

Uloga supstrata dipeptidil-peptidaze IV u procesima cijeljenja rana u dijabetesu

Puž, Andrea

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:198179>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Andrea Puž

ULOGA SUPSTRATA DIPEPTIDIL-PEPTIDAZE IV U PROCESIMA CIJELJENJA
RANA U DIJABETESU

Završni rad

Rijeka, 2020.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ SANITARNOG INŽENJERSTVA

Andrea Puž

ULOGA SUPSTRATA DIPEPTIDIL-PEPTIDAZE IV U PROCESIMA CIJELJENJA
RANA U DIJABETESU

Završni rad

Rijeka, 2020.

Mentorica rada: doc.dr.sc. Lara Batičić

Završni rad obranjen je dana _____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. izv.prof.dr.sc. Dijana Detel
2. doc.dr.sc. Slađana Bursać
3. doc.dr.sc. Lara Batičić

Rad ima 36 stranica, 7 slika, 1 tablicu, 56 literaturnih navoda.

Sažetak

Šećerna bolest ili dijabetes predstavlja skup poremećaja metabolizma ugljikohidrata, masti i bjelancevina u organizmu. Riječ je o značajnom javnozdravstvenom problemu koji predstavlja jedan od deset vodećih uzroka smrti u svijetu. Bolest se dijeli na tip I, tip II, gestacijski dijabetes te ostale, manje zastupljene vrste dijabetesa. Dijabetes prate mnoge komplikacije, poput otežanog cijeljenja rana. Mnogi znanstveni radovi dokazuju i naglašavaju važnost proteaza u procesu cijeljenja rana koji je u dijabetesu otežan zbog brojnih čimbenika. Cijeljenje rana je proces koji se odvija u više međusobno povezanih faza. Dipeptidil-peptidaza IV, odnosno molekula CD26 multifunkcionalan je protein koji ima vrlo važnu ulogu u održavanju homeostaze glukoze u krvi. Također, ima vrlo značajnu ulogu u patofiziološkim i fiziološkim procesima. Molekula DPP IV/CD26 izražena je na zrelim timocitima, aktiviranim limfocitima T, B, NK-stanicama te makrofagima ali i brojnim stanicama kao što su epitelne, endotelne stanice različitih organa i tkiva. Poznato je da DPP IV/CD26 sudjeluje u adheziji, migraciji i apoptozi stanica, razgradnji ekstracelularnog matriksa stanica te ključnim procesima u cijeljenju rana, gdje djeluje kao upalni medijator te potiče reepitalizaciju ozlijeđenog tkiva. Funkcija DPP IV/CD26 je dvostruka; svojom proteolitičkom funkcijom utječe na različite supstrate koji sudjeluju u procesu cijeljenja rana te sudjeluje u modulaciji i stimulaciji imunološkog odgovora u procesu cijeljenja rana.

KLJUČNE RIJEČI: cijeljenje rana, dijabetes, dipeptidil-peptidaza IV, molekula CD26

Summary

Diabetes mellitus or diabetes is a set of disorders of the metabolism of carbohydrates, fats and proteins in the body. It is a significant public health problem because it is one of the ten leading causes of death in the world. The disease is divided into type I, type II, gestational diabetes and other, less common types of diabetes. Diabetes is accompanied by many complications, such as delayed wound healing. Many scientific papers prove and emphasize the importance of proteases in the wound healing process. The wound healing process in diabetes is hampered by a number of factors. Wound healing is a process that takes place in several interrelated stages. Dipeptidyl peptidase IV, or CD26 molecule, is a multifunctional protein that plays a very important role in maintaining blood glucose homeostasis. It also has a very important role in pathophysiological and physiological processes. The DPP IV / CD26 molecule is expressed on mature thymocytes, active T, B lymphocytes, NK cells, and macrophages and a number of cells such as epithelial, endothelial cells of various organs and tissues. DPP IV / CD26 is known to participate in cell adhesion, migration and apoptosis, degradation of the extracellular matrix of cells and key processes in wound healing, where it acts as an inflammatory mediator and promotes reepithelialization of injured tissue. The function of DPP IV / CD26 is twofold; its proteolytic function affects various substrates involved in the wound healing process and participates in the modulation and stimulation of the immune response in the wound healing process

KEY WORDS: CD26 molecule, diabetes, dipeptidyl peptidase IV, wound healing

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. Uvod | 1 |
| 1.1. Povijesni osvrt | 1 |
| 1.1.1. Klasifikacija šećerne bolesti | 2 |
| 1.1.1.1. Šećerna bolest tipa I | 2 |
| 1.1.1.2. Šećerna bolest tipa II | 3 |
| 1.1.1.3. Gestacijski dijabetes | 3 |
| 1.1.2. Dijagnostika šećerne bolesti | 4 |
| 1.1.3. Liječenje šećerne bolesti | 5 |
| 1.1.4. Komplikacije šećerne bolesti | 7 |
| 1.2. Proces cijeljenja rana u dijabetesu | 9 |
| 1.2.1. Fiziološki proces cijeljenja rane | 10 |
| 1.2.1.1. Faza I: upalna faza | 11 |
| 1.2.1.2. Faza II: proliferacijska faza | 12 |
| 1.2.1.3. Faza III: angiogeneza | 13 |
| 1.2.1.4. Faza IV: faza remodeliranja | 13 |
| 1.3. Uloga proteaza u procesu cijeljenja rana | 14 |
| 1.3.1. Obitelj DPP IV proteina | 15 |
| 1.3.2. Strukturna građa DPP IV/CD26 | 16 |
| 1.3.3. Topljivi oblik DPP IV/CD26 | 17 |
| 1.3.4. Proteolitička funkcija DPP IV/CD26 | 18 |
| 1.3.5. Uloga DPP IV/CD26 u metabolizmu glukoze | 20 |
| 1.3.6. Inhibitori DPP IV/CD26 | 20 |
| 1.3.6.1. Farmakokinetika inhibitora DPP IV/CD26 | 21 |
| 1.3.6.2. Farmakodinamika inhibitora DPP IV/CD26 | 22 |
| 1.3.6.3. Nuspojave inhibitora DPP IV/CD26 | 23 |
| 1.3.7. Uloga DPP IV/CD26 u imunskom sustavu | 24 |
| 2. Uloga DPP IV/CD26 i njezinih supstrata u procesu cijeljenja rana | 25 |
| 3. Zaključak | 28 |
| 4. Literatura | 29 |
| 5. Životopis | 35 |

1. Uvod

1.1. Povijesni osvrt

Tajanstvena bolest karakterizirana simptomima poput čestog uriniranja, neutažive žeđi i brzog mršavljenja oduvijek je zanimala liječnike te nazvana je šećernom bolešću (dijabetes, lat. *diabetes mellitus*). Smatra se da je otprilike 1500 godina prije Krista u Egiptu na starim papirusima opisana tada liječnicima toga doba nepoznata bolest okarakterizirana čestom potrebom za mokrenje te povećanom žeđi. Raznim istraživanjima provedenima u to doba, indijski liječnici zaključili su kako se radi o bolesti koja zahvaća ljude s neuravnoteženom prehranom škroba i šećera. Oni su ovu bolest nazvali medenom mokraćom, jer su se u to vrijeme dijagnostički testovi bazirali na okupljanju mrava oko mokraćne oboljelog. U 11. stoljeću dijabetesu se dodaje sufiks "mellitus" (latinski=med).

Tek u 17. stoljeću, raznim opažanjima Thomasa Willisa; renomiranog engleskog liječnika, uočena je prisutnost povišene koncentracije šećera u krvi u oboljelih s navedenim simptomima. U 19. stoljeću Claude Bernard zaključuje da tvar koja ima pozitivan učinak na razinu šećera u krvi luči jetra, a zatim 1857. isti znanstvenik je izolirao glikogen (1).

Svako novo saznanje davalo je vrlo bitne informacije za bolest te njezino liječenje; iako je najveći uspjeh dijabetologije bila izolacija inzulina 1921. godine na Sveučilištu u Torontu. Prvi rekombinantni humani inzulin odobren je kao terapijsko sredstvo 1983. godine.

1.1.1. Klasifikacija šećerne bolesti

Šećerna bolest danas se definira kao skup poremećaja metabolizma ugljikohidrata, masti i bjelančevina u organizmu. Riječ je ozbiljnom javnozdravstvenom problemu jer predstavlja jednu od deset vodećih uzroka smrti u svijetu.

Bolest se dijeli na tip I, zapravo postotno manje zastupljeni tip bolesti (4-7% oboljelih slučajeva) u svijetu; te tip II koji je zastupljen u otprilike 85% populacije. Osim toga, postoji i gestacijski dijabetes koji se može pojaviti u trudnoći te se potom može ali i ne mora nastaviti i nakon poroda majke, te ostale, manje zastupljene vrste dijabetesa (2).

1.1.1.1.Šećerna bolest tipa I

Kod šećerne bolesti tipa I dolazi do popadanja beta-Langerhansovih stanica gušterače koje luče inzulin, sve do potpunog nedostatka inzulina te se ovaj tip dijabetesa naziva i „inzulin-ovisan“ tip. Najčešće oboljeli su djeca te pacijenti mlađe životne dobi. Do danas nije poznato zašto dolazi do ove pojave ali svakako genetska predispozicija te faktori iz okoline pridonose samoj bolesti. Bez inzulina koji doprinosi ulasku glukoze u stanice, razina šećera u krvi postaje prekomjerno visoka i nastaje hiperglikemija.

„Tihi prethodnik“ mogli bi nazvati fazu koja prethodi šećernoj bolesti tipa I - inzulitis, to je faza bez osobitih simptoma. Naime, stanice vlastitog imunskog sustava pacijenta počinju se infiltrirati i uništavati beta stanice gušterače, koje su odgovorne za stvaranje inzulina. Pacijenti s genetskom predispozicijom za ovaj tip šećerne bolesti, najčešće se rađaju sa očuvanim beta stanicama gušterače, no uslijed autoimunskih zbivanja dolazi do njihovog razaranja.

Kada se sama proizvodnja inzulina svede na minimum, šećerna bolest se brzo razvija i napreduje. Neki od znakova bolesti su učestala žeđ, pojačano mokrenje, gubitak na težini, zamućen vid te svrbež genitalnih regija. Pacijenti oboljeli od tipa I, skloni su razviti i ostale autoimune poremećaje kao što su celijakija, autoimuni hepatitis, perniciozna anemija i ostalo.

