet Study Group. Impact of exercise on overnight glycemic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr.* 2005;147(4):528-34.
- Tsujino D, Nishimura R, Taki K, Miyashita Y, Morimoto A, Tajima N. Daily glucose profiles in Japanese people with normal glucose tolerance as assessed by continuous glucose monitoring. *Diabetes Technol Ther.* 2009;11(7):457-60.

- Turko IV, Marcondes S, Murad F. Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid CoA transferase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281(6):H2289-94.
- Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, Holman RR. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23) *BMJ.* 1998;316(7134):823-8.
- UK Hypoglycaemia Study Group. Risk of hypoglycaemia in types 1 and 2 diabetes: effects of treatment modalities and their duration. *Diabetologia.* 2007;50(6):1140-7.
- UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 1998a;352(9131):837-53. [Erratum in *Lancet* 1999;354(9178):602.]
- UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ.* 1998b;317(7160):703-13.
- Uusitupa MI, Niskanen LK, Siitonen O, Voutilainen E, Pyörälä K. Ten-year cardiovascular mortality in relation to risk factors and abnormalities in lipoprotein composition in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetologia.* 1993;36(11):1175-84.
- Uzel N, Sivas A, Uysal M, Oz H. Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. *Horm Metab Res.* 1987;19(2):89-90.
- Vague P, Selam JL, Skeie S, De Leeuw I, Elte JW, Haahr H, Kristensen A, Draeger E. Insulin detemir is associated with more predictable glycemic control and reduced risk of hypoglycemia than NPH insulin in patients with type 1 diabetes on a basal-bolus regimen with premeal insulin aspart. *Diabetes Care.* 2003;26(3):590-6.
- VanderJagt DJ, Harrison JM, Ratliff DM, Hunsaker LA, Vander Jagt DL. Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long-term diabetic complications. *Clin Biochem.* 2001;34(4):265-70.
- Vareniuk I, Pavlov IA, Obrosova IG. Inducible nitric oxide synthase gene deficiency counteracts multiple manifestations of peripheral neuropathy in a streptozotocin-induced mouse model of diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(11):2126-33.

- Vega-López S, Devaraj S, Jialal I. Oxidative stress and antioxidant supplementation in the management of diabetic cardiovascular disease. *J Investig Med*. 2004;52(1):24-32.
- Vehik K, Hamman RF, Lezotte D, Norris JM, Klingensmith G, Bloch C, Rewers M, Dabelea D. Increasing incidence of type 1 diabetes in 0- to 17-year-old Colorado youth. *Diabetes Care*. 2007;30(3):503-9.
- Verma S, Li SH, Badiwala MV, Weisel RD, Fedak PW, Li RK, Dhillon B, Mickle DA. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation*. 2002a;105(16):1890-6.
- Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, Dhillon B, Weisel RD, Li RK, Mickle DA, Stewart DJ. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*. 2002b;106(8):913-9.
- Verma S, Wang CH, Weisel RD, Badiwala MV, Li SH, Fedak PW, Li RK, Mickle DA. Hyperglycemia potentiates the proatherogenic effects of C-reactive protein: reversal with rosiglitazone. *J Mol Cell Cardiol*. 2003;35(4):417-9.
- Veves A, Uccioli L, Manes C, Van Acker K, Komninou H, Philippides P, Katsilambros N, De Leeuw I, Menzinger G, Boulton AJ. Comparison of risk factors for foot problems in diabetic patients attending teaching hospital outpatient clinics in four different European states. *Diabet Med*. 1994;11(7):709-13.
- Vignati L, Anderson JH Jr, Iversen PW. Efficacy of insulin lispro in combination with NPH human insulin twice per day in patients with insulin-dependent or non-insulin-dependent diabetes mellitus. Multicenter Insulin Lispro Study Group. *Clin Ther*. 1997;19(6):1408-21.
- Vikramadithyan RK, Hu Y, Noh HL, Liang CP, Hallam K, Tall AR, Ramasamy R, Goldberg IJ. Human aldose reductase expression accelerates diabetic atherosclerosis in transgenic mice. *J Clin Invest*. 2005;115(9):2434-43.
- Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1553-79.
- Vinik AI, Park TS, Stansberry KB, Pittenger GL. Diabetic neuropathies. *Diabetologia*. 2000;43(8):957-73.
- Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*. 1999;282(22):2131-5.

