

Oksidovani LDL i lipidi kao faktori rizika za ishemijsku bolest srca kod obolelih od *Diabetes mellitusa* tip 2

Miroslava Zamaklar, Katarina Lalić, Nataša Rajković, Danijela Trifunović, Mirjana Dragašević, Ljiljana Popović, Danijela Drašković, Nebojša Laić, Aleksanda Jotić, Olga Vasović, Ljiljana Lukić, Tanja Miličić, Tatjana Potpara

Klinički centar Srbije, Institut za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Centar za lipidska ispitivanja i prevenciju kardiovaskularnih komplikacija u dijabetesu, Beograd

Uvod. Poremećaj lipidnog statusa u krvi značajan je faktor rizika koji dovodi do arteriosklerotičnih promena na velikim krvnim sudovima kod bolesnika sa dijabetes melitusom tip 2 (T2D). Faktori koji doprinose disfunkciji endotelne ćelije koje doprinose nastanku arterioskleroze uključuju i oksidativni stres. Cilj istraživanja bio je da se analizuje odnos lipida i oksidativnog stresa kod bolesnika sa T2D, kao i da se uporedi taj odnos između obolelih od dijabetesa sa ishemijskom bolesti srca (IBS) i bez nje. **Metode.** Ispitivanje je izvršeno kod 80 bolesnika sa T2D: kod 40 bolesnika sa IBS i kod 40 bez IBS (grupe A1 i A2) i kod 51 bolesnika sa IBS bez dijabetesa (grupa B1 – 31 bolesnik) i kod 20 zdravih osoba (grupa B2). Mereni su trigliceridi (Tg), ukupni i HDL holesterol, lipoprotein a (Lp a) i apoprotein A1, A II, B 100 i E, a vrednost LDL holesterola je izračunavana. Za određivanje oksidativnog stresa mereni su oksidovani LDL (oxLDL), aktivnosti eritrocitnih enzima: superoksid dizmutaze i glutation peroksidaze (E-SOD i E-GPx), ukupna antoksidantsna aktivnost seruma (TAS), kao i C-reaktivni protein (CRP) i fibrinogen kao markeri inflamacije. **Rezultati.** Vrednosti lipida se nisu razlikovale u grupama A1, A2 i B1, ali su bile više u odnosu na kontrolnu grupu. Grupa B1 je imala viši Lp a u odnosu na ostale grupe ($p < 0,05$). OxLDL je u grupama A1, A2 i B1 bio je sličan, ali viši nego kod zdravih. Kod dijabetičara oxLDL je bio u korelaciji sa ukupnim, LDL i non HDL holesterolom, apo B 100, kao i sa odnosima LDL/HDL, Tg/HDL ($p < 0,001$), Tg i fibrinogenom ($p < 0,05$). U grupi B1 oxLDL je bio u korelaciji sa ukupnim holesterolom, Tg ($p < 0,01$), LDL i non HDL holesterolom ($p < 0,05$) i sa apo B100 ($p < 0,001$). Nije bilo razlike u antioksidativnoj aktivnosti u grupama A1 i A2, kao ni u nivou CRP, ali je fibrinogen bio viši u grupi A1 ($p < 0,05$). U grupi B1 aktivnost E-SOD je bila niža ($p < 0,05$) nego kod obolelih od dijabetesa, dok je CRP bio viši ($p < 0,05$). Korelacije između oxLDL i CRP kod obolelih od dijabetesa nisu bile značajne, ali jesu u grupi B1 ($p < 0,05$). **Zaključak.** Vrednosti lipida su bile slične kod obolelih od dijabetesa sa IBS ili bez njega, a bile su više u odnosu na zdrave, kao i oksidativni stres. Oboleli od dijabetesa sa IBS su imali viši fibrinogen, ali ne i CRP u poređenju sa obolelima od dijabetesa bez IBS. Oni bolesnici koji nemaju dijabetes sa IBS imali su visok nivo oxLDL, sniženu antioksidativnu aktivnost E-SOD i visok nivo CRP.

Ključne reči: dijabetes melitus, insulin nezavisni; holesterol; lipoproteini, LDL holesterol; lipidi; stres, oksidativni; faktori rizika; koronarna bolest.

Uvod

Nema nikakve sumnje da poremećaji lipida i dijabetes kao faktori rizika imaju veoma važnu ulogu u aterogenezi.

Diabetes mellitus tip 2 je najčešći oblik dijabetesa koji pokazuje stalni porast incidencije. Kod mnogih bolesnika

razvijaju se kardiovaskularne komplikacije, a neki ih imaju već u vreme postavljanja dijagnoze. Zato se ovaj tip dijabetesa smatra i kardiovaskularnim oboljenjem. Istovremenu pojavu dijabetesa i drugih poremećaja je Reaven opisao kao metabolički sindrom (1). Genetski, ali i spoljni faktori su od značaja za razvoj ovog sindroma. Receptori za aktivaciju

proliferacije peroksizoma (*Peroxisome Proliferator Activated Receptors* – PPARs) su važni za metabolizam lipida i glukoze, ali i za kontrolu inflamacije (2, 3). PPAR α se nalaze u jetri i mišićima gde kontrolišu transport i oksidaciju masnih kiselina (MK). PPAR γ su važni za metabolizam glukoze, regulaciju insulinske senzitivnosti, adipogenezu i za kontrolu diferentovanja adipocita.

Za proces aterogeneze poremećaji lipida, kao što su visok ukupni i LDL holesterol i pad HDL holesterola, imaju značaja, a to su pokazale Framingamska ili PROCAM studija (4, 5). Važan prediktivni značaj za buduće kardiovaskularne događaje, naročito kod obolelih od dijabetesa, takođe ima zastupljenost malih i gustih LDL čestica, kao i odnos ukupnog i HDL holesterola (6, 7). Male i guste LDL čestice su veoma aterogene jer lakše oksiduju. Klirens oksidovanih LDL čestica odvija se preko receptora „čistača“ na ćelijama endotela ili makrofaga, što se smatra važnim u aterogenezi (8, 9). Oksidativne promene Lp nastaju pod dejstvom slobodnih, pre svega hidroksilnih i kiseoničkih radikala koji se inače stvaraju u normalnim metaboličkim procesima (10).

Cilj ove studije bio je da se analizuju međusobni odnosi nivoa lipida u krvi, oksidativnog stresa i inflamatornog odgovora kod obolelih od dijabetesa tip 2, a da se uporede oboleli od dijabetesa sa i bez ishemijske bolesti srca (IBS) i osobe koje imaju IBS bez dijabetesa kako bi se procenio značaj ovih faktora za razvoj IBS kod jednih i drugih.

Metode

U ispitivanje je bio uključen 141 bolesnik, od kojih je 80 imalo dijabetes tip 2 i bili su podeljeni u dve podgrupe: A1 (40 bolesnika sa dijabetesom i sa IBS) i grupa A2 (40 bolesnika sa dijabetesom, bez IBS). Ispitivanje je izvršeno i kod 31 bolesnika sa IBS, ali bez dijabetesa (grupa B1) i u kontrolnoj grupi od 20 ispitanika bez dijabetesa i bez IBS (grupa B2). Ishemijska bolest srca bila je verifikovana na osnovu jasnih, specifičnih EKG promena ili na osnovu medicinske dokumentacije o preležanom infarktu srca, dok bolesnici sa nejasnim promenama nisu bili uključeni u ispi-

Uzorci krvi uzimani su 12–14 sati nakon poslednjeg obroka, a pre uzimanja redovne terapije. Ukupni i HDL holesterol, kao i trigliceridi (Tg) određivani su enzimskim metodama, pomoću komercijalnih setova, a LDL holesterol je izračunavan prema Friedewaldovoj formuli, sem u slučajevima kada su Tg > 4,5 mmol/l (takvi bolesnici nisu uključeni u ispitivanje). Lipoprotein a, kao i apoproteini A I, A II, B 100 i E su određivani nefelometrijski. Intezitet oksidativnog stresa procenjen je na osnovu merenja nivoa oksidovanog LDL-a i aktivnosti eritrocitnih antioksidativnih enzima. Oksidovani LDL (oxLDL) je određivan u uzorcima sveže plazme ELISA metodom firme Mercodia (11).

Određivana je aktivnost antioksidativnih enzima: Cu-Zn eritrocitne superoksid dizmutaze (EC 1.15.1.1, E-SOD), Se zavisne eritrocitne glutation peroksidaze (EC 1.11.1.9, E-GPX), kao i totalni plazmatski antioksidansni status (P-TAS), korišćenjem komercijalnih setova firme Randox, zasnovanim na metodama Goldsteina, Paglia i Millera (12–14). CRP je, takođe, određivan ELISA metodom.

Kao markeri aterogenog rizika (15) izračunavani su sledeći odnosi: ukupni holesterol / HDL holesterol (> 4,25 – povećan rizik), LDL holesterol / HDL holesterol (> 2,90 – povećan rizik), non HDL holesterol (razlika između ukupnog i HDL holesterola > 3,86 – povećan rizik). Kao indirektni pokazatelj prisustva malih, gustih LDL čestica izračunavan je odnos Tg / HDL holesterol (> 1,33 ukazuje na dominantno prisustvo malih i gustih LDL), jer se pokazalo da je u korelaciji sa izmerenom veličinom čestica (16).

Statistička obrada izvršena je pomoću SPSS software-Windows 2000. Rezultati su prikazani kao srednje vrednosti ($\bar{x}$) $\pm$ standardna devijacija (SD). Značajnost razlika testirana je Studentovim *t*-testom, a korelacije Spearman testom.

Rezultati

Osnovne karakteristike bolesnika prikazane su u tabeli 1. U svim grupama bio je sličan broj ispitanika i sličan odnos polova. U grupama A1, A2 i B1 gojaznost je bila česta, što pokazuju vrednosti indeksa telesne mase (ITM > 25

Tabela 1

Osnovni klinički podaci ispitivanih osoba

Grupa	Broj bolesnika (n)	Starost god.	Odnos polova M/Ž	BMI kg/m ²	Obim struka (cm)	Hipertenzija > 130/85 mm Hg
A1	40	52,3 $\pm$ 5,5	18/22	28,23 $\pm$ 4,32	95,76 $\pm$ 9,94	24 (60,0%)
A2	40	54,5 $\pm$ 3,8	19/21	26,61 $\pm$ 4,26	92,48 $\pm$ 5,61	21 (50,2%)
B1	31	55,2 $\pm$ 4,4	17/14	27,31 $\pm$ 3,31	96,12 $\pm$ 13,52	19 (63,3%)
B2	20	51,5 $\pm$ 4,5	10/10	23,55 $\pm$ 2,55	85,91 $\pm$ 11,64	7 (35,0%)

tivanje. Starost bolesnika je bila između 45 i 62 godine. Kod obolelih od dijabetesa prosečna dužina trajanja bolesti je bila 8,5 $\pm$ 1,5 godina, svi su bili lečeni oralnim preparatima sulfonilureje i nisu imali dobru glukoregulaciju (HbA1c > 7,7%). U vreme ispitivanja bolesnici nisu dobijali lekove iz grupe statina ili fibrata.

kg/m²). Hipertenziju je imalo više od 50% bolesnika u prve tri grupe, a u kontrolnoj grupi 35%.

Vrednosti standardnih parametara lipida prikazani su u tabeli 2. U kontrolnoj grupi B2 bile su niže vrednosti ukupnog, LDL i non HDL holesterola i triglicerida u odnosu na sve tri grupe bolesnika, ali su značajne razlike bile samo

Табела 2

Средње вредности липида у плазми

Липиди	Подгрупе испитиваних болесника			
	A1	A2	B1	B2
U. holesterol (mmol/l)	6,38 ± 1,04	6,47 ± 1,73	6,80 ± 1,32	5,54 ± 1,25
HDL holesterol (mmol/l)	1,26 ± 0,36	1,35 ± 0,32	1,31 ± 0,41	1,35 ± 0,32
LDL holesterol (mmol/l)	4,27 ± 0,85	4,30 ± 1,74	4,42 ± 1,43	4,16 ± 1,44
Tg (mmol/l)	2,97 ± 1,99	2,47 ± 2,21	2,52 ± 1,74	1,66 ± 0,29
Non HDL holesterol (mmol/l)	5,25 ± 0,94	5,17 ± 1,76	5,42 ± 1,50	4,22 ± 1,65
Lp a (nmol/ml)	0,32 ± 0,33	0,31 ± 0,33	0,74 ± 0,32*	0,27 ± 0,24

Значајност разлика:

*p < 0,05 за разлике између A1 и B1, A2 и B1, B1 и B2

између болесника са IBS без дијабетеса (B1) и контролне (B2) групе за вредности укупног, non HDL holesterola и triglicerida ($p < 0,05$). Није нађена значајна разлика у вредностима укупног holesterola, HDL и LDL holesterola, као ни у висини triglicerida између група A1 и A2, као и у односу на групу B1. Болесници из групе B1 имали су значајно више вредности Lp a у односу на све остале групе ($p < 0,05$).

Средње вредности holesterola, LDL holesterola, као и non HDL holesterola у групама A1, A2 и B1 су биле изнад вредности које се сматрају ризицим на основу препорука NCEP ATP III и то не само у односу на препоручене вредности за оболеће од дијабетеса, него и за оне који то нису (17). Према овим препорукама вредности LDL изнад 4,1 mmol/l, а код оболећих од дијабетеса и коронарних болести изнад 2,6 mmol/l су високе. У испитиваним групама средње вредности HDL нису биле испод 1,0 mmol/l. Најниже вредности HDL имали су оболећи од дијабетеса са IBS. У свим испитиваним групама био је висок ниво non HDL holesterola ($> 3,86$ mmol/l), као и вредности triglicerida у односу на контролну групу ($p < 0,05$) али између A1, A2 и B1 није било битне разлике.

Нису нађене значајне разлике у вредностима аполипротеина између група (табела 3). Ипак, највише вредности apo A II биле су у контролној групи. Интересантно је да су вредности apo B 100 биле сличне у свим групама, мада су у контролној групи биле нешто ниже. Apo E је био у контролној групи значајно нижи ($p < 0,05$) у односу на све групе, а у групи A2 нижи у односу на групу A1, мада не значајно.

Највише вредности apo E имали су болесници са IBS без дијабетеса (група B1). Према нашим резултатима, могло би се рећи да је дијабетес удружен са липидним профилем који је сличан оном код болесника који већ имају IBS.

Ниво оксидованог LDL (табела 4) се није значајно разликовао између група A1 и A2, мада је био нешто виши у првој групи, као ни између ових група и групе B1. Ове три групе болесника су међутим, имале статистички значајно виши oxLDL ($p < 0,01$) у односу на контролну групу.

У табели 4 приказане су и вредности атерогених индекса у испитиваним групама. Оболећи од дијабетеса из обе групе (A1 и A2) и групе B1 имали су више ове индексе у односу на контролну групу, али је код болесника са IBS, без обзира да

Табела 3

Аполипротеини у плазми

Аполипротеини	Подгрупе испитиваних болесника			
	A1	A2	B1	B2
Apo A I (g/l)	1,77 ± 0,35	1,75 ± 0,38	1,69 ± 0,46	1,79 ± 0,33
Apo A II (g/l)	343,61 ± 68,82	343,33 ± 58,72	341,52 ± 91,26	369,55 ± 52,63
Apo B 100 (g/l)	1,37 ± 0,36	1,39 ± 0,41	1,37 ± 0,34	1,25 ± 0,24
Apo E (g/l)	80,22 ± 30,13	78,14 ± 34,23	95,33 ± 39,76	43,24 ± 17,53*

Значајност разлика:

*p < 0,05 за разлике између A1 и B2, A2 и B2, B1 и B2

Табела 4

Оксидовани LDL (oxLDL) и атерогени индекси

Индекси	Подгрупе испитиваних болесника			
	A1	A2	B1	B2
OxLDL (IU/l)	119,35 ± 45,82	106,82 ± 67,85	114,44 ± 38,47	78,51 ± 14,50*
Укупни/HDL	5,57 ± 1,83	5,02 ± 1,55	5,61 ± 2,64	4,18 ± 0,64†
LDL/HDL	3,28 ± 1,83	3,19 ± 1,61	3,87 ± 1,31	2,86 ± 1,12
Tg/HDL	2,23 ± 1,54	1,51 ± 0,87‡	2,29 ± 1,16	1,25 ± 1,13‡

Значајност разлика:

*p < 0,01 за разлике између A1 и B2, A2 и B2, B1 и B2

† p < 0,05 за разлику између A1 и B2, B1 и B2

‡ p < 0,05 за разлику између A1 и A2, A1 и B2, B1 и B2

li imaju ili ne i dijabetes, bio posebno visok odnos ukupnini holesterol / HDL holesterol.

U tabeli 5 prikazane su vrednosti antioksidativne aktivnosti eritrocitnih enzima, kao i ukupne antioksidativne ak-

ma našim rezultatima grupe A i B1 imaju povišene vrednosti LDL i non HDL holesterola, ali i triglicerida. Neke studije su pokazale da non HDL holesterol može biti bolji marker aterogenog rizika i od LDL holesterola, jer ukazuje

Tabela 5

Oksidovani LDL (oxLDL) i antioksidativni status

Određivani parametri	Podgrupe ispitivanih bolesnika			
	A1	A2	B1	B2
OxLDL (IU/l)	119,35 ± 45,82	106,82 ± 67,85	114,44 ± 38,47	78,51 ± 14,50*
E-SOD (U/g Hb)	988,77 ± 54,46	969,93 ± 72,23	877,53 ± 99,25	1017,15 ± 75,66†
E-GPX (U/g Hb)	29,92 ± 3,63	27,52 ± 5,10	27,72 ± 5,34	38,14 ± 4,43‡
P-TAS (nmol/l)	1,29 ± 0,19	1,32 ± 0,23	1,18 ± 0,26	1,45 ± 0,23

Značajnost razlika:

*p < 0,01 za razlike između A1 i B2, A2 i B2, B1 i B2

†p < 0,05 za razliku između B1 i B2

‡p < 0,05 za razliku između B1 i B2

tivnosti seruma. Vidi se da povišen nivo oksidacije LDL nije uvek praćen značajnim padom antioksidativne aktivnosti enzima i plazme, ali je aktivnost oba enzima veća u kontrolnoj grupi u odnosu na grupu B1 i to naročito aktivnost E-SOD.

U tabeli 6 prikazane su vrednosti CRP i fibrinogena kao pokazatelja inflamacijskog odgovora. Najviše vrednosti CRP imali su bolesnici sa IBS i to značajno više u odnosu na kontrolnu grupu (p < 0,05), pa potom obe grupe obolelih od dijabetesa. Fibrinogen je viši u grupi B1 u odnosu na kontrolnu grupu (p < 0,01), dok su u grupi A1 imali više vrednosti u odnosu na grupu A2 (p < 0,05).

na količinu holesterola u LDL, IDL i VLDL lipoproteinima. Ta prediktivna vrednost je potvrđena i kod obolelih od dijabetesa i kod onih koji nisu oboleli od dijabetesa (20, 21).

Takođe, i visok nivo triglicerida ima nesumljiv uticaj na aterogenezu kod osoba sa normalnim, a pogotovo sa sniženim HDL holesterolom (22). Dobijene vrednosti ovih lipida kod naših bolesnika odgovaraju profilu lipida u metaboličkom sindromu, osim što je kod njega snižen HDL holesterol (23). Međutim, mi takav nalaz nismo potvrdili kod svih naših bolesnika, a profil lipida u grupama naših bolesnika bio je sličan, a prema NCEP, ATP III se može definisati kao rizičan, pro aterogeni (17). Između grupa se razli-

Tabela 6

Oksidovani LDL (oxLDL) i markeri inflamacije

Parametri	Podgrupe ispitivanih bolesnika			
	A1	A2	B1	B2
OxLDL (IU/l)	119,35 ± 45,82	106,82 ± 67,85	114,44 ± 38,47	78,51 ± 14,50*
CRP (mg/l)	7,03 ± 6,38	6,70 ± 5,93	11,58 ± 15,25	4,39 ± 1,25†
Fibrinogen (g/l)	4,61 ± 1,39	3,68 ± 0,73‡	4,21 ± 1,31	2,49 ± 0,72§

Značajnost razlika:

*p < 0,01 za razlike između A1 i B2, A2 i B2, B1 i B2

†p < 0,05 za razliku između B1 i B2

‡p < 0,05 za razliku između A1 i A2

§p < 0,01 za razliku između B1 i B2

Diskusija

Diabetes mellitus tip 2 je u centru pažnje i dijabetologa i kardiologa zbog veoma čestih kardiovaskularnih komplikacija. To potvrđuju i rezultati *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) na osnovu praćenja velikog broja bolesnika (18). Na njihovu pojavu značajano utiče regulacija dijabetesa, ali i često prisutni poremećaji lipida. I prema našim nalazima oboleli od dijabetesa tip 2 imaju više vrednosti lipida u krvi u odnosu na kontrolnu grupu zdravih. Međutim, nema razlike između obolelih od dijabetesa koji imaju i koji nemaju IBS. Profil lipida je sličan onom u grupi B1. Slične rezultate su imale i neke ranije studije (19). Pre-

kuje nivo Lp a, jer je najviši u grupi B1 u odnosu na obe grupe obolelih od dijabetesa i kontrolnu grupu (p < 0,05).

Ovakav nalaz ide u prolog shvatanju da je Lp a nezavisni faktor rizika za IBS (24, 25), premda ima i studija koje to ne potvrđuju (26). Odnos LDL/HDL holesterola (tabela 4) se smatra značajnim za procenu aterogenog rizika i on je u svim našim grupama bolesnika bio veći od 2,90, sem u kontrolnoj grupi zdravih, što ukazuje na povećan rizik (15) u obe grupe dijabetičara, A1 i A2, kao i u grupi B1. Nije nađena značajna razlika za ovaj indeks između grupa, ali je on bio najveći u grupi B1.

Oksidacija LDL-a je veoma važna u procesu aterogeneze. Izmenjeni molekul LDL-a ozleđuje endotel, a uklanja

se preko makrofaga i dovodi do njegovog pretvaranja u pe-naste ćelije. Indukuje se osobađanje citokina inflamacije i ekspresija adhezivnih molekula na površini endotela (27).

U eksperimentima je pokazano da oksidativni stres ima značaja i u razvoju dijabetesnih makrovaskularnih kompli-

bodnih radikala i smanjenu antioksidativnu sposobnost kod obolelih od dijabetesa (35, 36).

Kod obolelih od dijabetesa postoji visoko značajna korelacija (tabela 7) između nivoa oxLDL i ukupnog, LDL i non HDL holesterola, apo B i sa odnosom LDL/HDL hole-

Tabela 7

Značajne linearne korelacije (r) između parametara lipida i oksidovanog LDL (oxLDL)

Korelacije	Podgrupe ispitivanih bolesnika							
	A1 + A2		B1		A1 + B1		B2	
	r	p	r	p	r	p	r	p
OxLDL-U.hol.	0,698	*	0,332	†	0,273		0,592	*
OxLDL-LDL hol.	0,722	*	0,272	*	0,252		0,602	*
OxLDL-Non HDL hol.	0,793	*	0,322	*	0,328		0,539	*
OxLDL-Tg	0,298	*	0,420	†	0,324	*	0,410	†
OxLDL-LDL/HDL hol.	0,686	*	0,011		0,164		0,261	*
OxLDL-Tg/HDL hol.	0,494	*	0,174		0,373	*	0,201	
OxLDL-Apo B 100	0,723	*	0,403	*	0,330	*	0,675	†
OxLDL-Fibrinogen	0,318	*	0,196		0,260		0,123	
OxLDL-CRP	0,099		0,139		0,438	†	0,070	

Značajnost razlika:

* $p < 0,05$

† $p < 0,01$

* $p < 0,001$

kacija (28). Glikacija apoproteina u LDL česticama u dija-betesa utiče na njihovu osetljivost na delovanje slobodnih radikala, ali je i produkcija ovih radikala u dijabetesu povećana (29, 30).

Prema našim rezultatima oksidacija LDL-a je bila na sličnom nivou u obe grupe obolelih od dijabetesa (sa i bez IBS), ali i u grupi koji nisu oboleli ali sa IBS. Ona je, međutim, značajno niža u kontrolnoj grupi zdravih.

Sličan nivo oxLDL-a u grupi A1 i A2, potvrđuje da je dijabetes kao takav udružen sa lipidnom peroksidacijom, i to pre svega kada je glukoregulacija loša, kao što je to bilo kod naših bolesnika. To je u skladu sa studijama koje su pokazale da je produkcija slobodnih radikala u neregulisano dijabetesu povećana (31).

Prema brojnim ispitivanjima (16, 32, 33) pokazano je da su posebno aterogene male, guste LDL čestice, jer se lakše oksidišu. One su izgleda vrlo zastupljene kod obolelih od dijabetesa, a indirektni pokazatelj njihove zastupljenosti je odnos između triglicerida i HDL holesterola (Tg/HDL holesterol) kada je on veći od 1,33 (16). U svim našim grupama bolesnika, sem u kontrolnoj grupi, ovaj odnos je bio znatno iznad pomenute vrednosti. Značajna razlika u ovom odnosu postoji između grupi A1 i A2 ($p < 0,05$), kao i između B1 i kontrolne grupe ($p < 0,05$). Ovo potvrđuje da su u grupi A1 i A2 ali i u grupi B1, više prisutne male, guste LDL, što je pokazala i DAIS studija (34).

Antioksidativna aktivnost enzima E-SOD i E-GPX je veća u kontrolnoj grupi u odnosu na sve grupe bolesnika, a u odnosu na grupu B1 (tabela 5) ona je i značajna ($p < 0,05$). Međutim, između pojedinih grupa bolesnika nije postojala značajna razlika, kao ni u ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti seruma. Ovo je u skladu sa ranijim ispitivanjima koja ukazuju na smanjenu sposobnost uklanjanja slo-

sterola ($p < 0,001$). Korelacija oxLDL i triglicerida takođe postoji ($p < 0,05$). Nije nađena očekivana negativna korelacija između oxLDL i HDL holesterola. Nađena je visoka korelacija između oxLDL i odnosa Tg/HDL holesterol ($p < 0,001$), što potvrđuje da su male, guste LDL posebno sklone oksidaciji (29, 30).

U grupi B1 i B2 postoji korelacije između oxLDL i ukupnog, LDL i non HDL holesterola, kao i nivoa triglicerida, a takođe i sa apo B 100. Ove su korelacije na nižem nivou nego u grupi A1 i A2. Nije nađena korelacija između oxLDL i odnosa Tg/HDL, što ukazuje na ipak manju zastupljenost malih i gustih LDL u ovoj grupi bolesnika. Aterogeni indeks LDL/HDL holesterola je u svim ispitivanim grupama bolesnika bio sličan, ali viši u odnosu na kontrolnu grupu. Visok aterogeni indeks ukupni / HDL holesterol ($> 4,25$) je jasno bio udružen sa dijabetesom i to naročito kod bolesnika i sa IBS. On je visok i u grupi B1. Prema rezultatima ispitivanja Ridkera i sar. (37, 38) visoku prediktivnu vrednost za nastanak budućih kardiovaskularnih događaja ima baš ovaj odnos, naročito ako su povišene i vrednosti CRP. On nije upoređivao ovaj odnos kod obolelih od dijabetesa i onih koji nisu oboleli. Kod naših bolesnika u svim ispitivanim grupama ovaj odnos je bio veći od 5, sem u kontrolnoj grupi. Ovaj odnos je viši i u grupi A1 nego u grupi A2, kao u grupi B1 u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,05$).

U svim ispitivanim grupama CRP je bio iznad referentnih vrednosti (normalno do 5 mg/l), sem u kontrolnoj grupi. Najviši je bio u grupi B1 i to značajno viši u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,05$), što je u skladu sa nekim drugim ispitivanjima (17, 35). Fibrinogen je bio značajno viši u grupi A1 ($p < 0,05$) u odnosu na grupu A2, a naročito u grupi B1 u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,01$). Nije na-

dena korelacija između oxLDL i CRP kod obolelih od dijabetesa, ali postoji korelacija sa fibrinogenom ($p < 0,05$). U grupama B1 i B2 nema korelacije oxLDL ni sa CRP, ni sa fibrinogenom. Inače, postoje neke studije koje su pokazale da nivo fibrinogena može biti od značaja (39, 40) u predikciji budućih kardiovaskularnih događaja. Markeri kao što su CRP, fibrinogen, interleukin 6 i drugi potvrđuju hipotezu Rossa i Libbya o arteriosklerozi kao inflamatornom odgovoru na leziju endotela. Izgleda da u metaboličkom sindromu postoji latentni proces inflamacije (41–43).

Kod bolesnika sa IBS, bez obzira da li imaju dijabetes ili ne, postoji korelacija oxLDL sa trigliceridima, sa apo B 100 i očekivano sa odnosom Tg/HDL ($p < 0,05$), kao i sa CRP ($p < 0,01$). Kod ispitanika bez IBS, bez obzira da li imaju ili ne dijabetes, nema korelacije oxLDL sa fibrinogenom i CRP, a postoji značajna korelacija oxLDL sa ukupnim LDL, non HDL holesterolom, kao i sa apo B 100, te sa odnosom LDL/HDL holesterol i sa trigliceridima. Ni u jednoj od ispitivanih grupa nije nađena negativna korelacija između oksidacije LDL i nivoa HDL.

Zaključak

U zaključku se može istaći da se lipidni profil kod obolelih od dijabetesa ne razlikuje bitno između onih bolesnika koji imaju IBS i onih koji je nemaju, ali se značajno razlikuje u odnosu na kontrolnu grupu zdravih. Takođe, nema značajnije razlike između bolesnika sa IBS bez obzira da li su oboleli od dijabetesa ili nisu, osim u nivou Lp a. Oksidacija LDL kod obolelih od dijabetesa koreliše sa svim frakcijama holesterola i sa odnosom LDL/HDL holesterol, kao i sa odnosom Tg/HDL. Slične korelacije postoje i kod onih koji nisu oboleli od dijabetesa, ali je značajnost na nižem nivou. Korelacija između stepena oksidacije LDL i CRP postoji kod bolesnika sa IBS bez obzira da li su ili nisu oboleli od dijabetesa, ali ne i kod osoba bez IBS. Ovo potvrđuje značajnu povezanost oksidativne transformacije lipida i inflamacije kod bolesnika sa IBS. Smatramo da bi u proceni rizika za razvoj IBS i kardiovaskularnih događaja kod svih trebalo izračunavati ne samo LDL nego i non HDL holesterol, kao i odnose ukupni/HDL holesterol i Tg/HDL holesterol.

L I T E R A T U R A

1. *Reaven GM*. The fourth musketeer – from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia* 1995; 38(1): 3–13.
2. *Kraegen E, Cooney G, Ye JM, Furler S*. Peroxisome proliferator activated receptors, fatty acids and muscle insulin resistance. *J R Soc Med* 2002; 95 Suppl 42: 14–22.
3. *Steals B*. The clinical significance of the PPAR α and γ agonism. *Br J Diabetes Vasc Dis* 2002; 2 Suppl 1: S28–S31.
4. *Castelli WP*. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease – the Framingham Heart Study. *Can J Cardiol* 1988; 4 Suppl A: 5A–10A.
5. *Assmann G, Cullen P, Schulte H*. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation* 2002; 105(3): 310–5.
6. *Taskinen MR*. Diabetic dyslipidemia. *Atheroscler Suppl* 2002; 3(1): 47–51.
7. *Betteridge J*. Dyslipidaemia and diabetes-the clinical realities. *Br J Cardiol* 2004; 11 Suppl 2: S11–5.
8. *Haffner SM*. Clinical relevance of the oxidative stress concept. *Metabolism* 2000; 49(2 Suppl 1): 30–4.
9. *de Winther MP, van Dijk KW, Havekes LM, Hofker MH*. Macrophage scavenger receptor class A: A multifunctional receptor in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(2): 290–7.
10. *Steinberg D*. Lewis A. Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* 1997; 95(4): 1062–71.
11. *Steinberg D*. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272(34): 20963–6.
12. *Goldstein S, Michel C, Bors W, Saran M, Czapski G*. A critical reevaluation of some assay methods for superoxide dismutase activity. *Free Radic Biol Med* 1988; 4(5): 295–303.
13. *Paglia DE, Valentine WN*. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158–69.
14. *Miller NJ, Rice-Evans CA*. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS+ radical cation assay. *Free Radic Res* 1997; 26(3): 195–9.
15. *Lepšanović L, Lepšanović Lj*. diagnosis of hyperlipoproteinemias. In: *Lepšanović L, Lepšanović Lj*, editors. *Clinical lipidology*. Beograd: Savremena administracija; 2000. p. 59–69. (Serbian)
16. *Boizel R, Benhamou PY, Lardy B, Laporte F, Foulon T, Halimi S*. Ratio of triglycerides to HDL cholesterol is an indicator of LDL particle size in patients with type 2 diabetes and normal HDL cholesterol levels. *Diabetes Care* 2000; 23(11): 1679–85.
17. *National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)*. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106(25): 3143–421.

18. Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, et al. 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.
 19. Assmann G, Schulte H. The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *Am Heart J* 1988; 116(6 Pt 2): 1713–24.
 20. Lu W, Resnick HE, Jablonski KA, Jones KL, Jain AK, Howard WJ, et al. Non-HDL cholesterol as a predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetes: the strong heart study. *Diabetes Care* 2003; 26(1): 16–23.
 21. Hsia SH. Non-HDL cholesterol: into the spotlight. *Diabetes Care* 2003; 26(1): 240–2.
 22. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998; 81(4A): 18B–25B.
 23. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24(4): 683–9.
 24. Linden T, Taddei-Peters W, Wilhelmsen L, Herlitz J, Karlsson T, Ullstrom C, et al. Serum lipids, lipoprotein(a) and apo(a) isoforms in patients with established coronary artery disease and their relation to disease and prognosis after coronary by-pass surgery. *Atherosclerosis* 1998; 137(1): 175–86.
 25. Baggio G, Donazzan S, Monti D, Mari D, Martini S, Gabelli C, et al. Lipoprotein(a) and lipoprotein profile in healthy centenarians: a reappraisal of vascular risk factors. *FASEB J* 1998; 12(6): 433–7.
 26. Thillet J, Doucet C, Chapman J, Herbeth B, Cohen D, Faure-Delanef L. Elevated lipoprotein(a) levels and small apo(a) isoforms are compatible with longevity: evidence from a large population of French centenarians. *Atherosclerosis* 1998; 136(2): 389–94.
 27. Witztum JL. Role of oxidised low density lipoprotein in atherogenesis. *Br Heart J* 1993; 69(1 Suppl): S12–8.
 28. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405–12.
 29. Lyons TJ, Jenkins AJ. Glycation, oxidation and lipoxidation in development of the complications of diabetes: a carbonyl stress hypothesis. *Diabetes Rev* 1997; 5: 365–91.
 30. Ido Y, Kilo C, Williamson JR. Cytosolic NADH/NAD⁺, free radicals, and vascular dysfunction in early diabetes mellitus. *Diabetologia* 1997; 40 Suppl 2: S115–7.
 31. Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest* 1997; 27(2): 97–108.
 32. Skoglund-Andersson C, Tang R, Bond MG, de Faire U, Hamsten A, Karpe F. LDL particle size distribution is associated with carotid intima-media thickness in healthy 50-year-old men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(10): 2422–30.
 33. Tan KC, Ai VH, Chow WS, Chau MT, Leong L, Lam KS. Influence of low density lipoprotein (LDL) subfraction profile and LDL oxidation on endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(9): 3212–6.
 34. Vakkilainen J, Steiner G, Ansquer JC, Aubin F, Rattier S, Foucher C, et al. Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation* 2003; 107(13): 1733–7.
 35. Ceriello A, Bortolotti N, Crescentini A, Motz E, Lizzio S, Russo A, et al. Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Eur J Clin Invest* 1998; 28(4): 329–33.
 36. Ceriello A, Bortolotti N, Falletti E, Taboga C, Tonutti L, Crescentini A, et al. Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20(2): 194–7.
 37. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001; 285(19): 2481–5.
 38. Blake GJ, Ridker PM, Kuntz KM. Projected life-expectancy gains with statin therapy for individuals with elevated C-reactive protein levels. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(1): 49–55.
 39. Kop WJ, Gottdiener JS, Tangen CM, Fried LP, McBurnie MA, Walston J, et al. Inflammation and coagulation factors in persons > 65 years of age with symptoms of depression but without evidence of myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2002; 89(4): 419–24.
 40. Walston J, McBurnie MA, Newman A, Tracy RP, Kop WJ, Hirsch CH, et al. Frailty and activation of the inflammation and coagulation systems with and without clinical comorbidities: results from the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med* 2002; 162(20): 2333–41.
 41. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000; 102(1): 42–7.
 42. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 115–26.
 43. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105(9): 1135–43.
- Rad je primljen 18. X 2004. god.

A b s t r a c t

Zamaklar M, Lalić K, Rajković N, Trifunović D, Dragašević M, Popović Lj, Drašković D, Laić N, Jotić A, Vasović O, Lukić Lj, Miličić T, Potpara T. Vojnosanit Pregl 2005; 62(7-8): 529–536.

OXIDIZED LDL AND LIPIDS AS RISK FACTORS FOR ISCHEMIC HEART DISEASE IN TYPE 2 DIABETES

Background. Abnormal lipid profile is an important risk factor in the development of macrovascular atherosclerotic complications in patients with type 2 diabetes mellitus (T2D). Factors that contribute to endothelial cell dysfunction associated with the initiation of atherosclerosis include oxidative stress. The aim of this study was to investigate the relationship between lipid profile and oxidative stress in type 2 diabetics with and without ischemic heart disease (IHD). **Methods.** We studied 80 patients with T2D, 40 with IHD (group A1) and 40 without IHD (group A2). We also studied 51 non-diabetics, 31 with IHD (group B1), and 20 without IHD (group B2 – control group). Lipid profile was estimated by the total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, the level of triglyceride (Tg), lipoproteina a (Lp a), Apo A I, A II, B 100 and E. To evaluate the oxidative status we measured circulating oxidized LDL (ox LDL), erythrocyte antioxidative enzyme activity: superoxide dismutase (E-SOD), glutathione peroxidase (E-GPX), as well as the total antioxidative serum activity (TAS). Inflammatory reaction was estimated by C-reactive protein (CRP) and fibrinogen. **Results.** No significant difference was found in the lipid profile in groups A1, A2 and B1, but the group B2 had the lowest one. Lp a level was significantly higher in group B1 comparing to other groups ($p < 0.05$). There was no significant difference in the level of ox LDL between the groups. In diabetics, ox LDL positively correlated with the total cholesterol, LDL cholesterol, non HDL cholesterol, Apo B 100 and the relations between LDL/HDL and Tg/HDL ($p < 0.001$), as well as with Tg and fibrinogen ($p < 0.05$). In group B1, ox LDL positively correlated with total cholesterol, Tg ($p < 0.01$), LDL, and non HDL cholesterol ($p < 0.05$) and significantly with Apo B 100 ($p < 0.001$). There was no significant difference in the antioxidant enzyme activities between the groups of diabetics (A1 and A2), but fibrinogen was higher in the group with IHD (group A1, $p < 0.05$). Group B1 had lower E-SOD activity than the groups A1 and A2 ($p < 0.05$), but CRP was higher ($p < 0.05$). There were no significant correlations between oxLDL and CRP in groups A1 and A2, but it was statistically significant in the group B1 ($p < 0.05$). **Conclusion.** In this study we demonstrated the increased oxidative stress in diabetics compared to non-diabetics regardless of the presence of IHD. Fibrinogen, but not CRP, was higher in diabetics with IHD, compared to diabetics without IHD. The increased oxidative stress, the reduced antioxidative activity E-SOD, and the higher level of CRP were found in non-diabetics with IHD compared to non-diabetics without IHD.

Key words : diabetes mellitus, type 2; cholesterol; lipoproteins, LDL cholesterol; lipids; oxidative stress; risk factors; coronary disease.