1.1.1.2. Šećerna bolest tipa II

Šećerna bolest tipa II ranije se nazivala „inzulin-neovisna“. Taj je naziv sve manje u upotrebi iz razloga jer kod pacijenata koji imaju poremećaje regulacije šećera u krvi, s vremenom dolazi do potrebe za egzogenom suplementacijom hormona inzulina. Naime, šećerna bolest tipa II karakterizirana je smanjenim lučenjem inzulina te rezistencije tkiva na inzulin. Ovaj tip šećerne bolesti patogenetski sadrži dva mehanizma: progresivni pad funkcije beta stanica gušterače, koje posljedično dovodi do smanjenog lučenja inzulina; te neodgovarajuća supresija sekrecije glukagona gdje kao posljedicu imamo smanjene metaboličkog odgovora na inzulin. Komorbiditeti koji se javljaju su hipertenzija, visoke vrijednosti LDL – kolesterola te niske vrijednosti HDL – kolesterola (3).

1.1.1.3. Gestacijski dijabetes

Gestacijski dijabetes dijagnosticira se kod pacijentica u gestacijskom razdoblju, a nije nužno da u prije tog razdoblja pokazivale naznake bolesti. Dijagnosticira se najčešće u II. ili u III. trimestru trudnoće te se klasificira zasebno. Posljedice koje može izazvati, a odnose se na majku, su infekcije urogenitalnog trakta, dijabetička nefropatija, te preeklampsija i eklampsija. Povišene koncentracije glukoze u krvi mogu dovesti do otežanog i/ili prijevremenog poroda, poremećaja rasta i razvoja ploda, urođenih anomalija te ostalih poremećaja. U većini slučajeva, razina glukoze u krvi se normalizira kod majke nakon

poroda, iako neke pacijentice i dalje pokazuju različite poremećaje metabolizma glukoze te i time dolazi do povećanja rizika za nastanak dijabetesa.

1.1.2. Dijagnostika šećerne bolesti

Šećerna bolest određuje se temeljem koncentracije glukoze u krvnoj plazmi te dijagnostičkim algoritmom. Dijagnoza šećerne bolesti postavlja se prema određenim kriterijima, a to su:

- a) vrijednost koncentracije glukoze u krvi natašte (FPG, engl. fasting plasma glucose) viša od 7,0 mmol/L;
- b) također, u praksi se upotrebljava oralni test tolerancije glukoze (OGTT- test, engl. oral glucose tolerance test) gdje se mjeri koncentracije glukoze nakon dva sata uzimanja standardizirane količine glukoze (75 g). Dijagnoza dijabetesa se postavlja ukoliko je kod ispitanika vrijednost glukoze viša od 11 mmol/L.
- c) kao dijagnostički marker šećerne bolesti upotrebljava se i koncentracija glikiranog hemoglobina u krvi (HbA_{1c}), a vrijednosti $\geq 6,5$ % ukazuju na visoku razinu glukoze u proteklom razdoblju. HbA_{1c} kao pretraga smatra se manje pouzdanom od pretraga poput FPG ili OGTT. Prednosti HbA_{1c} u odnosu na FPG i OGTT su veća praktičnost obzirom da bolesnik ne treba biti natašte. Ukoliko se glikirani hemoglobin koristi za dijagnosticiranje dijabetesa, potrebno je uzeti u obzir dob pacijenta, etičku pripadnost te prisutnost anemija (4).

1.1.3. Liječenje šećerne bolesti

Za liječenje šećerne bolesti ponajviše se koriste beta – citotropni lijekovi, ne – beta – citotropni lijekovi te pripravci inzulina. Beta – citotropni lijekovi djeluju na način da potiču lučenje inzulina u beta – stanicama gušterače. U ne – beta citotropne lijekove spadaju tiazoli dok inhibitori dipeptidil-peptidaze IV, odnosno molekule CD26 koji predstavljaju noviju skupinu antihiperглиkemijskih terapeutika (5).

Bigvanidi

Lijek koji se koristi iz skupine bigvadina zove se metformin i koristi se za liječenje šećerne bolesti tipa II. Osim uzimanja ovog lijeka obavezna je tjelovježba, prilagođen način prehrane te reguliranje tjelesne težine. Mehanizam djelovanja ovog lijeka je povećanje osjetljivosti mišićnog tkiva na inzulin, inhibicija glukoneogeneze i glikolize te smanjenje apsorpcije glukoze u crijevima. Postoje različite nuspojave kod uporabe ovog lijeka kao što su gastrointestinalne tegobe.

Tiazolidioni (glitazoni)

Ovi lijekovi aktiviraju nuklearni transkripcijski čimbenik koji regulira transkripciju gena inzulina. Lijekovi iz ove skupine pojačavaju osjetljivost na inzulin u mišićima i jetri te smanjuju proces glukoneogeneze u jetri. Prije samog liječenja ovim lijekom potrebno je utvrditi aktivnost jetrenih enzima (6).

Inhibitori alfa – glukozidaze (akarboza)

Lijekovi iz ove skupine djeluju na način da smanjuju apsorpciju glukoze iz tankog crijeva obzirom da inhibiraju enzime poput alfa - glukozidaze i usporavaju razgradnju složenih monosaharida iz tankog crijeva.

Derivati sulfonilureje i glinidi

Lijekovi iz ove skupine ostvaruju svoj učinak putem djelovanja na izlučivanje inzulina iz beta-stanica gušterače. Ovi lijekovi su djelotvorni ukoliko su beta-stanice gušterače očuvane. Derivati sulfonilureje pokazuju određene negativne učinke - povećavaju tjelesnu masu i time dolazi do nakupljanja masti, što u konačnici dovodi do povišenja tlaka te povećanje inzulinske rezistencije (7).

Inhibitori enzima dipeptidil – peptidaze IV

Funkcija ovih oralnih hipoglikemika je inhibicija razgradnje endogenih inkretinskih hormona GLP-1 (glukagonu sličan peptid 1; engl. *glucagone like peptide 1*) i GIP (gastrični inhibicijski peptid; engl. *gastric inhibitory peptide*). Dosadašnja istraživanja pokazuju kako su inhibitori DPP IV/CD26 efikasni kod oboljelih od šećerne bolesti tipa II koji ih vrlo dobro podnose uz značajno poboljšanje glikemije.

Agonisti GLP – 1 receptora

Lijekovi iz ove skupine se vežu na GLP-1 receptor i time posljedično povećavaju lučenje inzulina iz beta-stanica gušterače. Također, ovi lijekovi otporni su na enzimsku

razgradnju DPP IV/CD26. Lijekovi se primjenjuju supkutano jer se po molekularnoj građi razlikuju od endogenog inkretinskog hormona GLP-1.

SGLT – 2 inhibitori

Lijekovi iz ove skupine djeluju na način da smanjuju apsorpciju glukoze koja se filtrira u bubrezima te time se povećava izlučivanje glukoze putem mokraće. Lijek se uzima *per os*. Zbog diuretskog učinka može doći do gubitka tjelesne težine te do smanjenja dijastoličkog i sistoličkog tlaka.

Inzulinska terapija

Inzulinskom terapijom liječe se bolesnici koji boluju od šećerne bolesti tipa I i tipa II, ukoliko nije postignut dobar rezultat korištenjem oralnih hipoglikemika. Inzulin se dobiva rekombinantnom DNA tehnologijom. Inzulinski pripravci mogu biti brzodjelujući, srednjedjelujući, dugodjelujući ili pak s bifaznim djelovanjem. Humani brzodjelujući inzulini počinju djelovati nakon 30 min od njihove primjene, a ukupno djelovanje iznosi 7 do 8 sati (8). Dugodjelujući analog inzulina primjenjuje se kao bazalni inzulin čiji učinak traje 24 sata. Degludek je predstavnik druge generacije dugodjelujućih inzulinskih pripravaka. Djelovanje ovog lijeka iznosi 42 sata.

1.1.4. Komplikacije šećerne bolesti

Dijabetes je metabolički poremećaj gdje su pacijenti u stalnom riziku od razvoja akutnih i kroničnih komplikacija. Bolest je definirana prisutnošću znakova i simptoma;

oštećenja perifernog živčanog sustava, koronarnim srčanim bolestima, te mikrovaskularnim komplikacijama kao što su nefropatija, retinopatija te neuropatija.

Komplikacije šećerne bolesti dijele se na akutne i kronične.

U **akutne komplikacije** spadaju:

Dijabetička ketoacidoza – uzrok je hiperglikemija pri kojoj dolazi do povećanog lučenja „hormona stresa“ (kortizola i adrenalina). U tim uvjetima dolazi do povećanog stvaranja glukoze glukoneogenezom i glikogenezom, a smanjuje se potrošnja glukoze što dovodi do hiperglikemije i hiperosmolarnosti gdje nalazimo koncentraciju glukoze u krvi višu od 11,1 mmol/L.

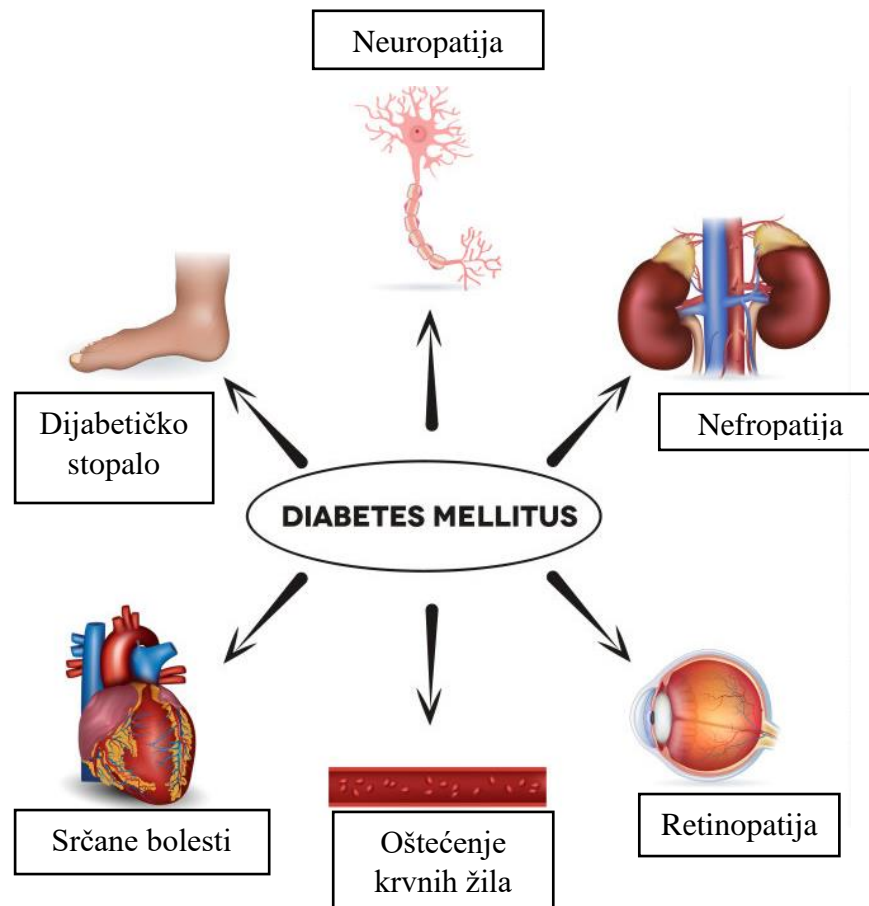
Laktoacidoza – povećano stvaranje i/ili smanjeno iskorištavanje laktata. Manifestacije ovoga poremećaja najčešće su nesvjestica, grčevi i hipotenzija.