- Vucić M, Gavella M, Bozikov V, Ashcroft SJ, Rocić B. Superoxide dismutase activity in lymphocytes and polymorphonuclear cells of diabetic patients. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1997;35(7):517-21.
- Wallace DC. Disease of the mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem.* 1992;61:1175-212.
- Walter RM Jr, Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, Keen CL. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1991;14(11):1050-6.
- Watts GF, Harris R, Shaw KM. The determinants of early nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus: a prospective study based on the urinary excretion of albumin. *Q J Med.* 1991;79(288):365-78.
- Wautier JL, Schmidt AM. Protein glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res.* 2004;95(3):233-8.
- Weets I, De Leeuw IH, Du Caju MV, Rooman R, Keymeulen B, Mathieu C, Rottiers R, Daubresse JC, Rocour-Brumioul D, Pipeleers DG, Gorus FK. The incidence of type 1 diabetes in the age group 0–39 years has not increased in Antwerp (Belgium) between 1989 and 2000. *Diabetes Care.* 2002;25(5):840-6.
- Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton JC. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(43):17040-5.
- 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):311-21.
- WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus: second report. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1980;646:1-80.
- Wildin RS, Freitas A. IPEX and FOXP3: Clinical and research perspectives. *J Autoimmun.* 2005;25 Suppl:56-62.
- Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between Type I and Type II diabetes. *Diabetologia.* 2001;44(7):914-22.

- Woerle HJ, Neumann C, Zschau S, Tenner S, Irsigler A, Schirra J, Gerich JE, Göke B. Impact of fasting and postprandial glycemia on overall glycemic control in type 2 diabetes. Importance of postprandial glycemia to achieve target HbA1c levels. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77(2):280-5.
- Woods HF, Cohen RD. Metformin and lactic acidosis. *Diabetes Care.* 1999;22(6):1010-1.
- Yao D, Brownlee M. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes.* 2010;59(1):249-55.
- Ye G, Metreveli NS, Donthi RV, Xia S, Xu M, Carlson EC, Epstein PN. Catalase protects cardiomyocyte function in models of type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004;53(5):1336-43.
- Yerneni KK, Bai W, Khan BV, Medford RM, Natarajan R. Hyperglycemia-induced activation of nuclear transcription factor kappaB in vascular smooth muscle cells. *Diabetes.* 1999;48(4):855-64.
- Yildirim Z, Yildirim F, Ucgun NI, Kilic N. The evaluation of the oxidative stress parameters in nondiabetic and diabetic senile cataract patients. *Biol Trace Elem Res.* 2009;128(2):135-43.
- Yip J, Facchini FS, Reaven GM. Resistance to insulin-mediated glucose disposal as a predictor of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(8):2773-6.
- Yki-Järvinen H, Dressler A, Ziemer M; HOE 901/300s Study Group. Less nocturnal hypoglycemia and better post-dinner glucose control with bedtime insulin glargine compared with bedtime NPH insulin during insulin combination therapy in type 2 diabetes. HOE 901/3002 Study Group. *Diabetes Care.* 2000;23(8):1130-6.
- Yu T, Robotham JL, Yoon Y. Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(8):2653-8.
- Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(4):972-8.

- Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 2000;342(3):145-53.
- Ziegler AG, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early infant feeding and risk of developing type 1A diabetes-associated autoantibodies. *JAMA.* 2003;290(13):1721-8.
- Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications in the diabetes epidemic. *Nature.* 2001;414(6865):782-7.
- Zinman B, Ross S, Campos RV, Strack T. Effectiveness of human ultralente versus NPH insulin in providing basal insulin replacement for an insulin lispro multiple daily injection regimen. A double-blind randomized prospective trial. The Canadian Lispro Study Group. *Diabetes Care.* 1999;22(4):603-8.
- Zinman B, Tildesley H, Chiasson JL, Tsui E, Strack T. Insulin lispro in CSII: results of a double-blind crossover study. *Diabetes.* 1997;46(3):440-3.
- Zinman B. The physiologic replacement of insulin. An elusive goal. *N Engl J Med.* 1989;321(6):363-70.
- Zou MH, Shi C, Cohen RA. Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. *J Clin Invest.* 2002;109(6):817-26.

BIOGRAFIJA

a) Lični podaci

Saša P. Radenković rođen je 10. 11. 1966. godine u Nišu. Oženjen je, otac dve kćeri.

b) Podaci o dosadašnjem obrazovanju

Osnovnu i srednju školu završio je u Nišu. Medicinski fakultet u Nišu upisao je školske 1986/87. godine a završio 14. 02. 1992. godine prosečnom ocenom 10,0. Stipendista je Univerziteta u Nišu školske 1987/88. i 1988/89. godine. Od 1989. godine do kraja redovnih i na početku poslediplomskih studija bio je stipendista Republičke fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka.

Specijalizaciju iz Interne medicine je započeo 1993. godine, a specijalistički ispit je položio sa odličnim uspehom 09. jula 1998. godine. Završio je poslediplomske studije iz oblasti endokrinologije 23. juna 2000. godine kada je odbranio magistarsku tezu pod nazivom „Procena kvaliteta dijabetološke zaštite na osnovu parametara St Vinsent deklaracije“.

