

Взаимосвязь провоспалительной активации моноцитов с факторами риска атеросклероза при сахарном диабете 2 типа

DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2024.01.0006

© Т.В. Кириченко¹, Л.А. Бочкарева², Л.В. Недосугова², Ю.В. Маркина¹, И.А. Кузина², Т.В. Толстик¹, А.И. Богатырева¹, А.М. Маркин¹

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

Для цитирования: Кириченко Татьяна Владимировна – ORCID 0000-0002-2899-9202; Бочкарева Лейла Азимовна – ORCID 0009-0004-7147-5959; Недосугова Людмила Викторовна – ORCID 0000-0002-6823-2487; Маркина Юлия Владимировна – ORCID 0000-0002-3781-6340; Кузина Ирина Александровна – ORCID 0000-0001-7923-4894; Толстик Таисия Владимировна – ORCID 0000-0002-2897-4777; Богатырева Анастасия Ильинична – ORCID 0000-0002-1188-1945; Маркин Александр Михайлович – ORCID 0000-0002-6649-7924. Взаимосвязь провоспалительной активации моноцитов с факторами риска атеросклероза при сахарном диабете 2 типа. *Атеросклероз и дислипидемии.* 2024;1(54):45–51. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2024.01.0006.

Абстракт

Цель. В патогенезе СД 2 типа важную роль играет хроническое воспаление, приводящее к активному прогрессированию атеросклероза, что значительно увеличивает сердечно-сосудистую летальность у пациентов с сахарным диабетом. Целью исследования явилось изучение провоспалительной активации моноцитов при СД 2 типа и определение ее взаимосвязи с клиническими характеристиками пациентов с СД 2 типа, в том числе с сердечно-сосудистыми факторами риска и показателями атеросклероза.

Материалы и методы. В исследование были включены 50 пациентов с впервые выявленным СД 2 типа и 40 участников контрольной группы. У участников исследования оценивали сердечно-сосудистые факторы риска – ИМТ, липидный профиль крови и показатели атеросклероза сонных артерий. Для характеристики провоспалительной активации моноцитов оценивали базальную и ЛПС-стимулированную секрецию цитокинов ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8 и МСР-1 в первичной культуре моноцитов участников исследования.

Результаты. В группе пациентов с СД 2 типа были значимо повышены факторы сердечно-сосудистого риска, в частности высокий ИМТ, высокие уровни триглицеридов и ЛНП и сниженный уровень ЛВП, увеличение ТИМС сонных артерий и достоверно более высокая степень стеноза сонных артерий. Уровень базальной секреции ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8 и МСР-1 был достоверно выше в группе пациентов с СД 2 типа по сравнению с участниками контрольной группы. Уровни ЛПС-стимулированной секреции

также были выше у пациентов с СД 2 типа, но только по хемокинам ИЛ-8 и MCP-1 были выявлены достоверные различия между группами. В результате корреляционного анализа выявлена взаимосвязь секреции ИЛ-6 с уровнями общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, корреляция секреции MCP-1 с уровнем триглицеридов в сыворотке крови, корреляция секреции ФНО- α и ИЛ-8 со степенью атеросклеротического стеноза в бассейне сонных артерий.

Заключение. Таким образом, в результате исследования выявлена провоспалительная активация моноцитов у пациентов с СД 2 типа по сравнению с участниками контрольной группы, ассоциированная с атеросклерозом сонных артерий и показателями липидного профиля крови, что представляет интерес для разработки новых диагностических алгоритмов и терапевтических стратегий в отношении СД 2 типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, атеросклероз, моноциты, провоспалительные цитокины.