Hipoglikemijska koma – koncentracija glukoze u krvi je manje od 2,5 mmol/L. Najčešći uzročnici su pretjerana fizička aktivnost, neprikladna doza inulina te poremećaji u radu bubrega. Simptomatika koja prati poremećaj najčešće je umor, znojenje, drhtavica, mučnina i glad.

Kronične komplikacije dijabetesa podijeljene su na **mikroangiopatije** (neuropatija, nefropatija i retinopatija) te **makroangiopatije** (dijabetičko stopalo i dijabetička makroangiopatija) (9).

Dijabetičko stopalo kronična je komplikacija šećerne bolesti, te do iste dolazi zbog poremećaja periferne cirkulacije te dijabetičke neuropatije. Posljedica su deformacija stopala, ulceracija te gangrena koja naposljetku rezultira amputacijom dijelova ili pak cijelog stopala. Učestala je potreba za amputacijom donjih ekstremiteta kod većih komplikacija; najčešće ne

pravovremeno liječenih komplikacija i manifestacija bolesti; koje uvelike otežava i narušava kvalitetu života bolesnika. Oko 15% oboljelih od šećerne bolesti ima potvrđen nalaz periferne vaskularne bolesti. Patofiziologija ovog poremećaja je složena te čimbenici koji otežavaju cijeljenje rana su mnogobrojni i povezani sa samim metabolizmom glukoze i neurovaskularnim komplikacijama (10).



Slika 1. Shematski prikaz komplikacija kod dijabetesa

1.2. Proces cijeljenja rana u dijabetesu

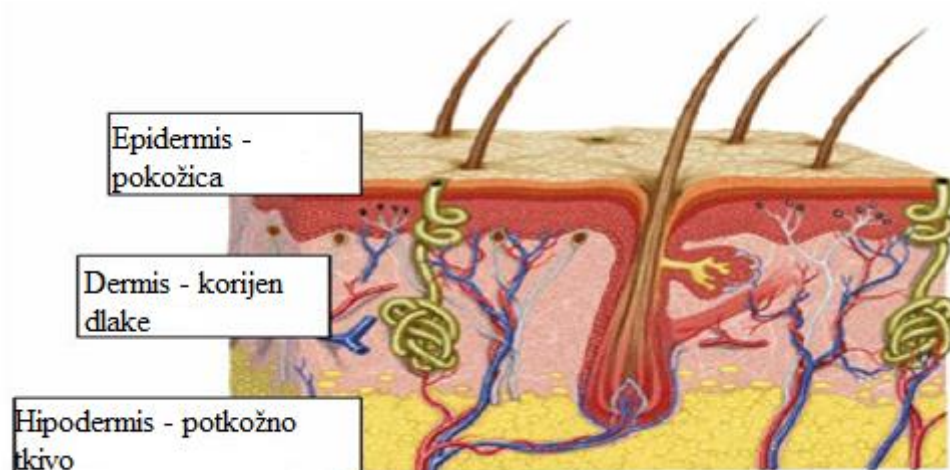
Proces cijeljenja rana u dijabetesu otežan je zbog brojnih vanjskih i unutarnjih čimbenika. U unutarnje čimbenike koji otežavaju zacjeljenje spadaju smanjena funkcija makrofaga, smanjena proizvodnja faktora rasta, smanjen broj epidermalnih živaca i slično.

Vanjski faktori uključuju razne traume i mehanička oštećenja kože koja je zbog makrovaskularne i mikrovaskularne ishemije neosjetljiva na podražaje.

Rana se definira kao prekid anatomskog i funkcionalnog kontinuiteta tkiva ili organa. Kao posljedica toga oštećenja dolazi do interakcije između epidermalnih i dermalnih stanica te upalnih stanica čime se pokreće složeni proces cijeljenja ranjenog tkiva koji se odvija u nekoliko složenih faza.

1.2.1. Fiziološki proces cijeljenja rane

Kožu je sastavljena od tri osnovna sloja: epidermis, dermis i supkutis s dodatnim komponentama u koje spadaju kožni živci, krvne žile, pigmentne stanice (melanociti) te kožni privjesci (nokti, kosa, žlijezde). Ukoliko dođe do nastanka rane, tkivo započinje procese reparacije i regeneracije.

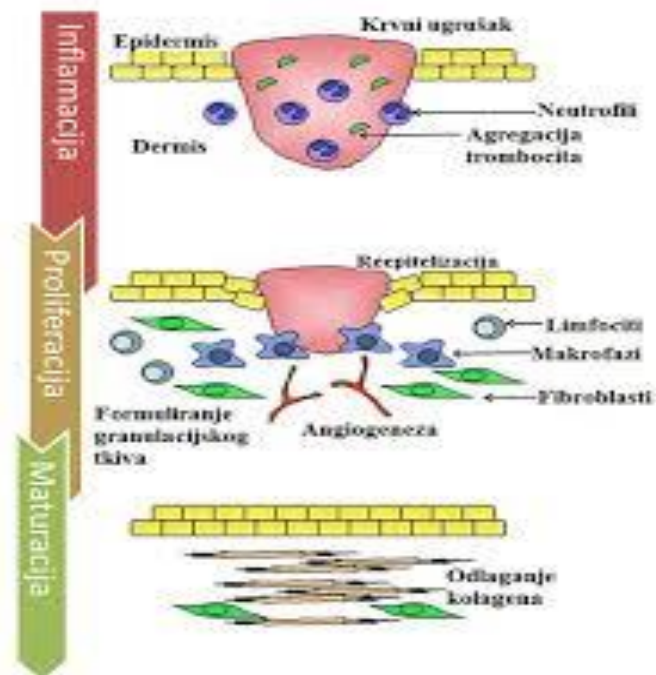


Slika 2. Prikaz strukturnih komponenti kože

Proces cijeljenja rane se odvija kroz četiri faze koje se međusobno preklapaju:

- I. upalna faza
- II. proliferacijska faza
- III. angiogeneza

IV. faza remodeliranja



Slika 3. Faze cijeljenja rane

1.2.1.1. Faza I: upalna faza

Odmah nakon ozljede tkiva javlja se hemostaza (nulta faza), koju karakterizira vazokonstrikcija te zgrušavanje krvi. Kod ozljede narušena je struktura krvnih žila na mjestu povrede, te dolazi do povećanog priljeva trombocita i njihovog kontakta s kolagenom te drugim tvarima u matriksu koriuma. Trombociti imaju značaj u stvaranju krvnog ugruška koji ima ulogu zaustavljanja krvarenja, te ulogu u zaštiti od patogenih mikroorganizama. Degranulacijom trombocita oslobađaju se faktori rasta kao što su: faktor rasta epiderme (engl. *epidermal growth factor* – EGF), trombocitni faktor rasta (engl. *platelet – derived growth factor* – PDGF) i transformirajući čimbenik rasta β (engl. *transforming growth factor beta* – TGF – β); te kemokina koji potiču migraciju upalnih stanica čime započinje faza upale

(faza I) (11). Ova faza traje otprilike 7 dana te je posredovana leukocitima koji otpuštaju slobodne kisikove radikale (engl. *reactive oxygen species* – ROS) i proteaze zaslužne za uklanjanje bakterija i mikroorganizama iz rane. Monociti, kemotaktički privučeni od strane PDGF diferenciraju se u makrofage pod utjecajem TGF – β .

Makrofazi povećavaju upalni odgovor i izlučuju protuupalne citokine (IL-1 i IL-6) te čimbenike rasta fibroblasta (engl. *fibroblast growth factor* – FGF) kao i EGF, TGF – β i PDGF te time započinje formiranje granulacijskog tkiva (12, 13). Aktivirani limfociti T svojim faktorima značajno povećavaju vazodilataciju krvnih žila, povećavaju propusnost krvnih žila te modeliraju funkciju fibroblasta, što je izuzetno bitno za fazu II i III (14). Glavna karakteristika upalne faze temelji se na čišćenju rane i aktivaciji događaja vezanih za fazu II.

1.2.1.2. Faza II: proliferacijska faza

Faza proliferacije traje otprilike 15 dana, a javlja se odmah po smirivanju upalne faze. Ovu fazu karakterizira granulacija tkiva te neovaskularizacija tj. novonastajanje krvnih žila. Granulacija tkiva odvija se uz otpuštanje faktora rasta kao što su čimbenik rasta fibroblasta (engl. *fibroblast growth factor* – FGF), TGF – β , vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. *vascular endothelial growth factor* – VEGF) i PDGF. Tijekom druge faze, makrofagi, trombociti i fibroblasti izlučuju TGF – β odgovoran za reepitalizaciju i angiogenezu te povećavaju izlučivanje kolagena i elastina neophodnih za fazu remodelacije tkiva (15).

TGF – β smanjuje stimulira tkivni inhibitor metaloproteinaza (engl. *tissue inhibitor of metal protease* – TIMP). Zbog velike metaboličke aktivnosti u fazi II dolazi do sve veće potrebe za kisikom i hranjivim tvarima, odnosno adekvatnim dotokom krvi (16). Zbog narušene koncentracije kisika dolazi do aktivacije glavnog transkripcijskog faktora, hipoksijom inducirano čimbenika (engl. *hypoxia - inducible factor* – HIF). HIF ima vrlo

važnu ulogu u procesu cijeljenja rana, regulirajući lučenje faktora rasta ako što su VEGF i TGF – β koji stimuliraju proliferaciju i migraciju stanica (17).

1.2.1.3. Faza III: angiogeneza

Proces angiogeneze započinje razgradnjom bazalne membrane, nakon čega dolazi do migracije endotelnih stanica iz postojećih krvnih žila prema mjestu s većom koncentracijom faktora rasta. Daljnjim dijeljenjem postojećih stanica te njihovom proliferacijom nastaju nove tvorbe koje se spajaju kako bi njima uskoro mogla protjecati krv (18).

Angiogeneza je definirana kao rast novih krvnih žila iz već postojećih, kao što je prethodno opisano. Faktori rasta koji sudjeluju u angiogenezi su: TGF, PDGF te FGF. VEGF te FGF – 2 zauzimaju vodeće mjesto u procesu angiogeneze. Njihovo sinergično djelovanje stimulira funkciju endotelnih stanica. Isti potiču dijeljenje i migraciju stanica; te ponovnu uspostavu cirkulacije stvaranjem novih žila, čime započinje cijeljenje rane jer se opskrbljuje kisikom i hranjivim tvarima potrebnima za proces regeneracije tkiva (19, 20).

1.2.1.4. Faza IV: faza remodeliranja

Završna faza jest cijeljenje same rane tj. faza sazrijevanja i remodeliranja. U ovoj fazi dolazi do normalizacije epitelnog sloja kože te do stvaranja novoga tkiva. Remodeliranje rane kontrolirano je mehanizmima razgradnje i sinteze koji su u ravnoteži. Najbitnija je remodelacija ekstracelularnog matriksa gdje ključnu ulogu imaju elastin i kolagen. Kod kolagena tipa I čiju sintezu i lučenje potiču fibroblasti, stvaraju se snopovi koji vraćaju do 80% čvrstoće prethodno oštećenog tkiva. Elastin, tj. elastična vlakna izlučuju se u vrijeme samog cijeljenja rane te preuzimaju ulogu elastičnosti vezivnog tkiva te stjenki krvnih žila. Ova faza može potrajati i do 15 dana, a završava smanjenjem metaboličke aktivnosti,

zaustavljanjem rasta krvnih žila te smanjenjem protoka krvi. Konačni rezultat je cijeljenje rane te formiranje ožiljka (21).

1.3. Uloga proteaza u procesu cijeljenja rana

Postoje tri velike skupine endoproteaza koje igraju važnu ulogu u procesima angiogeneze, remodeliranju ekstracelularnog matriksa, migraciji stanica te modificiranju aktivnosti čimbenika rasta. To su metaloproteaze, osobito matriks metaloproteinaze - MMP, (engl. *matrix metalloproteinases*), katepsin – cistein proteaze i serinske proteaze. Proteaze djeluju na površini djeluju i putem interakcija sa specifičnim receptorima na površini stanica te tako sudjeluju u migraciji i invaziji stanica te reguliraju rast stanica. Navedeni enzimi regulirani su djelovanjem TIMP-a, čime se smanjuje ili gotovo zaustavlja proces angiogeneze.

Katepsin – cistein proteaze svoju najvažniju ulogu ostvaruju u obradi antigena, remodeliranju vanstaničnog matriksa, programiranoj staničnoj smrti odnosno apoptozi, a utječu i na proces stvaranja novih krvnih žila (22).

Serinske proteaze velika su skupina enzima među kojima se nalazi i obitelj DPP IV proteina, s glavnim predstavnikom DPP IV/CD26, molekula za koju je dokazana uloga u procesu cijeljenja rane. DPP IV/CD26 je izražena je na različitim limfocitima, te je dokazano kako je DPP IV identična površinskom antigenu CD26 (23). U imunom sustavu svoju ulogu ostvaruje kombinacijom enzimске aktivnosti te imunomodulacijskim djelovanjem (24). Izražena je i na površinama stanica različitih tkiva, poput endotelnih i epitelnih stanica (25). Nalazimo je u dva oblika: transmembranskom i topljivom obliku. Membranski oblik izražen je na površini određenih stanica dok se topljiv oblik nalazi u tjelesnim tekućinama, urinu i plazmi. Smatra se da je topljivi oblik nastao proteolizom membranski vezanog oblika. Strukturom su membranski i topljivi oblik vrlo slične, jedina razlika je odsutnost

transmembranske i citoplazmatske domene kod topljive DPP IV/CD26 koja dodatno pokazuje visoki stupanj glikozilacije.

Promjene u koncentraciji topljive DPP IV/CD26 i njezine aktivnosti vezane su uz različita patofiziološka stanja. Primjerice, kod pacijenata sa sistemskim eritemskim lupusom smanjena je koncentracija topljive DPP IV/CD26, dok su kod pacijenata s raznim infekcijama i bolesti jetre nađene povećane koncentracije ovog oblika molekule (26).

1.3.1. Obitelj DPP IV proteina

Razlikujemo četiri člana obitelji DPP IV proteina koji imaju proteolitičku funkciju:

- I. DPP IV/CD26
- II. FAP (engl. *fibroblast activation protein*)
- III. DPP8
- IV. DPP9

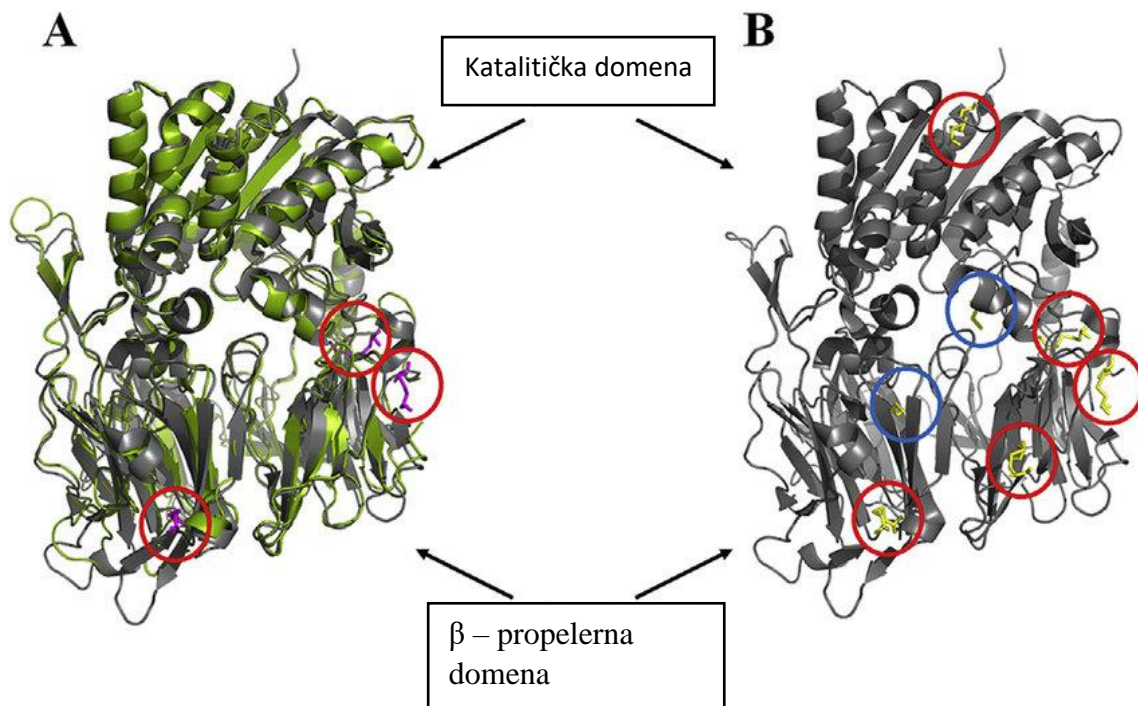
Navedena četiri enzima imaju rijetku specifičnost prema supstratima pa kod inhibicije molekule DPP IV/CD26 ostala tri enzima mogu preuzeti neke od njezinih funkcija. DPP IV/CD26, FAP, DPP8 i DPP9 su prolil – specifične dipeptidil – peptidaze koje sudjeluju u regulaciji i modulaciji različitih fizioloških i patoloških procesa putem katalitičke razgradnje N-terminalnih dipeptida iz peptidnih i proteinskih lanaca koje sadrže prolin na pretposljednem mjestu u sekvenciji aminokiselina. DPP IV/CD26, također ima i endopeptidaznu aktivnost, odnosno gelatinaznu aktivnost. Navedene funkcije mu omogućuju razgradnju denaturiranog kolagena tipa I i III te mu se stoga pripisuje značaj u regulaciji i modulaciji izvanstaničnog matriksa mikrookoliša tumora. Za DPP8 i DPP9 je također utvrđena uloga u procesu cijeljenja rana putem ostvarivanja uloge u migraciji i apoptozi

stanica. Također je za DPP9 pokazano da utječe i na adheziju i proliferaciju stanica. Međutim, mehanizmi djelovanja ovih enzima još nisu u potpunosti razjašnjeni (27).

1.3.2. Strukturna građa DPP IV/CD26

DPP IV/CD26 se u organizmu najčešće nalazi u obliku dimera koji je sastavljen od dvije jedinice monomera. Svaki od pojedinih monomera sadrži dvije podjedinice: na C-terminalnom kraju nalazi se α/β hidrolazna domena, a na N-terminalnom kraju nalazi se β -propelerna domena.

β – propelerna domena sastoji se od osam ploča, a svaka ploča sastoji se od četiri antiparalelna lanca β – nabrane ploče te je ljevkastog oblika (28). α/β – hidrolazna domena građena je od osam β – nabranih ploča povezanih s nekoliko α – uzvojnica. Unutar α/β – hidrolazne domene nalazi se disulfidni most između Cys – 649 i Cys – 762 koji je umrežen s C – terminalnom α -uzvojnicom. Takvo povezivanje α – uzvojnice i β – nabrane ploče dovodi do stabilizacije tercijarne strukture. Svaka od navedenih domena ima svoju karakterističnu funkciju i građu (29). β – propelerna domena kontrolira pristup aktivnom mjestu na način da ga pokriva i time ograničava pristup samom supstratu. Nakon vezivanja, supstrat se razgradi te nastali produkt napušta mjesto vezivanja, a da pritom ulazni i izlazni put ne moraju biti jednaki. Na najvećem dijelu β – propelerne domene nalazi se devet potencijalnih N – glikozilacijskih mjesta u područjima dimerizacije (30). Za aktivnost DPP IV/CD26 neophodne su glukonske kiseline poput Glu205 i Glu206 (31). Kako dimerizacija utječe na pojačavanje afiniteta prema samom ligandu, time čini i ključnu ulogu u samom procesu prijenosa signala u stanicu (32).



Slika 4. Trodimenzionalni prikaz strukture DPP IV/CD26

1.3.3. Topljivi oblik DPP IV/CD26

Topljivi oblik molekule DPP IV/CD26 cirkulira u mnogim tjelesnim tekućinama poput urina, plazme, sjemene i amnionske tekućine (33). DPP IV/CD26 u topljivom obliku nastaje proteolizom membranski vezanog oblika mehanizmom koji nije sasvim poznat. Aktivnost ove molekule u serumu prvi put je opisana 1976. godine (34). Molekula DPP IV/CD26 detektirana je raznim metodama, a jedna od njih je vezanje adenozin – deaminaze na molekulu CD26. Tom metodom je utvrđeno da 95% aktivnosti serumske DPP IV potječe od molekule CD26 (35). Pretpostavlja se da DPP IV/CD26 može biti otpuštena s površine različitih stanica koje izražavaju molekulu CD26, a u kontaktu su s krvlju. Pretpostavka je da topljivi oblik molekule DPP IV/CD26 nastaje proteolitičkim cijepanjem membranskog oblika sa stanice koji se potom otpušta u cirkulaciju (36).

Razna istraživanja su pokazala kako se struktura topljivog oblika ne razlikuje značajno od membranskog oblika. Razlika između topljivog i membranskog oblika je ponajviše u tome što topljivi oblik ne sadrži intracelularni i transmembranski dio (35). Zbog nedostatka transmembranskog dijela molekula DPP IV/CD26 je topljiva u krvi i tjelesnim tekućinama (37).

1.3.4. Proteolitička funkcija DPP IV/CD26

DPP IV/CD26 je multifunkcionalni protein, a njegove funkcije ovise o tipu stanice odnosno tkivu u kojem se nalazi. Jedna od glavnih proteolitičkih funkcija DPP IV/CD26 je hidrolitička razgradnja biološki aktivnih peptida (38). Supstrati DPP IV/CD26 su razni neuropeptidi, hormoni, citokini, kemokini i faktori rasta koji u svojoj građi sadrže prolin na pretposljednem mjestu u aminokiselinskoj sekvenci.

Do sada je utvrđen veliki broj supstrata DPP IV/CD26 što ukazuje na važnu ulogu ove molekule u raznim patološkim i fiziološkim procesima. Neki od najvažnijih supstrata DPP IV/CD26 su: supstancija P, β – kazomorfin, kentsin, RANTES (engl. *regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*), interleukin – 2 (IL-2), SDF – 1 α (engl. *stromal cell derived factor 1 α*), glukagon, GLP – 1 te mnogi drugi.

Raznim istraživanjima pokazalo se da su peptidi s manjom molekulskom masom pogodniji supstrati za DPP IV/CD26 odnosno efikasnije ih katalitički razgrađuje. Također je dokazano da porastom broja aminokiselina u primarnoj strukturi proteina smanjuje se njihova mogućnost pristupa do aktivnog mjesta DPP IV/CD26 što onemogućuje njihovu razgradnju (38).

Tablica 1. Popis supstrata DPP IV/CD26 u određenim biološkim procesima; izvor (38)

| Supstrati uključeni u fiziološke procese | Supstrati uključeni u upalne procese |
|---|---|
| α_1 -mikroglobulin | Eotaksin |
| α - lanac fibrinogen | IP-10 |
| Aprotinin | I-TAC |
| Bradikinin | Kentsin |
| Enterostatin | LD78 β |
| Faktor oslobađanja hormona rasta | Limfotoksin |
| Gastrični inhibicijski polipeptid (GIP) | MDC67 |
| Gastrični otpuštajući peptid | MDC69 |
| Glukagonu sličan peptid 1 (GLP-1) | MIG |
| Glukagonu sličan peptid 2 | RANTES |
| Glukagon | SDF-1 α |
| Inzulinu sličan faktor rasta 1 | SDF-2 β |
| Korionski gonadotropin | TNF- α |
| Morficeptin | Supstrati uključeni u neurološke procese |
| Monocitni kemotaktički protein 1 | β -kazomorfin |
| Monocitni kemotaktički protein 2 | Endomorfin 1 i 2 |
| Monocitni kemotaktički protein 3 | Kentsin |
| Prokalcitonin | Neuropeptid Y |
| Prokolipaza | Peptid YY |
| Prolaktin | Supstancija P |
| Supstancija P | |
| Tripsinogen | |
| Tyr-melanostatin | |
| Vazoaktivni intestinalni peptid (VIP) | |
| <p>protein interferona izazvan gamom 10-(IP-10, od engl. <i>interferon gamma-induced protein 10</i>)</p> <p>interferon-inducibilna T-stanična alfa-(I-TAC, od engl. <i>interferon-inducible T-cell alpha</i>)</p> <p>kemokin iz makrofaga-(MDC, od engl. <i>macrophage-derived chemokine</i>)</p> <p>monokin induciran s gama interferonom-(MIG, od engl. <i>monokine induced by gamma interferon</i>)</p> <p>čimbenik nekroze tumora alfa-(TNF-α, od engl. <i>tumor necrosis factor-α</i>)</p> | |

1.3.5. Uloga DPP IV/CD26 u metabolizmu glukoze

Jedna od najvažnijih funkcija DPP IV/CD26 jest uključenost u održavanje homeostaze glukoze. Godine 1996. otkriveno je kako je DPP IV/CD26 odgovorna za razgradnju inkretina GLP-1 i GIP. GLP – 1 povećava koncentraciju inzulina u krvi, dok istovremeno dovodi do smanjenja koncentracije glukagona te se na taj način smanjuje koncentracija glukoze u krvi (39). GLP – 1 ujedno i usporava pražnjenje želuca te poboljšava osjetljivost na inzulin. GIP ima značajnu ulogu u metabolizmu lipida, te uz GLP-1 utječe na proliferaciju beta stanica u gušterači. Izlučivanje inkretina potiče se konzumacijom hrane bogatom mastima i ugljikohidratima. GLP – 1 se izlučuje iz crijevnih endokrinih L-stanica u distalnom ileumu i debelom crijevu a GIP iz intestinalnih K – stanica u duodenumu i jejunumu (40).

Poluživot GLP – 1 je 2-3 minute zbog proteolitičkog djelovanja DPP IV/CD26. Upravo inhibicijom DPP IV/CD26 omogućuje se povećanje poluživota GLP – 1 te ostalih hormona koji utječu na metabolizam glukoze, čime se doprinosi poboljšanju glikemijske kontrole.

1.3.6. Inhibitori DPP IV/CD26

Inhibitori DPP IV/CD26 su relativno novija skupina antihyperglikemijskih agensa primjenjivanih *per os* koji se koriste u terapiji šećerne bolesti tipa II. Među najpoznatije inhibitore DPP IV/CD26 spadaju *vidagliptin*, *saxagliptin* te *sitaliptin*. Međusobno se razlikuju u mehanizmima apsorpcije, distribucije, biotransformacije te eliminacije.

Vrlo važna činjenica za sve inhibitore DPP IV/CD26 jest da moraju biti što specifičniji te selektivniji. Od navedena četiri inhibitora DPP IV/CD26 visokoselektivni su sitagliptin i alogliptin koji ne pokazuju inhibicijsku aktivnost prema ostalim članovima obitelji DPP IV

proteina. S druge strane, vildagliptin i saxagliptin su manje selektivni, a pokazano je kako mogu utjecati na inhibiciju DPP8 i DPP9 u *in vitro* uvjetima (41).

Inhibicija DPP IV/CD26 ovisi o dozi, a razina inhibicije DPP IV/CD26 u plazmi može biti veća od 80% ako se primjenjuje odgovarajuća doza inhibitora (42). Kao primjer mehanizma inhibicije DPP IV/CD26 može se navesti vildagliptin: nakon ulaska u cirkulaciju, natječe sa za aktivno mjesto DPP IV/CD26 s GLP-1 i GIP-om. Vildagliptin ima veći afinitet vezivanja za aktivno mjesto DPP IV/CD26 gdje stvara kovalentnu vezu. Raskidanje iste događa se vrlo usporeno; s poluživotom od sat vremena. Sve dok je vildagliptin kovalentno vezan, onemogućeno je proteolitičko djelovanje DPP IV/CD26 na bilo koji drugi supstrat. Kada se neaktivni dio vildagliptina odvoji od aktivnog mjesta, drugi dio njegove molekule ulazi u kompeticiju s GLP-1 i GIP za aktivno mjesto. Takvo djelovanje ponavlja se te rezultira potpunim blokiranjem aktivnosti DPP IV/CD26 sve dok razina vildagliptina nije veća ili jednaka 50 nM. Naposljetku je najvažniji učinak inhibitora činjenica da omogućuje povećanje cirkulirajuće razine GLP-1 i GIP te posljedičnu regulaciju glikemije (43).

Razna istraživanja pokazala su da inhibitori DPP IV/CD26 ne utječu na citokromski enzimski sustav, time ne dolaze u interakciju s drugim lijekovima. Time se ukazuje na prednost korištenja ovakvih oralnih antidijabetika s drugim kombiniranim antidijabetičkim agensima kao što su metformin ili simvastatin.

1.3.6.1. Farmakokinetika inhibitora DPP IV/CD26

Inhibitori DPP IV/CD26 uzimaju se *per os* te se brzo apsorbiraju u cirkulaciji, gdje dalje inhibiraju proteolitičku aktivnost DPP IV/CD26 unutar 5 minuta. Najvišu bioraspoloživost pokazuju sitagliptin te vildagliptin (oko 85%) dok saxagliptin i alogliptin

pokazuju nižu bioraspoloživost. Najveća koncentracija ovih lijekova nalazi se u crijevima, bubrezima i jetri što jednako tako upućuje na činjenicu da ovi spojevi dosta teško ili nikako ne prelaze krvno-moždanu barijeru. Sitagliptin i alogliptin se slabo metaboliziraju kod ljudi. Djelovanjem citokromnih enzima CYP3A4 i CYP2C8 sitagliptin se metabolizira u šest metabolita od čega su samo tri aktivna; M1, M2, M5. Alogliptin se s druge strane metabolizira pomoću enzima CYP2D6 i CYP3A4 u dva manja metabolita (u tragovima) od čega je jedan aktivni: N – demetilirani te jedan neaktivni: N – acetilirani (42). Vidagliptin se metabolizira isključivo hidrolitičkim putem CYP450 nezavisnog mehanizma, te nastaje metabolit karboksilne kiseline i četiri manja metabolita. Eliminacija najpoznatijih inhibitora DPP IV/CD26 vrši se putem bubrega, a manji dio putem fecesa.

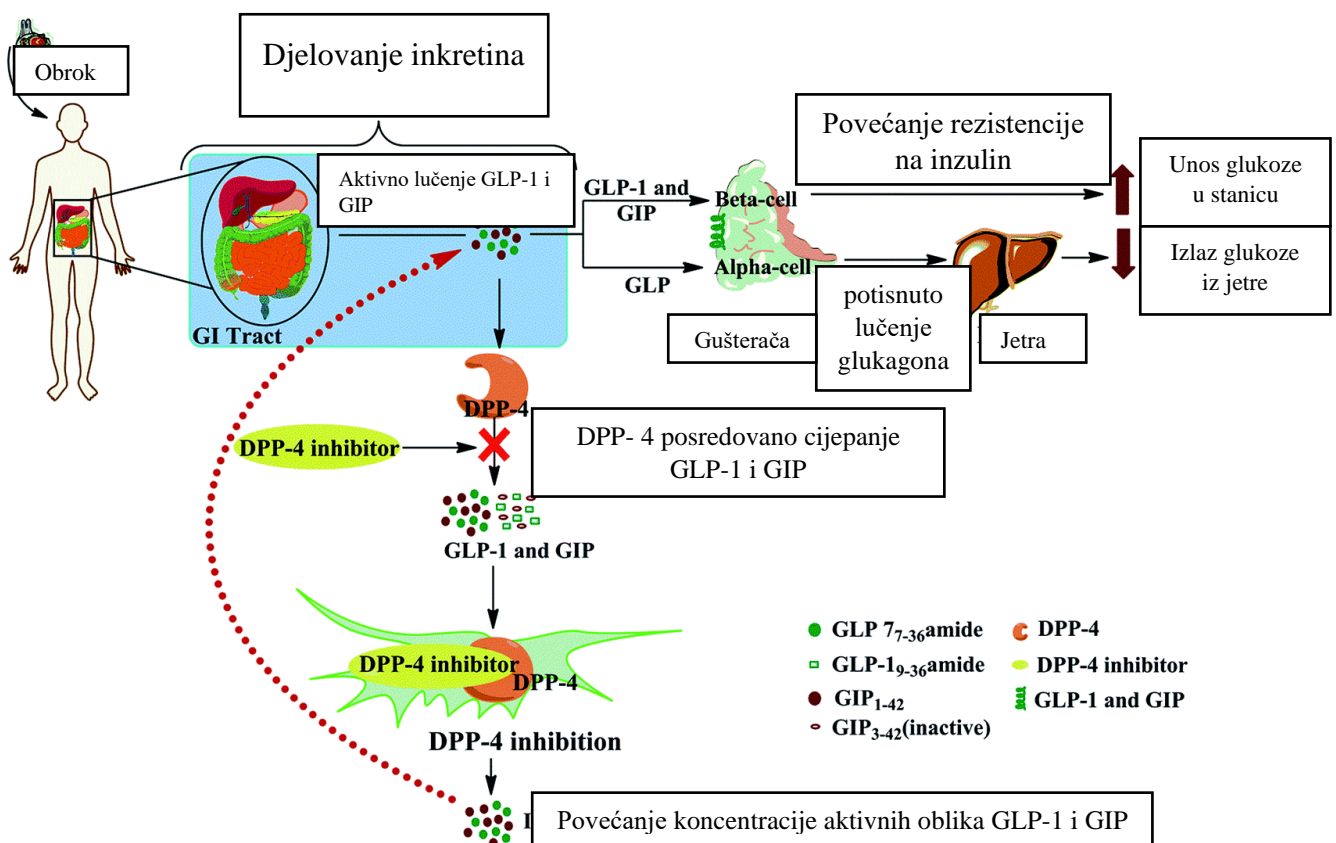
1.3.6.2. Farmakodinamika inhibitora DPP IV/CD26

Inhibicija DPP IV/CD26 zavisna je o dozi, a razina inhibicije DPP IV/CD26 u plazmi može biti veća i od 80% s primjenom odgovarajuće doze inhibitora (43). Povećana koncentracija GLP – 1 u plazmi koja se postiže primjenom inhibitora kod pacijenata s dijabetesom tipa II dovesti će do povećanog lučenja inzulina obzirom da GLP – 1 stimulira funkciju beta – stanica gušterače, a viša razina inzulina naposljetku će dovesti do snižavanja koncentracije glukoze u krvi. Povećana koncentracija GLP – 1 također dovodi do smanjenja lučenja glukagona čime se dodatno poboljšava kontrola glikemije kod oboljelih od dijabetesa.

Istraživanja pokazuju da kod kombiniranih terapija navedenih inhibitora s drugim antidijabetičkim agensima kao poput metformina ili pioglitazona neće dovesti do neželjenih interakcija obzirom da inhibitori DPP IV/CD26 ne utječu na citokromski enzimski sustav, te time ne ostvaruju farmakološke interakcije.

1.3.6.3. Nuspojave inhibitora DPP IV/CD26

Brojna klinička ispitivanja ukazuju na činjenicu kako su inhibitori DPP IV/CD26 učinkoviti lijekovi te se dobro podnose kod pacijenata sa šećernom bolesti tipa II. Pokazalo se isto tako, da imaju nizak rizik uzrokovanja hipoglikemije, minimalan utjecaj na tjelesnu masu te gastrointestinalne poremećaje, te ne pokazuju interakcije koje bi bile značajne s drugim lijekovima (27). Istraživanja ukazuju na minimalan rizik od infekcija ili glavobolja u slučaju sitagliptina i vildagliptina; ali s druge strane saxagliptin i alogliptin mogu povećati rizik zatajenja srca kod pacijenata sa šećernom bolesti tipa II koji imaju postojeće kardiovaskularne bolesti ili predispozicije za iste.

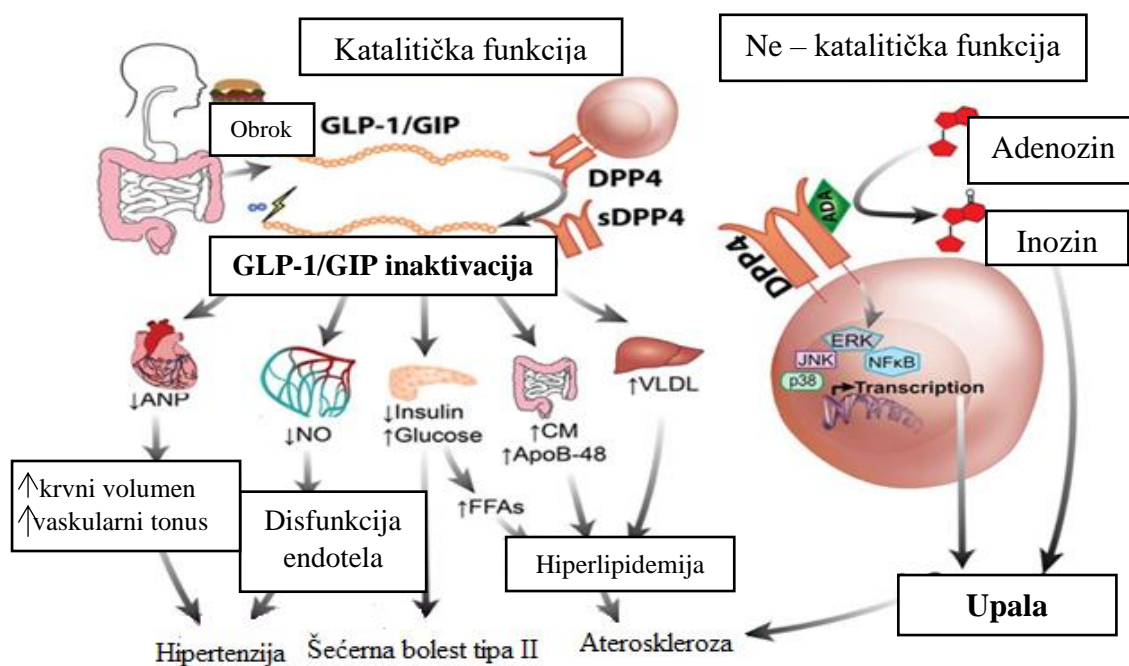


Slika 5. Mehanizam djelovanja inhibitora DPP IV/CD26

1.3.7. Uloga DPP IV/CD26 u imunom sustavu

Molekula DPP IV/CD26 izražena je na zrelih timocitima, aktiviranim limfocitima T, B, NK-stanicama te makrofagima te brojnim stanicama kao što su epitelne i endotelne stanice različitih organa i tkiva. Visok izražaj utvrđen je također kod aktiviranih pomagačkih (CD4⁺) i citotoksičnih (CD8⁺) limfocita T (44,45).

Dokazano je da je DPP IV/CD26 uključena u mehanizam stanične proliferacije i diferencijacije limfocita B i NK-stanica, apoptoze (programirane smrti stanice) te da igra značajnu ulogu i u autoimunim procesima. Povećani izražaj DPP IV/CD26 na površini limfocita T potiče njihovu daljnju proliferaciju koja postiže svoj maksimum kroz tri dana. Zatim se izražaj smanjuje te zaustavlja kroz jedanaest dana, što dokazuje da DPP IV/CD26 nije stabilan marker.



Slika 6. Biološke funkcije DPP IV/CD26

2. Uloga DPP IV/CD26 i njezinih supstrata u procesu cijeljenja rana

DPP IV/CD26 multifunkcionalni je protein koji pokazuje različite uloge u fiziološkim i patološkim procesima koje ovise o tipu stanice te uvjetima u kojima se ista nalazi. Reakcijom hidrolize, DPP IV/CD26 razgrađuje N-terminalni završetak proteina koji na pretposljednem mjestu u lancu sadrži aminokiseline alanin i prolin te tako utječe na njihovu aktivaciju i inaktivaciju (46). Poznato je da DPP IV/CD26 sudjeluje u adheziji, migraciji i apoptozi stanica, razgradnji ekstracelularnog matrixa stanica - ključnim procesima u cijeljenju rana. Djeluje kao medijator upale te je uključen u reepitalizaciju tkiva koje je ozlijeđeno (47). Dokazano je da DPP IV/CD26 utječe na proliferaciju limfocita T te da procesu cijeljenja rana dolazi do povećanog izražaja DPP IV/CD26 na limfocitima T (48). Stoga, nedostatak DPP IV/CD26 može dovesti do promjena u procesu proliferacije limfocita T te ujedno i do smanjenja izlučivanja citokina kao što su IL – 2, IL – 10, IL – 12 (49). Smanjeno izlučivanje citokina utječe povratnom spregom na izražaj DPP IV/CD26 na limfocitima T te ujedno i na njihovu proliferaciju što izravno može utjecati na imunosni odgovor organizma. Istraživanja upućuju na činjenicu da DPP IV/CD26 svojim proteolitičkim djelovanjem utječe na razine supstancije P i na taj način potiče osjet bola u rani (50).

Tijekom procesa cijeljenja rana dolazi do pojave hipoksije te se posljedično počinju izlučivati razni faktori rasta koji potiču angiogenezu. Poznato je kako DPP IV/CD26 djeluje na svoj supstrat neuropeptid Y (NPY), na način da onemogućava vezanje na njegov receptor Y1. Funkcije NPY u procesima regeneracije i reparacije tkiva su mnogobrojne. Razgradnjom NPY, DPP IV/CD26 regulira proliferaciju i angiogenezu u upalnim procesima. NPY poboljšava funkciju miokarda i sazrijevanje novonastalih krvnih žila stvaranjem sloja glatkih mišića stimulirajući faktore rasta VEGF i bFGF (51).

U procesu cijeljenja rana sudjeluju i kemokini koji potiču migraciju različitih vrsta upalnih stanica. Postoje tri vrste skupine kemokina: CXC (α – kemokini), CC (β – kemokini) i C (γ – kemokini) čiji se receptori nalaze na površini različitih stanica (52). U CXC kemokine spadaju i važni susprati DPP IV/CD26 s značajnim djelovanjem u procesu cijeljenja rana: IP – 10 (engl. *interferon gamma-induced protein 10*), MIG (engl. *monokine induced by gamma interferon*) i SDF – 1 α (engl. *stromal cell-derived factor 1 α*).

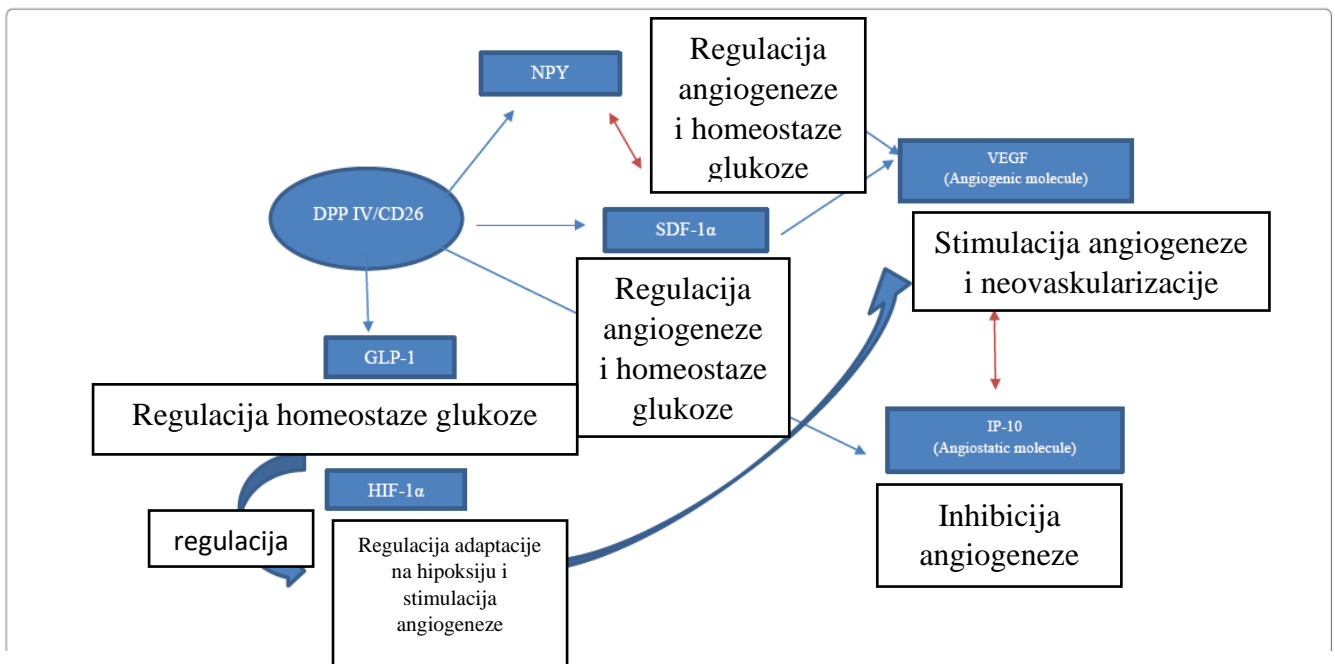
Istraživanja su dokazala da DPP IV/CD26 proteolitičkom funkcijom djeluje na kemokine IP – 10 i MIG na način da im se smanjuje uloga u kemotaksiji, ali im ostaje očuvana sposobnost inhibicije angiogeneze. S druge strane, SDF – 1 α ima ulogu u poticanju angiogeneze, utječe na proliferaciju i migraciju endotelnih stanica te potiče reepitelitaciju. Endotelne stanice, miofibroblasti i keratinociti izlučuju SDF – 1 α .

U CC kemokine ubrajamo monocitni kemotaktički protein 1 (MCP – 1, engl. *monocyte chemotactic protein 1*) te RANTES (engl. *regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*). MCP – 1 djeluje na limfocite T i mastocite, dok RANTES zajedno sa MCP – 1 regulira aktivnost upalnih stanica. Ulogu u regulaciji procesa cijeljena rana imaju i faktori rasta za koje je također potvrđena veza s molekulom DPP IV/CD26. Faktori rasta su: EGF, FGF, PDGF, TGF – β , VEGF i bFGF. Faktor rasta EGF izlučuju trombociti, makrofagi i fibroblasti, a ima ulogu u reepitelizaciji, povećanju stvaranja keratinocita i migraciji stanica. Zatim, FGF ima ulogu u stvaranju granulacijskog tkiva, reepitelizaciji i remodeliranju tkiva, a izlučuju ga stanice glatkih mišića, endotelne stanice, keratinociti i fibroblasti. PDGF ima ulogu u svim fazama cijeljenja rana, a izlučuju ga trombociti, fibroblasti i keratinociti.

Dokazana je uzročno-posljedična veza DPP IV/CD26 i TGF – β , iako TGF – β nije supstrat za katalitičko djelovanje ovog enzima. Inhibicija DPP IV/CD26 potiče lučenje TGF – β , a povećanje koncentracije TGF- β inhibira enzimsku aktivnost DPP IV/CD26 (53).

S obzirom na mnoštvo uloga DPP IV/CD26, istraživani su učinci inhibitora ove molekule na proces cijeljenja rana u dijabetesu. Rezultati su pokazali da DPP IV inhibitori koordiniraju stanične aktivnosti keratinocita i fibroblasta kod indukcije epitelno-mezenhijalnog prijelaza što je upravo ključan proces kod reepitalizacije u oporavku tkiva.

Tijekom treće faze cijeljenja rane dolazi do remodeliranja ekstracelularnog matriksa i kolagena. DPP IV/CD26 ima ulogu u razgradnji kolagena te je dokazano kako njezini inhibitori preveniraju prekomjerno nakupljanje ekstracelularnog matriksa, što se povezuje sa stvaranjem ožiljka (54). Svojom proteolitičkom funkcijom dakle DPP IV/CD26 održava ravnotežu između razgradnje i sinteze kolagena, što omogućuje nastanak ožiljkastog tkiva i uspostavljanje ponovne fiziološke funkcije kože.



Slika 7. Prikaz uzročno-posljedične veze DPP IV/CD26 i njezinih supstrata u procesima cijeljenja rane i homeostazi glukoze (preuzeto iz: (56))

Iz svega navedenog možemo zaključiti kako DPP IV/CD26 ima važnu ulogu u procesu cijeljenja rana putem regulacije biološke aktivnosti svojih brojnih supstrata (kemokina, kolagena, citokina), interakcijom s ostalim proteinima te svojom imunomodulacijskom aktivnošću (55, 56).

3. Zaključak

Dosadašnja istraživanja ukazuju na vrlo važnu ulogu DPP IV/CD26 kao molekule u raznim biološkim procesima. DPP IV/CD26 sudjeluje u svim procesima cijeljenja rane te ostvaruje značajnu ulogu u angiogenezi, adheziji, migraciji i apoptozi stanica. Funkcija molekule DPP IV/CD26 je dvojaka. Svojom proteolitičkom aktivnošću utječe na aktivaciju i inaktivaciju svojih supstrata, specifičnih biološki važnih peptida, koji sudjeluju u cijeljenju rana. Sljedeća vrlo bitna funkcija je imunomodulacijska, naime sudjeluje u kostimulaciji i modulaciji imunskog odgovora u procesu cijeljenja rana. Međutim, uloga DPP IV/CD26 nije dovoljno istražena. Poznavanje mehanizama djelovanja DPP IV/CD26 i njezinih supstrata u procesima cijeljenja rane u uvjetima hiperglikemije dovelo bi do razvoja novih strategija poboljšanja kvalitete života oboljelih od dijabetesa.

4. Literatura

1. Polji T, Willisa T, Dobsona M, Bernarda C, Langerhans P, Minikovski O., Epidemiologija šećerne bolesti u Hrvatskoj i svijetu. 2007, Preuzeto s <http://hrcak.srce.hr/68676>.
2. Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B. Interna medicina. Zagreb: Naklada Ljevak, 2008;1244.
3. Tabák AG, Jokela M, Akbaraly TN, Brunner EJ, Kivimäki M, Witte DR. Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study. *Lancet* 2009;373:2215-21
4. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. In standards of Medical Care in Diabetesd 2016. *Diabetes Care* 2016;39(Suppl.1): S13-S22.
5. Rahelić D, Altabas V, Bakula M, Balić S, Balint I, Bergman Maković B et al. hrvatske smjernice za farmakološko liječenje šećerne bolesti tipa 2. *Liječ Vjesn* 2016; 138:1-21.
6. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med* 2006;355:2427-43.
7. Bryan J, Crane A, Vila-Carriles WH, Babenko AP, Aguilar-Bryan L. Insulin secretagogues, sulfonylurea receptors and K(ATP) channels. *Curr Phatm Des* 2005;11:2699-716.
8. Jehle PM, Micheler C, Jehle DR, Breitig D, Boehm BO. Inadequate suspresion of neutral protamine Hagedorn (NPH) insulin in pens. *Lancet* 1999;354:1604-7.

9. Pugh SK, Doherty DA, Megann EF, Chauhan SP, Hill JB, Morrison JC. Does Hypoglycaemia following a glucose challenge test identify a high risk pregnancy? *Reproductive Health* 2009;6:10.
10. Brem H, Tomic-Canic M., Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes, *The Journal of clinical investigation*. American Society for Clinical Investigation, 2007, 117(5):1219-22.
11. Basil M Hatash, Longmei Zhao, Joseph A. Knowles, H. Peter Lorenz. Adult and fetal wound healing, 2008 Jan 1;13:51-61
12. Kiya K, Kubo T. Neurovascular interaction in skin wound healing. *Neurochem Int*. 2019 May;125:144-150
13. Novinščak T, Filipović M. Patofiziologija cijeljenja rane. *Acta Med Croatica*, 69 (2015) (Supl.1) 81-84.
14. Peterson JM, Barbul A, Breslin RJ, Wasserkrug HL, Efron G.; Significance of T-lymphocytes in wound healing; *Surgery* 1987;102(2):300-305
15. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M; Growth Factors and cytokines in wound healing.; *Wound Repair Regen* 2008; 16(5):585-601
16. Diegelmann RF, Evans MC; Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing.; *Front Biosci* 2004; 9:283-289
17. Botusan IR, Gupta Sunkari V, Savu O, Catarina AI, Grünler J, Lindbreg S, Pereira T, Ylä-Herttuala S, Poellinger L, Brismar K, Catarina SB. Stabilization of HIF-1 α is critical to improve wound healing in diabetic mice. *PNAS* December 9, 2008 105(49) 19426-19431
18. Adair TH, Montani J-P. Overview of Angiogenesis. *Morgan & Claypool Life Sciences*; 2010. Vol. 2, No.1, str. 1-84

19. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M; Growth factors and cytokines in wound healing.; *Wound Repair Regen* 2008; 16(5):585-601
20. Nissen NN, polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA; Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing.; *Am J Pathol* 1998; 152(6):1445-1452
21. Mark D Gorrell; Dipeptidyl-peptidase IV and related enzymes in cell biology and liver disorders.; *Clinical Science* 2005; 108(4):277-292
22. Van Hinsbergh VW, Englese MA, Quax PH. Pericellular proteases in angiogenesis and vasculogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:716-28
23. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2010 Mar;89(3):219-29
24. Witte MB, Barbul A; General principles of wound healing.; *Surg Clin North Am* 1997;77(3):509-528
25. Lambeir AM, Durinx C, Scharpé S, De Meester I; Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside. an update on structural properties, function, and clinical aspects of the enzyme DPP IV.; *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003; 40(3):209-294
26. Metzemaekers M, Van Damme J, Mortier A and Proost. Regulation of Chemokine Activity- A Focus on the Role of Dipeptidyl Peptidase IV/CD26. *Front. Immunol.*2016; 7:483
27. Yu DM, Yao TW, Chowdhury S, Nadvi NA, Osborne B, Church WB et al; The dipeptidyl peptidase IV family in cancer and cell biology. *FEBS J* 2010;277:1126-44
28. Aertgeerts K, Ye S, Tennant MG, Kraus ML, Rogers J, Sang B-C, Skene RJ, Webb DR, Prasad GS; Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV in complex with a decapeptide reveals details on substrate specificity and tetrahedral intermediate formation.; *Protein Sci* 2004;13(2):412-421

29. Engel M, Hoffmann T, Wagner L, Wermann M, Heiser U, Kiefersauer R, Huber R, Bode W, Demuth HU, Brandstetter H; The crystal structure of dipeptidyl peptidase IV (CD26) reveals its functional regulation and enzymatic mechanism.; Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(9):5063-5068
30. Barbara Gawronska- Kozak, Marek Bogacki, Jong-Seop Rim, W Todd Monroe, Jessica A Manuel. SC May-Jun 2006;14(3):265-76
31. Kelly E, Johnson and Traci A. Wilgus. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair; Advances in wound care. 2014 Oct 1; 3(10):647-661
32. Barbara Gawronska-Kozak et al. Scarless skin repair immunodeficient mice. Wound Repair Regen. May-Jun 2006;14(3):265-76
33. Corden OJ, Salgado FJ, Nogueira M. On the origin of serum CD26 and its altered concentration in cancer patients. Cancer Immunol Immunother 2009;58:1723-47
34. Nagatsu T, Hino M, Fuyamada H, Hayakawa T, Sakakibara S, Nakagawa Y et al. New aminopeptidase. Anal Biochem 1976;74:466-76
35. Durinx C, Lambeir AM, Bosmans E, Falmagne JB, Berghmans R, Haemers A et al. Molecular Characterization of dipeptidyl peptidase activity in serum: soluble CD26/ dipeptidyl peptidase IV is responsible for the release of X-Pro dipeptides. Eur J Biochem 2000;267:5608-13
36. Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26: A multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. Scand J Immunol 2001;54:249-64
37. Ogata S, Misumi Y, Ikehara Y. Primary structure of rat liver dipeptidyl peptidase IV deduced from its cDNA and identification of the NH₂-terminal signal sequence as the membrane-anchoring domain. J Biol Chem 1989;264:3596-601

38. Boonacker E, Van Noorden CJ; The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPP IV.; *Eur J Cell Biol* 2003;82(2):53-73
39. Krymann B, Ghatei MA, Williams G, Bloom SR; Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man.; *Lancet* 1987;2(8571):1300-1304
40. Theodorakis MJ, Carlson O, Michopoulos S, Doyle ME, Juhaszova M, Petraki K et al. Human duodenal enteroendocrine cells: source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011;13:7-18
41. Deacon CF. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes: a comparative review. *Diabet Obes Metab* 2011;13:7-18
42. Gallwitz B. Sitagliptin: Profile of a novel DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Drugs Today* 2007;43:13-25
43. Foley JE, Ahrén B. The vildagliptin experience-25 years since the initiation of the Novartis glucagon-like peptide-1 based therapy programme and 10 years since the first vildagliptin registration. *Eur Endocrinol* 2017;13:56-61
44. Gorrell MD, Wickson J, McCaughan GW; Expression of the rat CD26 antigen (dipeptidyl peptidase IV) on subpopulations of rat lymphocytes.; *Cell Immunol* 1991;134(1):205-215
45. Bühling F, Kunz G, Reinhold D, Ulmer AJ, Ernst M, Flad HD, Ansorge S; Expression and functional role of dipeptidyl peptidase IV (CD26) on human natural killer cells.; *Nat Immun* 1994; 13(5):270-279
46. Matteucci E, Giampietro O. Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme. *Curr Med Chem.* 2009;16(23):2943-51
47. Wang XM, Yu DM, McCaughan GW, Gorrell MD. Extra-enzymatic roles of DPP IV and FAP in cell adhesion and migration on collagen and fibronectin. *Adv Exp Med Biol.*2006;575:213-22

48. Bielefeld KA, Amini-Nik S, Alman BA; Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration.; *Cell Mol Life Sci* 2013;70(12):2059-2081
49. Behm B, Barbilos P, Landthaler M, Schreml S; Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2012Jul;26(7);812-20
50. Matheeußen V, Jungraithmayr W, De Meester I; Dipeptidyl peptidase 4 as a therapeutic target in ischemia/reperfusion injury.; *Pharmacol Ther* 2012;136(3):267-282
51. Yu DM, Yao TW, Chowdhury S, Nadvi NA, Osborne B, Church WB et al. The dipeptidyl peptidase IV family in cancer and cell biology. *FEBS J* 2010;277:1126-44
52. Werner S, Grose R: Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;53:835-70
53. Zhang JM, An J. Cytokines, Inflammation and Pain. *Int Anesthesiol Clin* 2007;45:27-37
54. Long M, Cai L, Li W, Zhang L, Guo S, Zhang R, Zhang Y, Liu X, Zhou X, Wang H, Li X, Li L, Zhu Z, Yang G, Zheng H. DPP-4 Inhibitors Improve Diabetic Wound Healing via Direct and Indirect Promotion of Epithelial-Mesenchymal Transition and Reduction of Scarring. *Diabetes*, 2018 Mar;67(3):518-531
55. Thomas H. adair, Jean-Pierre Montani; Overview of angiogenesis. *Morgan & Claypool Life Sciences* 2010;2(1):1-84
56. Baticic L, Kovac A, Detel D, Buljevic S, Pugel EP, Varljen J. Wound Healing Process, Diabetes and Implications of Dipeptidyl Peptidase IV (DPP IV/CD26). *J Tissue Sci Eng* 8:213. doi: 10.4172/2157-7552.1000213

5. Životopis

Ime i prezime: Andrea Puž

Adresa: Pužev breg 9, 51211 Matulji

Telefonski broj: +385 91 955 4106

Državljanstvo: Hrvatsko

Datum rođenja: 08. studenog 1996.

Spol: ženski

Obrazovanje i osposobljavanje

2015. – 2020. Preddiplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva, Medicinski fakultet,
Sveučilišta u Rijeci, Ul. Braće Branchetta 20/1, 51000 Rijeka

2011. – 2015. Gimnazija Eugena Kumičića u Opatiji, Ul. Drage Gervaisa 2, 51410 Opatija

2003. – 2010. Osnovna škola Rikard Katalinić Jeretov, Opatija

Studentski poslovi: Müller Rijeka

Osobne i komunikacijske vještine

Materinski jezik – hrvatski

Strani jezik – engleski

Timski duh, komunikativna, sposobnost prilagođavanja novoj sredini

Računalne vještine i kompetencije

Microsoft Office paket (Word, Excel, PowerPoint)

Internet i društvene mreže (Facebook)

Dodatne informacije

Organizacijski odbor 2. i 3. studentskog kongresa zaštite zdravlja – Sanitas 2019. i Sanitas 2020.