Završio je više poslediplomskih edukativnih kurseva iz oblasti endokrinologije, dijabetologije i interne medicine kao i iz dobre kliničke prakse (GCP), nacionalnog kao i međunarodnog karaktera i značaja. Aktivno se služi engleskim i nemačkim jezikom.

c) Profesionalna karijera

Za vreme studija je obavio letnju praksu 1990. godine na Hirurškoj klinici Ruskog univerziteta u Bohumu, Nemačka, a 1991. godine na Hirurškoj klinici Univerziteta u Bariju, Italija. Za vreme studija, tokom dve godine, bio je demonstrator na predmetu Histologija sa embriologijom.

Nakon obaveznog staža i stručnog ispita počeo je najpre rad preko Medicinskog fakulteta u grupi doktora medicine sa visokom prosečnom ocenom počev od 01. jula 1993. godine. Od 06. decembra 1993. godine je zasnovao stalni radni odnos na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Niš. Od 01. oktobra 1995. godine je zasnovao radni odnos na Medicinskom fakultetu u Nišu kao asistent pripravnik na predmetu Interna medicina, oblast Endokrinologija.

Aktuelno je u zvanju asistenta na Medicinskom fakultetu u Nišu na predmetu Interna medicina, oblast Endokrinologija, i obavlja poslove lekara specijaliste na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Niš.

Učestvovao je kao istraživač saradnik na projektu: „Istraživanje učestalosti, karakteristika i mogućnosti modifikacije faktora rizika u primarnoj i sekundarnoj prevenciji ishemijske bolesti srca“, rukovodilac projekta prof. dr Stevan Ilić, finansiran od Ministarstva za nauku i tehnologiju Republike Srbije, 2002-2006. godine.

Tokom studija i rada učestvovao je kao autor u izradi većeg broja stručnih i naučnih radova objavljenih u zemlji i u inostranstvu. Učestvovao je u radu većeg broja naučnih i stručnih skupova iz oblasti endokrinologije, dijabetologije i interne medicine u zemlji i u inostranstvu, kao učesnik, autor radova i predavač. Mentor je više studentskih radova na domaćim i inostranim studentskim kongresima. Bio je predavač na više seminara kontinuirane medicinske edukacije u organizaciji Medicinskog fakulteta u Nišu i Kliničkog centra Niš. Učesnik je kao istraživač u više kliničkih studija (i kao glavni istraživač i kao koistraživač).

Član je Srpskog lekarskog društva (SLD), Mediteranskog udruženja za proučavanje dijabetesa (MGSD), Evropskog udruženja za proučavanje dijabetesa (EASD), Evropskog udruženja endokrinologa (ESE) i Asocijacije kliničkih istraživača (ACRP).

d) Rezultati naučno-istraživačkog rada (izabrane publikacije):

1. Radenković SP, Pešić MM, Velojić-Golubović MD, Dimić DN, Radojković DB, Ćirić VM, Kocić RD. Continuous subcutaneous insulin infusion vs. multiple daily injections. *Cent Eur J Med* 2011;6(5):575-81. IF: 0.312 (M23)
2. Radenković SP, Kocić RD, Pešić MM, Dimić DN, Golubović MD, Radojković DB, Ćirić VM. The hypertriglyceridemic waist phenotype and metabolic syndrome by differing criteria in type 2 diabetic patients and their relation to lipids and blood glucose control. *Endokrynol Pol.* 2011;62(4):316-23. IF: 1.239 (M23)
3. Radojkovic D, Stojanovic M, Pesic M, Radojkovic M, Radenkovic S, Radjenovic TP, Stevic M, Stankovic I. Clinically "silent" giant pheochromocytoma. *Acta Endocrinol-Buch* 2013; 9(1):121-130. IF: 0.183 (M23)
4. Golubović MV, Dimić D, Antić S, Radenković S, Djindjić B, Jovanović M. Relationship of adipokine to insulin sensitivity and glycemic regulation in obese women--the effect of body weight reduction by caloric restriction. *Vojnosanit Pregl.* 2013;70(3):284-91. IF: 0.179 (M23)
5. Pešić M, Radojković D, Radenković S, Spasić M, Lukić S. Epileptic seizure as the first sign of hypoparathyroidism. *Vojnosanit Pregl.* 2011;68(1):81-4. IF: 0.179 (M23)
6. Žarković M, Ćirić J, Beleslin B, Ćirić S, Bulat P, Topalov D, Trbojević B; Serbian Thyroid Study Group (...Radenković S...). Further studies on delineating thyroid-stimulating hormone (TSH) reference range. *Horm Metab Res.* 2011;43(13):970-6. IF: 2.188 (M23)
7. Radojković D, Antić S, Pešić M, Radojković M, Basić D, Radjenović-Petković T, Radenković S, Ilić I. Significance of hyperprolactinemia for cytomorphic features of breast secretions. *Vojnosanit Pregl.* 2010;67(1):42-7. IF: 0.199 (M23)
8. Dimic D, Velojic Golubovic M, Antic S, Radenkovic S. Evaluation of the repaglinide efficiency in comparison to the glimepiride in the type 2 diabetes patients poorly regulated by the metformin administration. *Bratisl Lek Listy.* 2009;110(6):335-9. IF: 0.317
9. Velojic-Golubovic M, Mikic D, Pesic M, Dimic D, Radenkovic S, Antic S. Biphasic insulin aspart 30: better glycemic control than with premixed human insulin 30 in obese patients with Type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest.* 2009;32(1):23-7. IF: 1.347
10. Pavlović D, Kocić R, Kocić G, Jevtović T, Radenković S, Mikić D, Stojanović M, Djordjević PB. Effect of four-week metformin treatment on plasma and erythrocyte antioxidative defense enzymes in newly diagnosed obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2000;2(4):251-6. IF: 0.300
11. Kocić R, Radenković S, Mikic D, Kocić G, Cvetković T, Pavlović D. Oxidative stress in the development of diabetes during hyperthyroidism. *Postgrad Med J.* 1998;74(872):381. IF: 0.478