The association of pro-inflammatory monocyte activation and risk factors for atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus

© T.V. Kirichenko¹, L.A. Bochkareva², L.V. Nedosugova², Yu.V. Markina¹, I.A. Kuzina², T.V. Tolstik¹, A.I. Bogatyreva¹, A.M. Markin¹

¹ Research Institute of Human Morphology named after Academician A.P. Avtsyn «Russian State Scientific Center for Surgery named after Academician B.V. Petrovsky», Moscow

² First Moscow State Medical University named after Sechenov, Moscow

Abstract

Objective: Chronic inflammation plays an important role in the pathogenesis of type 2 diabetes, leading to active progression of atherosclerosis, which significantly increases cardiovascular mortality in patients with diabetes. The aim of the study was to assess the pro-inflammatory monocyte activation in type 2 diabetes and to determine its association with clinical characteristics of patients with type 2 diabetes, including cardiovascular risk factors and indicators of atherosclerosis.

Materials and methods: The study included 50 patients with newly diagnosed type 2 diabetes and 40 participants of the control group. The study participants were assessed for cardiovascular risk factors such as BMI, blood lipid profile, and indicators of carotid atherosclerosis. To characterize the proinflammatory activation of monocytes, basal and LPS-stimulated secretion of the cytokines TNF- α , IL-6, IL-8 and MCP-1 was assessed in the primary culture of monocytes of study participants. Results: Cardiovascular risk factors were significantly increased in the group of patients with type 2 diabetes, in particular, high BMI, high levels of triglycerides and LDL and reduced levels of HDL, increased cIMT of the carotid arteries and significantly higher degree of atherosclerotic carotid stenosis. The level of basal secretion of TNF- α , IL-6, IL-8 and MCP-1 was significantly higher in the group of patients with type 2 diabetes compared to participants in the control group. The levels of LPS-stimulated secretion were also higher in patients with type 2 diabetes, but only the chemokines IL-8 and MCP-1 showed significant differences between the groups. As a result of the correlation analysis, an association between IL-6 secretion and the levels of total cholesterol and triglycerides in the blood serum, an association between MCP-1 secretion and the level of triglycerides, and an association between TNF- α and IL-8 secretion and atherosclerotic stenosis in the carotid artery were revealed.

Conclusion: Thus, the study revealed pro-inflammatory activation of monocytes in patients with type 2 diabetes compared with participants of the control group, associated with atherosclerosis of the carotid arteries and blood lipid profile indicators, which is of interest for the development of new diagnostic algorithms and therapeutic strategies for diabetes 2 types.

Keywords: diabetes mellitus, atherosclerosis, monocytes, proinflammatory cytokines.

For citation: Kirichenko Tatyana Vladimirovna – ORCID 0000-0002-2899-9202; Bochkareva Leila Azimovna – ORCID 0009-0004-7147-5959; Nedosugova Lyudmila Viktorovna – ORCID 0000-0002-6823-2487; Markina Yulia Vladimirovna – ORCID 0000-0002-3781-6340; Kuzina Irina Aleksandrovna – ORCID 0000-0001-7923-4894; Tolstik Taisiya Vladimirovna – ORCID 0000-0002-2897-4777; Bogatyreva Anastasia Ilinichna – ORCID 0000-0002-1188-1945; Markin Alexander Mikhailovich – ORCID 0000-0002-6649-7924. The association of pro-inflammatory monocyte activation and risk factors for atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis and dyslipidemias. 2024;1(54):45–51. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2024.01.0006.

Received/Поступила: 25.11.2023

Review received/Рецензия получена: 07.12.2023

Accepted/Принята в печать: 25.01.2024

Введение

Продолжительность жизни у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа в среднем на 5 лет меньше, чем в общей популяции, и в первую очередь это обусловлено именно активным прогрессированием атеросклероза, который в 4-5 раз увеличивает сердечно-сосудистую летальность у пациентов этой группы. В 80% случаев причиной смерти при СД 2 становится атеросклеротическое поражение коронарных, церебральных и периферических сосудов [1]. Ранее было показано, что моноциты, циркулирующие в крови больных с СД 2 типа, характеризуются провоспалительной активацией, вызванной токсическими эффектами гипергликемии и гиперлипидемии. Гипергликемия способствует выработке активных форм кислорода (АФК) в митохондриях, увеличению образования внутриклеточных конечных продуктов гликирования, что приводит к повышенной экспрессии воспалительных факторов и факторов адгезии, окислительной модификации липопротеидов низкой плотности и развитию резистентности к инсулину [2]. Провоспалительная активация моноцитов является важным механизмом патогенеза хронического воспаления и приводит к прогрессированию СД 2 типа и развитию сосудистых осложнений, в частности, атеросклероза [3,4]. Целью настоящего исследования явилось изучение провоспалительной активации моноцитов у пациентов с СД 2 типа и определение взаимосвязи провоспалительной активации моноцитов с клиническими характеристиками пациентов с СД 2 типа, в том числе с сердечно-сосудистыми факторами риска и показателями атеросклероза.

Материалы и методы

Дизайн исследования

В исследование включали лиц в возрасте от 50 до 70 лет с впервые выявленным СД 2 типа и соответствующих по полу и возрасту условно здоровых

участников контрольной группы. Критериями исключения были возраст младше 50 и старше 70 лет, наличие хронических инфекционно-воспалительных, аутоиммунных и онкологических заболеваний, хроническая сердечно-сосудистая, почечная и печеночная недостаточность, острые респираторные инфекции. Все участники исследования проходили клинико-лабораторное обследование с оценкой традиционных сердечно-сосудистых факторов риска: возраст, индекс массы тела (ИМТ), уровни глюкозы и гликозилированного гемоглобина (HbA1c) в сыворотке крови, показатели липидного профиля крови – общий холестерин, триглицериды, липопротеиды низкой плотности (ЛНП), липопротеиды высокой плотности (ЛВП). Исследование проводилось в соответствии с Хельсинской декларацией 2013 г. Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, протокол № 04-21 от 18.02.2021 г., все участники исследования предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Биохимический анализ крови с определением гликемии и показателей липидного профиля проводился с использованием стандартных методов лаборатории. Ультразвуковое сканирование общих сонных артерий, области каротидного синуса, а также наружной и внутренней сонных артерий в трех фиксированных проекциях – передней, боковой и задней с левой и правой стороны в режиме высокого разрешения проводилось для оценки атеросклеротического статуса. Увеличение толщины интимо-медиального слоя (ТИМС) >1,5 мм или локальное увеличение ТИМС более 50% от окружающего значения в любом визуализируемом сегменте сонных артерий расценивали как атеросклеротическую бляшку (АСБ) [5]. При визуализации АСБ в любом сегменте сонных артерий степень стеноза измеряли по шкале NASCET [6]. ТИМС сонных артерий определяли в области дистального сегмента правой и левой общих сонных артерий в трех проекциях, для статистического анализа использовали среднее значение ТИМС [5].

Исследование провоспалительной активации моноцитов

Провоспалительную активацию моноцитов оценивали по уровню базальной и стимулированной секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов пациентов с СД 2 типа по сравнению с участниками контрольной группы [7]. Для получения первичной культуры моноцитов лейкоцитарную фракцию выделяли из образцов цельной крови методом градиентного центрифугирования. Популяцию CD14+ моноцитов изолировали методом иммуномагнитной сепарации на колонках с использованием парамагнитных наночастиц (Miltenyi Biotec, США). Выделенные клетки культивировали в двух лунках культурального планшета в количестве 500 тыс. клеток на лунку в 0,5 мл культуральной среды X-VIVO (Lonza, Германия) в CO₂ инкубаторе при 37 °C в течение 24 часов. В одну из лунок добавляли бактериальный липополисахарид (ЛПС) в концентрации 1 мкг/мл для стимуляции воспалительного ответа. В другой лунке оценивали базальную секрецию воспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами. Образцы культуральной жидкости получали через 24 ч для определения концентрации воспалительных цитокинов фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкинов-6, -8 (ИЛ-6, ИЛ-8) и моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) методом иммуноферментного

анализа с использованием коммерческих наборов DuoSet ELISA (R&D Systems, США).

Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программного пакета SPSS 27.0 (SPSS, США). Оценку достоверности различий между группами проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, Mean (SD). Взаимосвязь провоспалительной активации моноцитов с клинико-лабораторными характеристиками участников исследования, в том числе с показателями атеросклероза, проводили с помощью корреляционного анализа.

Результаты

Всего в исследование были включены 90 участников: 50 пациентов с впервые выявленным СД 2 типа и 40 условно здоровых участников контрольной группы, соответствующих по полу и возрасту. В таблице 1 представлены основные клинико-лабораторные характеристики участников исследования.

Участники контрольной группы соответствовали участникам исследования с СД 2 типа по полу

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика участников исследования

Параметр	Контрольная группа	Группа СД 2 типа	Достоверность отличий, p
Возраст, годы	60 (5)	63 (9)	0,167
Пол, м/ж	13/27	16/24	0,263
ИМТ, кг/м ²	26,6 (3,8)	31,8 (6,3)	<0,001
Глюкоза, ммоль/л	4,9 (0,5)	7,8 (1,0)	<0,001
HbA1c, %	5,7 (0,4)	6,9 (0,8)	<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	5,7 (0,8)	5,4 (1,1)	0,126
Триглицериды, ммоль/л	1,3 (0,6)	1,7 (0,9)	0,005
ЛНП, ммоль/л	2,1 (1,3)	3,4 (1,0)	<0,001
ЛВП, ммоль/л	3,7 (3,2)	1,7 (0,7)	<0,001
ТИМС общей СА, мкм	662 (163)	1136 (187)	<0,001
Степень стеноза СА, %	10 (8)	24 (16)	<0,001

Примечания: СД – сахарный диабет, ИМТ – индекс массы тела, HbA1c – гликированный гемоглобин, ЛНП – липопротеиды низкой плотности, ЛВП – липопротеиды высокой плотности, ТИМС – толщина интима-медиаляного слоя, СА – сонная артерия.

и возрасту, а также не имели достоверных отличий по уровню холестеринемии. По остальным исследованным клинико-лабораторным характеристикам группы контроля и СД 2 типа имели достоверные отличия. Пациенты с СД 2 типа имели значимо более высокий ИМТ, уровень гликемии и гликози-

лированного гемоглобина, более высокие уровни триглицеридов и ЛНП и более низкий уровень ЛВП в сыворотке крови, более выраженный атеросклероз сонных артерий, определяемый по степени выраженности стеноза при наличии АСБ, а также более высокую ТИМС общей СА.

Провоспалительную активацию моноцитов оценивали по уровню базальной и ЛПС-стимулированной секреции провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8 и МСР-1. В таблице 2 представлены результаты оценки секреции цитокинов культивируемыми моноцитами пациентов с СД 2 типа по сравнению с участниками контрольной группы.

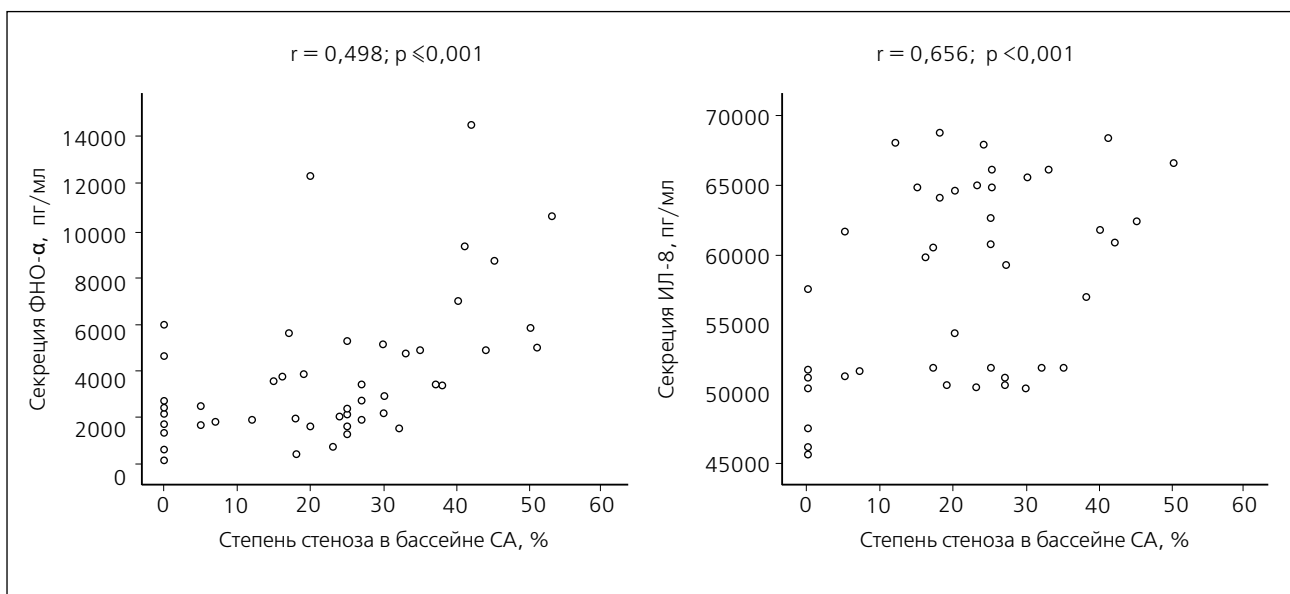
Уровень базальной секреции всех исследованных провоспалительных цитокинов был достоверно выше в группе пациентов с СД 2 типа по сравнению с участниками контрольной группы. Уровень ЛПС-стимулированной секреции хемокинов ИЛ-8 и МСР-1 был достоверно выше у пациентов с СД 2 типа по сравнению с контролем, уровни цитокинов ФНО- α и ИЛ-6 также были выше у пациентов с СД 2 типа по сравнению с контролем, однако различия между группами не достигли уровня статистической достоверности.

Был проведен корреляционный анализ для оценки взаимосвязи уровней секреции провоспалительных цитокинов в первичной культуре моноцитов с клинико-лабораторными характеристиками участников исследования. В результате анализа корреляции уровней секреции провоспалительных цитокинов с показателями липидного профиля крови у пациентов с СД 2 типа выявлена достоверная корреляция базальной секреции ИЛ-6 с уровнями общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, $r=0,369$, $p=0,043$ и $r=0,435$, $p=0,001$ соответственно, а также корреляция базальной секреции МСР-1 с уровнем триглицеридов в сыворотке крови, $r=0,385$, $p=0,003$. В результате анализа корреляции уровней секреции провоспалительных цитокинов с атеросклерозом сонных артерий у пациентов с СД 2 типа выявлена корреляция ЛПС-стимулированной секреции ФНО- α и ИЛ-8 со степенью атеросклеротического стеноза в бассейне сонных артерий,

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика участников исследования

Секреция цитокина, пг/мл		Контрольная группа	Группа СД 2 типа	Достоверность отличий, p
ФНО- α	Базальная	87 (44)	340 (442)	<0,001
	ЛПС-стимулированная	2791 (1388)	3421 (2856)	0,197
ИЛ-6	Базальная	878 (31)	4790 (8152)	0,001
	ЛПС-стимулированная	33023 (17745)	45088 (17594)	0,105
ИЛ-8	Базальная	5741 (8054)	18565 (10275)	<0,001
	ЛПС-стимулированная	29403 (15981)	58518 (10756)	<0,001
МСР-1	Базальная	12258 (23438)	58808 (79884)	<0,001
	ЛПС-стимулированная	50352 (39496)	89588 (87951)	0,007

Рисунок 1. Взаимосвязь степени стеноза при наличии АСБ в бассейне сонных артерий с секрецией провоспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами участников исследования



Примечания: АСБ – атеросклеротическая бляшка, СА – сонные артерии, ИЛ-8 – интерлейкин-8, ЛПС – липополисахарид, ФНО- α – фактор некроза опухоли- α .

$r=0,498$, $p < 0,001$ и $r=0,656$, $p < 0,001$ соответственно (рис. 1).

Обсуждение

В результате исследования показано, что у пациентов с СД 2 типа значительно повышена секреция провоспалительных цитокинов культивируемыми моноцитами, что подтверждается данными ранее проведенных исследований. В частности, ранее было показано, что в условиях гипергликемии происходит повышение секреции и экспрессии воспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-1 в первичной культуре моноцитов-макрофагов [8]. В другом исследовании было продемонстрировано увеличение секреции провоспалительного цитокина ФНО- α и снижение секреции противовоспалительного цитокина CCL18 моноцитами, выделенными из крови пациентов с СД 2 типа, в зависимости от уровня HbA1c и длительности воспалительного процесса [9].

В данном исследовании была выявлена ассоциация секреции провоспалительных цитокинов с показателями липидного профиля крови и прямыми характеристиками атеросклероза. В частности, выявлена корреляция секреции ИЛ-6 с уровнями общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, корреляция секреции MCP-1 с уровнем триглицеридов в сыворотке крови, корреляция секреции ФНО- α и ИЛ-8 со степенью атеросклеротического стеноза в бассейне сонных артерий. Эти результаты подтверждают важную роль провоспалительной активации моноцитов в патогенезе атеросклеротических осложнений при сахарном диабете 2 типа. Известно, что токсическое влияние гипергликемии приводит к поляризации моноцитов/макрофагов по провоспалительному фенотипу, что является важным патогенетическим звеном инсулинорезистентности и атерогенеза при СД 2 типа [10]. При этом неадекватный контроль гликемии также приводит к долгосрочным изменениям в миелоидных клетках-предшественниках костного мозга, что способствует развитию эпигенетических изменений и нарушению толерантности иммунного ответа моноцитов, что в результате стимулирует хронизацию воспаления и ускоренное прогрессирование атеросклероза у пациентов с СД 2 типа [11].

В настоящее время воспалительный статус моноцитов и макрофагов широко исследуется многими научными группами в контексте его роли в прогрессировании СД 2 типа и развитии диабетических осложнений, ассоциированных с хроническим

воспалением [12,13]. Результаты этих исследований имеют важное значение для разработки принципиально новых методов лечения, основанных на применении внеклеточных везикул и клеточной терапии при СД 2 типа и ассоциированных атеросклеротических осложнениях [14]. Ограничением данного исследования является тот факт, что не были изучены механизмы взаимосвязи провоспалительной активации моноцитов с традиционными сердечно-сосудистыми факторами риска и прямыми характеристиками атеросклероза при СД 2 типа. Также представляет интерес проспективное исследование роли провоспалительной активации моноцитов в динамике развития атеросклероза у пациентов с СД 2 типа.

Заключение

Таким образом, в результате исследования выявлена провоспалительная активация моноцитов у пациентов с СД 2 типа по сравнению с участниками контрольной группы, ассоциированная с атеросклерозом сонных артерий и показателями липидного профиля крови. Изучение механизмов взаимосвязи воспалительной активации моноцитов с развитием сердечно-сосудистой патологии при СД 2 типа является предметом дальнейших исследований и имеет важное значение для разработки новых диагностических алгоритмов и терапевтических стратегий в отношении СД 2 типа.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, Грант № 22-25-00149.

Financing

The study was carried out with financial support from the Russian Science Foundation, Grant No. 22-25-00149.

Список литературы / References

1. Hasbeminasabgorji E, Jha JC. Dyslipidemia, Diabetes and Atherosclerosis: Role of Inflammation and ROS-Redox-Sensitive Factors. *Biomedicines*. 2021;9(11):1602. doi: 10.3390/biomedicines9111602.
2. Mao L, Yin R, Yang L, Zhao D. Role of advanced glycation end products on vascular smooth muscle cells under diabetic atherosclerosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:983723. doi: 10.3389/fendo.2022.983723.
3. Shimobayashi M, Albert V, Woelnerhanssen B, Frei IC, Weissenberger D, Meyer-Gerspach AC, et al. Insulin resistance causes inflammation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2018;128(4):1538-1550. doi: 10.1172/JCI96139.
4. Ngcobo SR, Nkambule BB, Nyambuya TM, Mokgalaboni K, Ntsethe A, Mxinwa V, et al. Activated monocytes as a therapeutic target to attenuate vascular inflammation and lower cardiovascular disease-risk in patients with type 2 diabetes: A systematic review of preclinical and clinical studies. *Biomed Pharmacother*. 2022;146:112579. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112579.
5. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012;34(4):290-296. doi: 10.1159/000343145.
6. Hathout G, Nayak N, Abdulla A, Huang J. The Revised Sonographic NASCET Index: A New Hemodynamic Parameter for the Assessment of Internal Carotid Artery Stenosis. *Ultraschall Med*. 2015;36(4):362-368. doi: 10.1055/s-0034-1385070.
7. Nikiforov NG, Wetzker R, Kubekina MV, Petukhova AV, Kirichenko TV, Orekhov AN. Trained Circulating Monocytes in Atherosclerosis: Ex Vivo Model Approach. *Front Pharmacol*. 2019;10:725. doi: 10.3389/fphar.2019.00725.
8. Moganti K, Li F, Schmutzmaier C, Riemann S, Klöter H, Gratchev A, Harmsen MC, Kzhyshkouska J. Hyperglycemia induces mixed M1/M2 cytokine profile in primary human monocyte-derived macrophages. *Immunobiology*. 2017;222(10):952-959. doi: 10.1016/j.imbio.2016.07.006.
9. Galstyan KO, Nedosugova LV, Martirosian NS, Nikiforov NG, Elizova NV, Kolmychkova KI, et al. Modification of Tumor Necrosis Factor- and C-C Motif Chemokine Ligand 18 Secretion by Monocytes Derived from Patients with Diabetic Foot Syndrome. *Biology (Basel)*. 2019;9(1):3. doi: 10.3390/biology9010003.
10. Parisi L, Gini E, Baci D, Tremolati M, Fanuli M, Bassani B, et al. Macrophage Polarization in Chronic Inflammatory Diseases: Killers or Builders? *J Immunol Res*. 2018;2018:8917804. doi: 10.1155/2018/8917804.
11. Thiem K, Stienstra R, Riksen NP, Keating ST. Trained immunity and diabetic vascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2019;133(2):195-203. doi: 10.1042/CS20180905.
12. Nedosugova LV, Markina YV, Bochkareva LA, Kuzina IA, Petunina NA, Yudina IY, Kirichenko TV. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications. *Biomedicines*. 2022;10(5):1168. doi: 10.3390/biomedicines10051168.
13. Banu S, Sur D. Role of Macrophage in Type 2 Diabetes Mellitus: Macrophage Polarization a New Paradigm for Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2023;23(1):2-11. doi: 10.2174/1871530322666220630093359.
14. Yu H, Douglas HF, Wathieu D, Braun RA, Edomwande C, Lightell DJ Jr, et al. Diabetes is accompanied by secretion of pro-atherosclerotic exosomes from vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):112. doi: 10.1186/s12933-023-01833-4.