12. Karanikolic A, Pesic M, Djordjevic N, Kocic R, Radenkovic S, Pesic M, Stankovic-Djordjevic D. Optimal surgical treatment for bilateral multinodular goiter. *Surgical Practice* 2007;11:12-6.
13. Pešić M, Antić S, Kocić R, Radojković D, Radenković S. Cardiovascular risk factors in patients with subclinical hypothyroidism. *Vojnosanit Pregl.* 2007;64(11):749-52.
14. Pešić M, Zivić S, Radenković S, Velojić M, Dimić D, Antić S. Comparison between basal insulin glargine and NPH insulin in patients with diabetes type 1 on conventional intensive insulin therapy. *Vojnosanit Pregl.* 2007;64(4):247-52.
15. Kocić R, Radenković S, Milenović M, Mijailović M, Koraćević G, Zivić S, Pešić M, Kocić G. Immune complexes in diabetes mellitus. *Srp Arh Celok Lek.* 1994;122 Suppl 1:60-3.
16. Radenković S, Kocić R, Pešić M, Dimić D, Mikić D, Velojić Golubović M, Antić S. Metabolička kontrola, tip gojaznosti i nivo lipida kod obolelih od tipa 2 dijabetesa melitusa sa i bez makrovaskularnih komplikacija. *Balneoclimatologia* 2005;29(2):227-33.



Прилог 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

ЕВАЛУАЦИЈА УТИЦАЈА ТЕРАПИЈЕ СИСУЛЦИНСКИМ АНАЛОЗИМА НА ПАРАМЕТРЕ
СИМПАТИЧНОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСТИ СРЦА С ДИЈАБЕТЕСНИМ МЕХИТОСОМ ТИП 1

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација, ни у целини, ни у деловима, није била предложена за добијање било које дипломе, према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

У Нишу, март 2016.

Аутор дисертације: САША П. РАДЕЊАКОВИЋ

Потпис докторанда:



Прилог 2.

ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Име и презиме аутора: САША П. РАДЕНКОВИЋ

Студијски програм: МЕДИЦИНА

Наслов рада: ЕВАЛУАЦИЈА УТИЦАЈА ТЕРАПИЈЕ ЧИСЛАНСКИМ АНАЛОЗИМА НА
ПАРАМЕТРЕ СИСТАМАТИЧКОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСНИКА СА

Ментор: ДИЈАБЕТЕСНОМ МЕЛАТУЖНОМ ТИП 1
ПРОФ. ДР РАДВОЈ БОДИЋ

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, како год.

Аутор дисертације: САША П. РАДЕНКОВИЋ

Потпис докторанда:



Прилог 3.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

ЕВАНУАЦИЈА УТЈУЦИЈА ТЕРАПИЈЕ ИРЕСУЛЦСАЧИ АНАМОЗИМА НА ПАРАМЕТРЕ СИСТАТИЧНОГ СТРЕСА код БОЛЕСНИКА СА ЛИДБЕТЕСЕМ АРИТМИЈОМ ТИП 1

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство – некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да подвучете само једну од шест поменутих лиценци; кратак опис лиценци је у наставку текста).

У Нишу, МАРТА 2014.

Аутор дисертације: САША П. РАДЕНКОВИЋ

Потпис докторанда: