

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Dr Ljiljana J. Popović

**C-REAKTIVNI PROTEIN ODREĐEN
VISOKOSENZITIVNOM METODOM I
LIPIDNI BIOMARKERI U PREDIKCIJI
RAZVOJA I PROGRESIJE PERIFERNE
ARTERIJSKE BOLESTI KOD PACIJENATA
SA TIPOM 2 DIJABETESA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2014. godine

UNIVERSITY OF BELGRADE

MEDICAL FACULTY

Dr Ljiljana J. Popović

**C-REACTIVE PROTEIN DETERMINED BY
HIGHSENSITIVITY METHOD AND LIPID
BIOMARKERS IN PREDICTION OF
DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF
PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE IN
PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2014

Mentor:

Prof. dr Miroslava Zamaklar,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klinički Centar Srbije

Članovi komisije:

Prof. dr. Katarina Lalić, predsednik komisije
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klinički Centar Srbije

Prof dr. Aleksandra Jotić
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klinički Centar Srbije

Prof. dr. Georgina Pudar, profesor u penziji
Kliničko odeljenje za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničko bolnički Centar
'Zvezdara'

*Ovaj doktorski rad posvecujem svima čiji je život
ispunjen traganjem za lepotom, dobrotom i ljubavlju kao suštinom
postojanja*

Zahvaljujem se svojim roditeljima za nesebičnu ljubav i podršku koju mi pružaju.

Zahvaljujem se svom mentoru Prof. dr Miroslavi Zamaklar zato što svojim primerom pokazuje da je porodica uvek na prvom mestu.

Zahvaljujem se svojim prijateljima i kolegama na korisnim i dobronamernim sugestijama i korekcijama, pre svih Prof. dr Katarini Lalić, Prof. dr Senki Pantić, Doc. dr Nataši Marković Nikolić, i statističaru Doc.dr Zoranu Radojičiću.

Zahvaljujem se i svim svojim saradnicima kolegincama, kolegama i medicinskim sestrama Centra za lipidne poremećaje i kardiovaskularne komplikacije u dijabetesu na strpljivosti i na razumevanju.

Sva ispitivanja su obavljena u Centru za lipidne poremećaje i vaskularne komplikacije u dijabetesu Instituta za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije. Hormonske i biohemijske analize su urađene u saradnji sa saradnicima iz RIA i biohemijske laboratorije Instituta i laboratorijama Kliničkog Centra Srbije.

Merenje pedo brahijalnih indeksa obavljeno je u Kabinetu za dijabetesno stopalo Klinike za endokrinologiju.

SKRAĆENICE

AGE- produkti uznapredovale glikozilacije (*advanced glycosylation end products*)

AHA- Američko udruženje za srčane bolesti (*American Heart Association*)

ADA- Američka dijabetološka asocijacija

AIE- akutna ishemija ekstremiteta

apo B- apolipoproteinom B (*apolipoprotein B*)

CDC- Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (*Centers for Disease Control and Prevention*)

CRP- C-reaktivni protein

DAG- diacilglicerol

eNOS- endotelijalna NO sintaza (*endothelial nitric oxide synthase*)

ET-1- endotelin 1 (*endothelin-1*)

GMĆ-glatkih mišićnih ćelija

HbA1c- glikozilirani hemoglobin A1c

HDL- holesterol velike gustine (*high-density lipoprotein*)

HIE- hronična ishemija ekstremiteta

hs-CRP- visokosenzitivni CRP (*high sensitivity CRP*)

ICAM-1- intracelularni adhezioni molekul 1 (*intracellular adhesion molecule*)

IK-intermitentna klaudikacija

IL-8-interleukin-8

IR- insulinska rezistencija

IRS-1- insulin receptorski supstrat-1

ITM- indeks telesne mase

KIE- kritična ishemija ekstremiteta

KB-koronarna bolest

LDL- holesterola male gustine (*low-density lipoprotein*)

Lp (a)- lipoproteina (a) (*lipoprotein (a)*)

MAP- srednji aretrijski pritisak (*mean arterial pressure*)

MAPK- mitogen-aktivirajuća protein kinaza (*mitogen activated protein kinase*)

MCP-1- monocitni privlačeći protein-1 (*monocyte chemo attractant protein-1*)

MS- metabolički sindrom

NF-κB- nuklearni faktor kapa beta (*nuclear factor kappa β*)

NO- azot oksid (*nitric oxide*)

NOS- azot oksid sintaza (*nitric oxide synthase*)

Ox LDL- oksidovane LDL čestice (*oxidized LDL*)

PAB-periferna arterijska bolest

PBI- pedo/brachijalni indeks (*ankle/brachial index*)

PDGF- trombocitni faktor rasta (*platelet-derived growth factor*)

PI3k- fosfatidil inozitol 3 kinazom

PKC- protein kinaze C (*protein kinase C*)

R-B- Ruteford-Baker klasifikacija

ROS-reaktivne kiseonične grupe (*reactive oxygen species*)

SMK- slobodne masne kiseline

SZO- Svetska Zdravstvena Organizacija

T2D-tip 2 dijabetesa

TGF-β- transformišući faktor rasta β (*transforming growth factor-β*)

TNF-α- tumor nekrotizujući faktor α (*tumor necrosis factor alpha*)

UKPDS- Britanska Prospektivna Dijabetesna Studija (*United Kingdom Diabetes Prospective Study*)

VCAM-1- vaskularni ćelijski adhezioni molekul 1 (*vascular cell adhesion molecule*)

VEGF- vaskularni endotelijalni faktor rasta, (*vascular endothelial growth factor*)

VLDL- holesterol vrlo male gustine (*very low density lipoprotein*)

C-REAKTIVNI PROTEIN ODREĐEN VISOKOSENZITIVNOM METODOM I LIPIDNI BIOMARKERI U PREDIKCIJI RAZVOJA I PROGRESIJE PERIFERNE ARTERIJSKE BOLESTI KOD PACIJENATA SA DIJABETESOM TIP 2

Rezime:

Uvod: Prethodne studije su ukazale na visoko senzitivni C - reaktivni protein (hs-CRP) kao faktor rizika za perifernu arterijsku bolest (PAB) u dijabetesu. Stidja je imala za cilj da se proceni mogući prediktivni značaj hs-CRP i lipidnih biomarkera (holesterol, LDL-holesterol, HDL-holesterol, trigliceridi, Apo A1, Apo B i Lp (a)) u razvoju i progresiji PAD u pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (T2D).

Metode: U studiju je uključeno 80 pacijenata sa prethodnom dijagnozom T2D, starosti 45-70 godina, podeljenih u grupu A (T2D pacijenti sa PAB; n=38) i grupu B (T2D pacijenti bez PAB; n=42). Posle 5 godina, pacijenti su podeljeni u podgrupe u zavisnosti od prisustva nove pojave PAB ili progresije prethodno postojeće PAB. Pedo-brahijalni indeks (PBI) je korišćen za dijagnozu PAB a hs-CRP je određen nefelometrijski

Rezultati: Našli smo značajno viši nivo hs-CRP u grupi A u odnosu na grupu B, ali samo na početku studije. U okviru grupe A, pacijenti sa kasnijom progresijom PAD (podgrupa A1) imali su najviši nivo hs-CRP na početku, mada bez značajne razlike u odnosu na podgrupu A2. Suprotno, nivo hs-CRP bio je značajno viši u podgrupi B1 u poredjenju sa subgrupom B2 i na početku i na kraju ispitivanja. Od svih ispitivanih metaboličkih parametara-lipidnih biomarkera, hs-CRP je bio jedini nezavisni prediktor progresije PAD (OR=0.456, 95%CI=0.267-0.7815, p=0.004). Nivo hs-CRP od 2.5 mg/L je utvrđen kao "cut-off" vrednost (specifičnost 75% i senzitivnost 73.3%) sa relativnim rizikom za PAD od 2.93 (95% CI 1.351-6.3629).

Zaključak: Naša studija je pokazala da se hs-CRP može koristiti kao pouzdan prediktor progresije PAB u pacijenata sa T2D.

Ključne reči: Pedo-brahijalni indeks, C - reaktivni protein, lipidni biomarkeri, periferna arterijska bolest, tip 2 dijabetesa

NAUČNA OBLAST: MEDICINA

UŽA NAUČNA OBLAST: INTERNA MEDICINA, ENDOKRINOLOGIJA

C-REACTIVE PROTEIN DETERMINED BY HIGH SENSITIVITY METHOD AND LIPID BIOMARKERS IN PREDICTION OF DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF PERIPHERAL ARTERIAL DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Abstract:

Background: Previous studies indicated high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) as a risk factor for the peripheral arterial disease (PAD) in diabetes. This study aimed to evaluate possible predictive significance of hs-CRP and lipid biomarkers (total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, Apo A1 and Apo B, Lp (a)) for development and progression of PAD in patients with type 2 diabetes (T2D).

Methods: The study included 80 patients previously diagnosed with T2D, aged 45-70 years, divided into *group A* (T2D patients with PAD; n=38) and *group B* (T2D patients without PAD; n=42). After five years, all the patients were reexamined and divided into subgroups depending on de novo development of PAD or progression of previously diagnosed PAD. Ankle-Brachial Index (ABI) measurement was used for PAD diagnosis and hs-CRP was determined by nephelometry.

Results: We found significantly higher hs-CRP level in group A compared to group B, but only at baseline. Among patients in group A, those with later progression of PAD (subgroups A1) had highest level of hs-CRP at baseline, although not significantly different compared to subgroup A2. In contrast, hs-CRP level was significantly higher in subgroup B1 in comparison to subgroup B2 at both first and second exam. Of all investigated metabolic parameters-lipid biomarkers, hs-CRP was the only independent predictor of progression of PAD (OR=0.456, 95%CI=0.267-0.7815, p=0.004). The cut-off point for hs-CRP was 2.5 mg/L (specificity 75% and sensitivity 73.3%) with the relative risk for PAD of 2.93 (95% CI 1.351-6.3629).

Conclusions: Our study implies that hs-CRP can be used as a reliable predictor for progression of PAD in patients with T2D.

Keywords: Ankle-Brachial Index, C - reactive protein, lipid biomarkers, peripheral arterial disease, type 2 diabetes.

SCIENTIFIC FIELD: MEDICINE

MAJOR IN: INTERNAL MEDICINE, ENDOCRINOLOGY

SADRŽAJ

1.Uvod	1
1.1. Dijabetes melitus	1
1.2. Ateroskleroza	1
1.2.1. Dijabetes i ateroskleroza	3
1.2.1.1. Hiperglikemija i ateroskleroza	3
1.2.1.2. Insulinska rezistencija i ateroskleroza.....	6
1.2.1.3. Dislipidemija i ateroskleroza	7
1.2.1.4. C-reaktivni protein kao marker ili faktor rizika za aterosklerozu	8
1.3. Periferna arterijska bolest.....	10
1.3.1. Dijabetes i periferna arterijska bolest	12
1.3.1.1. Epidemiološki podaci za PAB kod dijabetičara.....	12
1.3.1.2. Patofiziologija PAB u dijabetesu	13
1.3.1.3. Dijagnostikovanje PAB kod dijabetičara	15
2.Cilj rada	20
3.Metode	21
3.1. Selekcija ispitanika	21
3.2. Protokol studije	21
3.3. Praćenje ispitanika	22
3.3.1. Dijagnoza insulin nezavisnog dijabetesa	22
3.3.2. Merenje krvnog pritiska i određivanje hipertenzije	22
3.3.3. Dijagnoza periferne arterijske bolesti	23
3.3.4. Ispitivanje glikoregulacije.....	23
3.3.5. Ispitivanje lipidnih parametara	24
3.3.6. Određivanje insulinemije i insulinske senzitivnosti.....	25
3.3.7. Ispitivanje stepena i tipa gojaznosti	25
3.3.8. Ispitivanje C-reaktivnog proteina	26
3.3.9. Ostali pregledi.....	26
3.3.10. Statistički metodi	26
4.Rezultati	28
4.1. Osnovne karakteristike ispitanika Grupe A i Grupe B.....	28

4.1.1. Analiza ispitivanih parametara u Grupi A i Grupi B na početku ispitivanja	29
4.1.2. Analiza ispitivanih parametara u Grupama A i B pri kontrolnom pregledu	30
4.1.3. Korlacija ABI leve i desne noge kod ispitanika Grupe A	39
4.2. Osnovne karakteristike ispitanika u podgrupama A1, A2, B1 i B2	40
4.2.1. Analiza ispitivanih parametara u podgrupama A1, A2, B1 i B2 pri prvom i kontrolnom pregledu.....	41
4.2.2. C-reaktivni protein u podgrupama A1, A2, B1 i B2	52
4.3. Analiza ispitanika u podgrupama prema razvoju i/ili progresiji PAB	54
4.4. Određivanje tačke preseka za C-reaktivni protein	58
4.5. Vrednosti CRP-a u zavisnosti od stepena PAB.....	60
5.Diskusija	62
5.1. C-reaktivni protein i rizik za razvoj i PAB kod nedijabetičara	67
5.2. C-reaktivni protein kod pacijenata sa PAB i veza između CRP i ABI	67
5.3. C-reaktivni protein kod osoba sa dijabetesom	69
5.4. Lipidi i periferna arterijska bolest kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	69
6.Zaključak	72
7.Literatura.....	74
8.Prilog	86
9.Biografija	87
10.Izjave.....	88

1. UVOD

1.1. Dijabetes melitus

Dijabetes melitus se može definisati kao sindrom poremećenog metabolizma praćen hiperglikemijom koja nastaje kao rezultat smanjene insulinske sekrecije i/ili smanjenog biološkog dejstva insulina. Godine 1997. Internacionalno udruženje dijabetologa, bazirano na preporukama Američke dijabetološke asocijacije (ADA) i Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO), definisalo je dva tipa dijabetesa. Tip 1 dijabetesa u najvećem broju slučajeva nastaje kao rezultat autoimune destrukcije β -ćelija. Tip 2 dijabetesa je znatno češći od Tipa 1, i nastaje kao posledica defekta funkcije β -ćelija (genski uslovljena i/ili stečena) u kombinaciji sa insulinskom rezistencijom (genski uslovljena i/ili stečena).

Glavni razlog povećanog morbiditeta i mortaliteta kod pacijenata sa dijabetesom i Tipa 1 i Tipa 2 su hronične mikrovaskularne (retinopatija, neuropatija, nefropatija) i makrovaskularne komplikacije (koronarna bolest, periferna arterijska bolest, cerebrovaskularne bolest). Vaskularne komplikacije nastaju, prvenstveno, kao posledica endotelijalne disfunkcije i procesa inflamacije koji imaju ulogu ne samo u inicijaciji već i u progresiji ateroskleroze (1,2).

1.2. Ateroskleroza

Ateroskleroza je najznačajniji oblik arterioskleroze, i predstavlja bolest velikih i srednjih arterija: aorte, ilijačnih, koronarnih, karotidnih, intracerebralnih, ileofemoralnih i poplitealnih arterija. Ateroskleroza je dinamičan proces sa potencijalom za regresiju i progresiju. Kliničke manifestacije ateroskleroze rezultat su progresivnog rasta i izmena ateromatoznih plakova, koje dovode do luminalne stenoze, tromboze, embolizacije, formiranja aneurizmi ili rupture krvnog suda. Posledice tih procesa su ishemijska bolest srca, moždani udar i periferna arterijska bolest. Ateroskleroza se danas smatra inflamatornom bolešću s obzirom na ključnu ulogu inflamacije u svim stadijumima nastanka i razvoja ateroskleroznog procesa. Ključnu ulogu za nastanak i povećanje ateromatoznih lezija ima hronično ponavljano oštećenje endotela koje pokreće inflamatornu kaskadu. Faktori koji mogu uzrokovati oštećenje endotela su: hipertenzija;

povećane vrednosti holesterola niske gustine (*low density cholesterol*, LDL), lipoproteina (a) (*lipoprotein (a)*, Lp (a)), i drugih aterogenih lipida; komponente duvanskog dima; povećan homocistein; infektivni agensi (herpes virusi i hlamidije). Izmenjene endotelne ćelije u zonama izloženim oštećenju proizvode molekule koji dovode do privlačenja, kretanja i vezivanja monocita i T limfocita, na šta se nadovezuje formiranje aktiviranih T limfocita i makrofaga. Citokini koje proizvode makrofagi stvaraju proinflamatornu sredinu koja olakšava privlačenje novih inflamatornih ćelija. Produkcija trombocitnog faktora rasta (*platelet-derived growth factor*, PDGF), dovodi do akumulacije i proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (GMĆ), dok produkcija superoksidnih anjona i reaktivnih kiseoničnih grupa (*reactive oxygen species*, ROS) dovodi do oksidacije LDL holesterola. Posledično, neregulisano preuzimanje oksidovanih LDL čestica (*oxidized LDL*, Ox LDL) od strane makrofaga i vaskularnih GMĆ putem receptora 'čistača' (*scavenger* receptora) dovodi do formiranja penastih ćelija i rasta ateromatoznog plaka.

Inflamatorna priroda ateroskleroze se manifestuje korelacijom nivoa inflamatornih markera u krvi, a naročito C-reaktivnog proteina (CRP) (3,4,5) sa nastankom i progresijom ateroskleroze (slika 1). Poznato je da je CRP reaktant akutne-faze koji se stvara u jetri u stanjima inflamacije, međutim, nije sasvim jasno da li inflamatorni proces u zidu arterija dovodi do porasta nivoa CRP u sistemske cirkulaciji, ili je povećanje nivoa CRP-a i inflamacija vaskularnog zida odgovor na druge inicijatore ateroskleroznog procesa. Uprkos toj dilemi, danas se zna da je CRP medijator kao i marker inflamacije vaskularnog zida (6,7), i da se stvara u aterosklerozom izmenjenim krvnim sudovima. Ustanovljeno je, takođe, da u odgovoru na stimulaciju inflamatornim citokinima, naročito interleukinom-1 β i interleukinom-6, glatke mišićne ćelije koronarnih arterija ljudi proizvode CRP (7). Sa druge strane, CRP može indukovati vaskularne GMĆ da proizvode vaskularni ćelijski adhezioni molekul 1 (*vascular cell adhesion molecule*, VCAM-1), intracelularni adhezioni molekul 1 (*intracellular adhesion molecule*, ICAM-1) i E-selektin koji imaju značajnu ulogu u privlačenju i adheziji leukocita na vaskularni zid (8). Time se zatvara začarani krug koji vodi progresiji ateroskleroznog procesa.

Porast ateroskleroznog plaka obuhvata kontinuiranu akumulaciju makrofaga i limfocita, proliferaciju GMĆ i akumulaciju lipida u intimi. Ključni faktor u procesu lokalne celularne akumulacije lipida je stvaranje oksidovanih LDL i drugih oblika izmenjenih LDL čestica. Promene u intimi i formiranje ateromatoznog plaka praćeno je progresivnom degeneracijom i

slabljem medije i limfocitnom infiltracijom adventicije. Ponavljano oštećenje endotela je presudno za rast ateromatoznog plaka, a to je dalje praćeno nagomilavanjem trombocita i oslobađanjem trombocitnih faktora rasta kao i proliferacijom vaskularnih GMĆ. Progresivno zadebljanje intime dovodi do ishemije dubljih slojeva plaka kao i intimalno-medijalnog spoja.

Ateroskleroza je u osnovi inflamatorni proces koji nastaje kao posledica hroničnog oštećenja zida krvnog suda multiplim faktorima rizika kao što su starenje, hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje, dijabetes melitus i izloženost nekim infektivnim agensima (herpesvirusi, hlamidije). Inflamatorna kaskada u kojoj delom učestvuje i CRP, obuhvata endotelijalnu disfunkciju, povećan oksidativni stres, produkciju inflamatornih citokina, ekspresiju adhezionih molekula i akumulaciju oksidovanih LDL lipoproteina. Plakovi se formiraju kao rezultat akumulacije makrofaga, T limfocita, GMĆ, kao i neregulisanog preuzimanja lipida u ćelije i deponovanja vezivnog tkiva, (slika 1). Inflamacija, takođe, igra značajnu ulogu u procesu erozije i rupture vulnerabilnog plaka što dovodi do kliničkih komplikacija ateroskleroze (9).

1.2.1. Dijabetes i ateroskleroza

Dijabetes značajno povećava rizik za koronarnu, cerebrovaskularnu i perifernu vaskularnu bolest. Metaboličke abnormalnosti u dijabetesu kao što su hronična hiperglikemija, insulinska rezistencija i dislipidemija, izazivaju molekularne mehanizme koji direktno i/ili indirektno doprinose nastanku endotelijalne disfunkcije, i na taj način, pokreću, ali i ubrzavaju proces ateroskleroze.

1.2.1.1. Hiperglikemija i ateroskleroza

Aktuelne su četiri teorije koje pokušavaju da objasne kako hronična hiperglikemija dovodi do nastanka dijabetesnih komplikacija.

Prva teorija, objašnjava da povećanje nivoa glikoze, vodi neenzimskoj glikozilaciji unutarćeljskih i vanćeljskih proteina i nastanku produkata uznapredovale glikozilacije (*advanced glycosylation end products*, AGE). Ovi AGE produkti se vezuju za druge proteine (na pr. kolagen i ekstracelularni matriksni proteini), i dovode do endotelijalne disfunkcije i ubrzanja ateroskleroze.

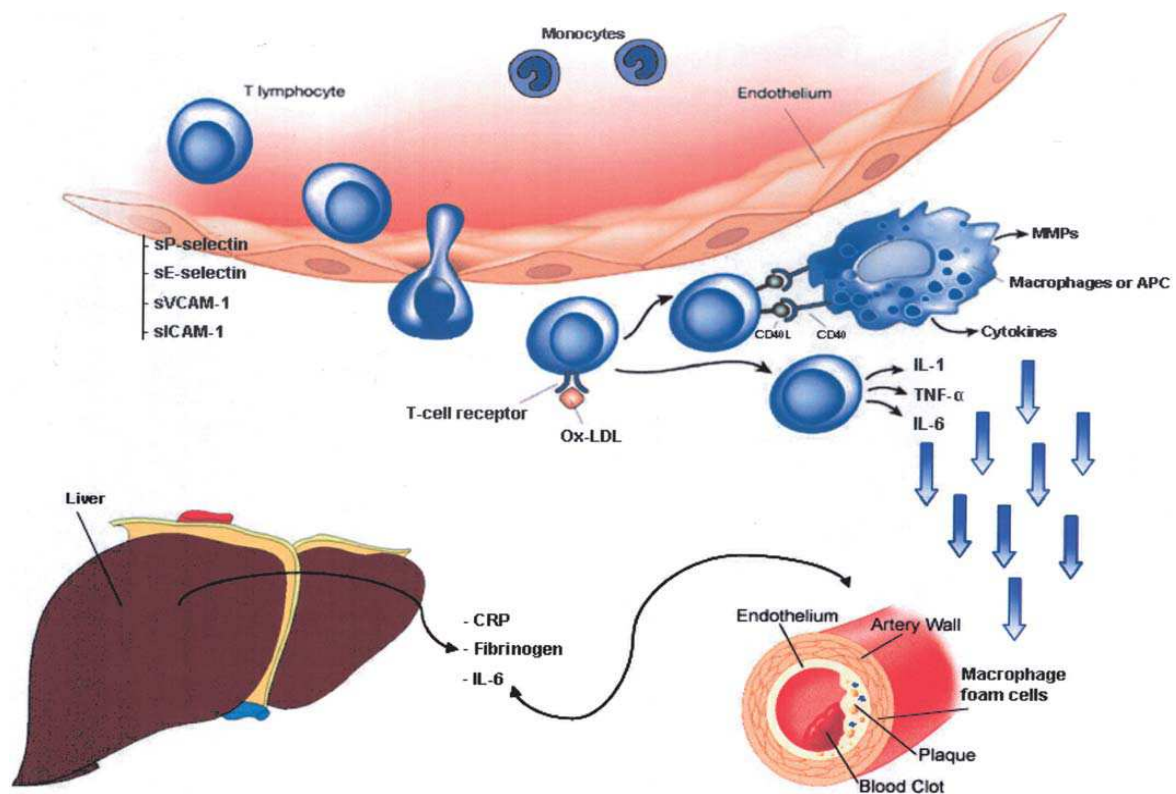
Druga teorija, je bazirana na nalazima da hiperglikemija pod dejstvom enzima aldozo reduktaze, u sorbitolskom putu, dovodi do povećanja nivoa sorbitola. Povećana produkcija i nivo sorbitola menjaju redoks potencijal, ćelijsku osmolarnost, a dovode i do stvaranja ROS i poremećaja endotelijalne funkcije.

Treća teorija, navodi da hiperglikemija uzrokuje povećano formiranje diacilglicerola (DAG) i aktivaciju protein kinaze C (*protein kinase C*, PKC). Posledice aktivacije PKC su brojne: a) direktna i indirektna, putem indukcije vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) i poremećaja vaskularne permeabilnosti, b) poremećaja protoka krvi (putem smanjenja aktivnosti azot oksid sintaze (*nitric oxide synthase*, NOS) i povećane sinteze endotelina 1 (*endothelin-1*, ET-1), c) zadebljanja bazalne membrane (putem povećane sinteze kolagena Tipa IV i fibronektina dejstvom transformišućeg faktora rasta β (*transforming growth factor- β* , TGF- β), d) poremećaja fibrinolize usled povećane ekspresije aktivatora plazminogen inhibitora-1 (*plasminogen activator inhibitor-1*, PAI-1) i e) povećanja oksidativnog stresa regulacijom nekolicine NADPH oksidaza. Sve navedeno stvara preduslov za nastanak poremećaja endotelijalne funkcije.

Četvrta teorija, navodi da hronična hiperglikemija povećava produkciju fruktozo 6-fosfata (u heksozaminskom putu), koji služi kao supstrat za glikozilaciju i produkciju proteoglikana. Heksozaminski put može dovesti do izmene proteina kao što su endotelijalna NO-sintaza (*endothelial nitric oxide synthase*, eNOS) ili do izmene genske ekspresije TGF- β i/ili PAI-1, a to favorizuje hiperkoagulabilnost i trombozu.

Jedinstven mehanizam koji može dovesti do aktivacije sva četiri puta navedena u predhodnim teorijama je najverovatnije povećana produkcija ROS ili superoksida u mitohondrijama pod uticajem hronične hiperglikemije (1,2).

Hronična hiperglikemija služi kao inicijalni okidač nastanka dijabetesnih komplikacija, ali, još uvek nije jasno da li isti patofiziološki proces igra ulogu u nastanku svih komplikacija, i da li su patofiziološki procesi, odgovorni za nastanak komplikacija u različitim tkivima i organima, isti.



Slika 1. Inflamatorni proces u perifernim arterijama. Slika shematski prikazuje migraciju leukocita kroz endotelijum. U intimi monociti zadobijaju karakteristike makrofaga, T ćelije aktivirane antigenima kao što je Ox-LDL, proizvode citokine koji mogu uticati na ponašanje drugih ćelija kao što su makrofagi. Vezivanje CD40 za svoj ligand na makrofagima, može indukovati ekspresiju matriksnih metaloproteinaza (MMPs) i proinflamatornih citokina. Ukrštena komunikacija medju ovim medijatorima, uključujući i one proizvodjene u jetri, može doprineti inflamatornim procesima u PAB. Modifikovano prema Signorelli S.S, et al. Proinflammatory circulating molecules in peripheral arterial disease. *Int J Mol Med* 2007; 20: 279-286.

1.2.1.2. Insulinska rezistencija i ateroskleroza

Insulinska rezistencija (IR) se opisuje kao poremećeni biološki odgovor na insulin. Insulinska rezistencija može nastati kao posledica prereceptorskog, receptorskog ili postreceptorskog defekta. Pod normalnim okolnostima, nakon vezivanja insulina za receptore dolazi do autofosforilacije beta subjedinice na šta se nadovezuje fosforilacija nekolicine unutarćelijskih proteina (uključujući i insulin receptorski supstrat-1, IRS-1) koji su snažno povezani sa enzimom fosfatidil inozitol 3 kinazom (PI3k). Vezivanje insulina za receptor dovodi do značajnog povećanja aktivnosti PI3k, što je od ključnog značaja za unutarćelijsko prenošenje signala kako u kardiovaskularnim, tako i u drugim insulin-senzitivnim tkivima. Povećanje aktivnosti enzima PI3k dovodi do porasta nivoa azot oksida (*nitric oxide*, NO), aktivnosti natrijumske pumpe, kalijumovih kanala i senzitivnosti miofilamenata na kalcijum, odnosno vazodilatacije, a rezistencija na dejstva insulina u vaskularnim i drugim insulin-senzitivnim tkivima se može povezati sa smanjenom aktivnošću PI3k (10).

Na koji način su metabolička i endotelijalna insulinska rezistencija povezane nije još uvek u potpunosti jasno. Smatra se da je endotelijalna disfunkcija direktno povezana sa endotelijalnom insulinskom rezistencijom (primarnom ili sekundarnom). Endotelijalna disfunkcija nastaje kao rezultat uticaja hiperglikemije i drugih riziko faktora koji prate IR. Ustanovljeno je, na primer, da tumor nekrotizujući faktor α (*tumor necrosis factor alpha*, TNF- α) može uzrokovati metaboličku i endotelijalnu insulinsku rezistenciju inhibicijom insulinom-stimulisane autofosforilacije receptora i fosforilacije IRS-1 i tako blokirati ćelijsko prenošenje signala i efekte delovanja insulina (10).

Vaskularni efekti insulina, opšte uzev, mogu biti vazodilatatorni i vazokonstriktorni. Glavni medijator vazodilatatornih efekata insulina je NO, dok je glavni medijator vazokonstriktornih efekata ET-1 (11). Insulin, stimuliše produkciju NO u endotelijalnim ćelijama aktivacijom intracelularnih enzima PI3 kinaze i AKT kinaze, koji fosforilišu i aktiviraju eNOS. Poremećena endotelijum-zavisna vazodilatacija u insulin-rezistentnim stanjima se može objasniti izmenama unutarćelijskih signalnih puteva koji smanjuju produkciju NO. Sa druge strane prenos insulinskih signala putem mitogen-aktivirajuće protein kinaze (*mitogen activated protein kinase*, MAPK) u IR je intaktan. Aktivacija MAPK je povezana sa povećanom produkcijom ET-1 i povećanim nivoima inflamacije i tromboze (2). Neravnoteža između produkcije i oslobađanja NO i ET-1

može imati ključnu ulogu u razvoju hipertenzije i ateroskleroze u insulin-rezistentnim stanjima. Nedovoljno je ispitano, kakvi su efekti insulinskih prekursora (proinsulina, proinsulinskih razgradnih produkata i C-peptida u nastanku endotelijalne disfunkcije i ateroskleroze. Tako je, na primer, zanimljiv podatak da insulinski prekursori povećavaju nivoe PAI-1, dok je za C-peptid uočeno da može uticati na vaskularni tonus i permeabilnost (1).

1.2.1.3. Dislipidemija i ateroskleroza

Dislipidemija u tipu 2 dijabetesa (T2D) podrazumeva postojanje povećanja triglicerida, smanjenja holesterola velike gustine (*high-density lipoprotein*, HDL) i povećanje holesterola male gustine LDL kao i povećanu produkciju lipoproteina bogatih trigliceridima (12,13). U skladu sa tim, nađeno je da povećan nivo trigliceridima bogatih lipoproteina snižava nivo HDL promovisanjem prenošenja holesterola (dejtvom holesterol estar transfer proteina) sa HDL na holesterol vrlo male gustine (*very low density lipoprotein*, VLDL) (13). U T2D je povećan i nivo malih gustih LDL čestica koje su proaterogene, lako se vezuju za intimalne proteoglikane, i lakše podležu oksidativnoj modifikaciji čime je omogućeno njihovo preuzimanje u monocite i vaskularne glatke mišićne ćelije u zidu arterija (14,15). U metaboličkom sindromu (MS), pa i kod pacijenata sa T2D može se naći i povećanje Lp (a) (16). Lipoprotein (a) je identifikovan kao nezavisni faktor rizika za koronarnu bolest (KB) (16). Mehanizmi kojima Lp (a) može učestvovati u procesu ateroskleroze su: tendencija ka stvaranju agregata i precipitata; veći afinitet vezivanja za glikozaminoglikane i druge strukture u vaskularnom zidu; strukturna homologija sa plazminogenom i regulacija sinteze PAI-1; indukcija proliferacije GMC. Pored toga, ustanovljeno je da su oksidovane Lp (a) mnogostruko aterogenije od samih Ox-LDL.

Povećanje slobodnih masnih kiselina (SMK) u dijabetesu Tip 2 predstavlja, takođe, svojevrsni marker insulinske rezistencije, značajan za nastanak endotelne disfunkcije i procesa ateroskleroze prvenstveno putem povećane produkcije reaktivne kiseonične grupe (ROS) i aktivacije PKC (9). Pod dejstvom SMK aktivira se PKC, smanjuje aktivnost PI3k, a to dovodi do smanjenja aktivnosti eNOS, smanjenja nivoa NO i endotelne disfunkcije.

Oksidativna modifikacija LDL-holesterola u procesu lipidne peroksidacije, preduslov je za preuzimanje i akumulaciju holesterola u makrofagima. Lipidna peroksidacija doprinosi destrukciji lipidnih komponenti plazma membrane i formiranju lipidnih peroksida. Lipidni

peroksidi su direktno toksični za ćelijske membrane, a vezujući se sa apolipoproteinom B (*apolipoprotein B*, apo B) i fosfolipidima sprečavaju vezivanje LDL čestica za LDL receptore. Oksidovane LDL čestice su tako izmenjene da gube mogućnost vezivanja za svoje native receptore. Lizo-fosfatidilholin u sastavu Ox-LDL snažno privlači makrofage i dovodi do ushodne regulacije adhezionih molekula kao što je na primer ICAM-1 prisutan u endotelu, i povećava vezivanje monocita za endotelne ćelije (1). Makrofagi koji preuzimaju Ox-LDL formiraju penaste ćelije. Penaste ćelije luče proinflamatorne citokine koji amplifikuju lokalni inflamatorni odgovor i povećavaju stvaranje ROS. Reaktivne kiseonične grupe učestvuju u procesu lipidne peroksidacije, i tako se zatvara začarani krug koji dovodi do progresije procesa ateroskleroze (10).

1.2.1.4. C-reaktivni protein kao marker ili kao faktor rizika za aterosklerozu

C reaktivni protein je pentamer od 115 *kDa* (slika 3) koji se stvara prvenstveno u hepatocitima kao rezultat nespecifičnog akutnog odgovora na oštećenje tkiva, infekciju, inflamaciju i malignu neoplaziju (17). Vezuje se sa visokim afinitetom za fosfolipide na ćelijama u apoptozi, oštećene ćelijske membrane, oksidovane lipoproteine i ćelije napadnute mikroorganizmima. Takođe, nađeno je da se CRP može vezivati za lipoproteine i oštećene ćelije u ateroskleroznom plaku indukujući aktivaciju komplementa, promovišući inflamaciju a time i progresiju bolesti (17).

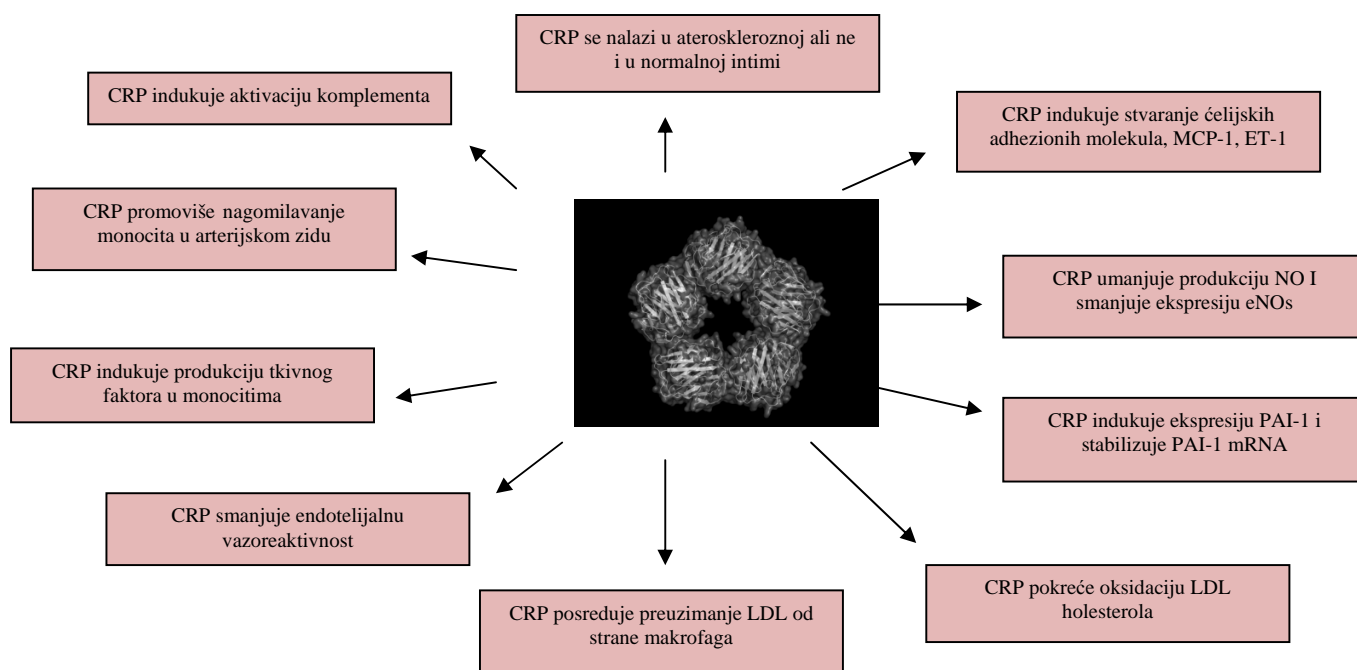
C reaktivni protein je pre svega marker postojanja metaboličkih poremećaja koji su povezani sa povećanim rizikom za nastanak kardiovaskularnih bolesti (slika 2). Poznata je veza povećanog nivoa CRP-a sa povećanim indeksom telesne mase (ITM), hipertenzijom, hipertrigliceridemijom i niskim HDL holesterolom. Navedeno je verovatno u vezi sa povećanim oslobađanjem citokina iz masnog tkiva.

Poslednjih godina se sve više razmatra mogućnost korišćenja CRP-a kao markera kardiovaskularnih bolesti. Ovaj koncept je poizašao iz saznanja da je ateroskleroza u osnovi bolest koju odlikuje hronična arterijska inflamacija. Podaci, prvenstveno *in vitro* studija, nameću pomisao na mogućnost da i sam CRP doprinosi nastanku i progresiji ateroskleroze, kao i da se može smatrati ne samo markerom već i pravim faktorom rizika (17). Inflamatorni proces u arterijskom tkivu koje je pogođeno procesom ateroskleroze rezultira oslobađanjem citokina u

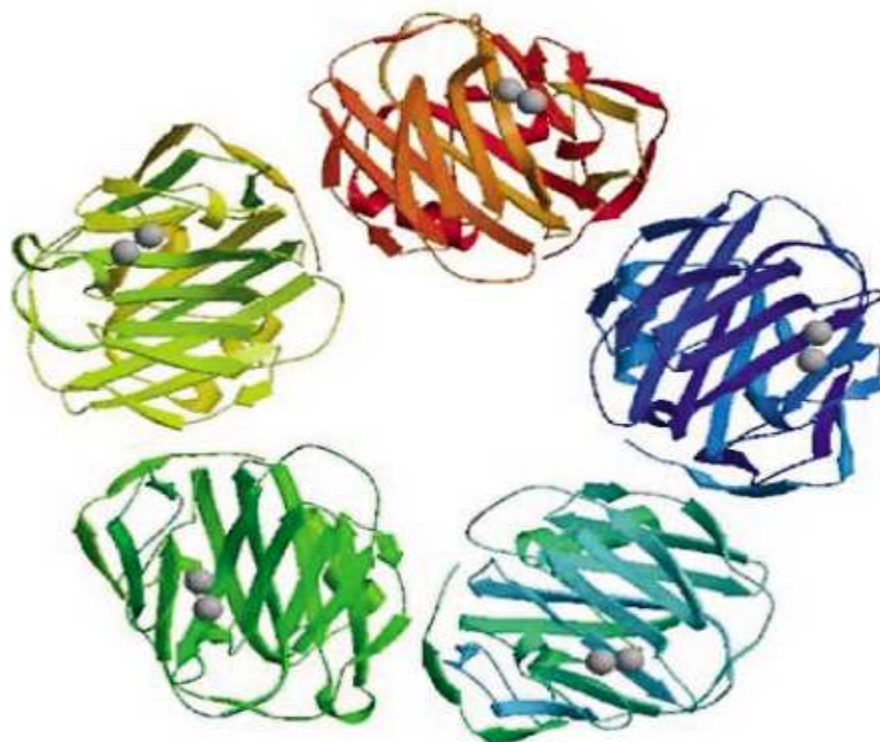
cirkulaciju, a to započinje proces stvaranja CRP-a u jetri. Nivo CRP-a bi na taj način mogao odražavati težinu ateroskleroze, kao i rizik za razvoj budućih kardiovaskularnih događaja.

Bilo bi od ogromnog značaja da se u potpunosti razjasni da li CRP ima direktnu funkcionalnu ulogu u procesu ateroskleroze čime bi se mogao okarakterisati i kao faktora rizika. Rezultati dosadasnjih studija radjenih na životinjama i u *in vitro* uslovima su u suprotnosti. Tako su Paul i saradnici utvrdili povezanost CRP-a sa progresijom aortne ateroskleroze, dok su studije na miševima objavljene 2005. odbacile mogućnost da je CRP sam po sebi dovoljan da izazove inflamatorni odgovor i razvoj ateroskleroze (17).

Da li je CRP samo marker ili je i faktor rizika za ateroskleroznu bolest u ljudi pokazaće nove studije čime će ova dilema u bliskoj budućnosti biti razrešena.



Slika 3. Mehanizmi kojima CRP učestvuje u razvoju i progresiji aterotromboze. Modifikovano prema Ridker P.M. Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: Rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation* 2003; 108: 2292-7.



Slika 2. Molekularna struktura i morfologija ljudskog CRP-a. Trakasti dijagram kristalne strukture, koji pokazuje lecitinski omot, dva atoma kalcijuma (sfere) na mestu vezivanja liganda svakog protomera. Modifikovano prema Pepys M.B and Hirschfield G.M. C-reactive protein a critical update. *J Clin Invest* 2003;111: 1805-1812.

1.3. Periferna arterijska bolest

Periferna arterijska bolest (PAB) se definiše kao nekoronarni aterosklerozni sindrom koji najčešće pogađa karotidne, renalne i arterije donjih ekstremiteta, a nešto ređe arterije gornjih ekstremiteta, aortu i velike aortne arterijske ogranke.

Najčešći uzrok periferne arterijske bolesti je ateroskleroza koja može zahvatiti multipla anatomski mesta počev od distalnih delova aorte, ilijačne i femoralne arterije kao i infrapoplitalnih arterija.

Klinički, PAB donjih ekstremiteta, se može prezentovati raznoliko: asimptomatski, atipičnim bolovima u nogama, klasičnim klaudikacionim bolovima, hroničnom ishemijom ekstremiteta (HIE) ili akutnom ishemijom ekstremiteta (AIE).

Asimptomatska PAB se po pravilu dijagnostikuje prilikom pregleda i palpacije oslabljenih ili odsutnih arterijskih pulsacija donjih ekstremiteta, kao i nalazom sniženih vrednosti pedo/brachijalni indeks (*ankle/brachial index*, ABI).

Intermitentna klaudikacija (IK) se definiše kao bol ili osećaj nelagodnosti u nogama koji se javlja pri kretanju, odnosno fizičkoj aktivnosti, a prestaje već posle nekoliko minuta mirovanja. Glavni razlog nastanka IK je neadekvatna tkivna perfuzija usled suženja lumena arterija. Smanjenje dijametra arterijskog lumena dovodi do razvoja gradijenta pritiska na nivou suženja. Sa porastom suženja, protok krvi kroz arteriju progresivno opada, pa distalni perfuzioni pritisak više nije dovoljan da obezbedi rastuće metaboličke potrebe aktivnih tkiva (mišića) zbog čega se javlja IK. Klaudikacioni simptomi su direktna posledica delovanja metabolita anaerobnog metabolizma na senzorne receptore. Kada je suženje lumena relativno malo, klaudikacione tegobe se javljaju samo pri kretanju/fizičkoj aktivnosti, ali kada je lumen sužen više od 50% tegobe i bolovi u nogama se mogu javiti i pri mirovanju. Kada se proces (na pr. ateroskleroza) koji dovodi do suženja arterijskog lumena razvija postepeno, kompenzatorno, usled neadekvatne tkivne perfuzije dolazi do razvoja kolateralnih krvnih sudova, a simptomi i znaci odražavaju postojanje HIE. U slučaju da dođe do naglog suženja ili potpunog zatvaranja lumena arterije nastaje AIE.

Postoji više klasifikacija IK i ishemije ekstremiteta, ali je najčešće primenjivana Ruteford-Baker (R-B) klasifikacija (18). Prema ovoj klasifikaciji stadijum R-B I, obuhvata pacijente bez simptoma ili pacijente kod kojih se simptomi javljaju pri većoj fizičkoj aktivnosti. U stadijum R-B II, se svrstavaju pacijenti kod kojih se simptomi javljaju pri umerenoj fizičkoj aktivnosti, a u stadijum R-B III, pacijenti kod kojih se simptomi javljaju već pri najblažoj aktivnosti. Pacijenti kod kojih se klaudikacioni simptomi javljaju i u miru svrstavaju se u stadijum R-B IV, a pacijenti sa ishemijskim ulkusima na stopalima u stadijum R-B V. Poslednji VI-ti stadijum R-B klasifikacije, obuhvata pacijente kod kojih su ishemijski ulkusi praćeni tkivnom nekrozom.

Hronična ishemija ekstremiteta, označava bol u donjim ekstremitetima koji se javlja u miru ili postojanje ulkusa sa ili bez tkivne nekroze (R-B stadijumi IV-VI). S obzirom da HIE vrlo često

progredira i dovodi do neminovnih amputacija, od presudnog značaja je pravovremena terapija, pre svega primenom hirurških revaskularizacionih procedura.

Akutna ishemija ekstremiteta, nastaje u okviru nekoliko sati. Odlikuje se pojavom iznenadnog i jakog bola u miru, nepalpabilnih aretrijskih pulsacija. Po pravilu AIE nastaje usled nagle okluzije arterijskog lumena, prilikom rupture ateroskleroznog plaka i *in situ* tromboze, ili usled začepljenja lumena krvnim ugruškom poreklom iz proksimalnih vaskularnih segmenata.

Osobe sa PAB po pravilu imaju povećani ukupni kardiovaskularni rizik, kao i povećani rizik od fatalnih i nefatalnih ishemičnih kardiovaskularnih događaja (19).

1.3.1. Dijabetes i periferna arterijska bolest

Epidemiološke studije su potvrdile povezanost između dijabetesa i povećane prevalencije PAB (20,21). Ustanovljeno je, takođe, da pacijenti sa dijabetesom i PAB imaju znatno veći rizik za amputacije donjih ekstremiteta u poređenju sa pacijentima bez dijabetesa, kao i znatno češću pojavu kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih događaja (20,21). Sagledavajući značaj i povezanost dijabetesa i PAB, ADA je 2003 godine donela konsenzus i ustanovila vodič za dijagnostikovanje i terapiju PAB kod pacijenata sa dijabetesom, prvenstveno u cilju smanjenja ukupnog morbiditeta, invaliditeta i mortaliteta u ovoj rizičnoj populaciji (22).

1.3.1.1. Epidemiološki podaci o perifernoj arterijskoj bolesti kod dijabetičara

Periferna arterijska bolest je u najvećem broju slučajeva manifestacija aterosklerozne okluzivne bolesti arterija donjih ekstremiteta, ali i svojevrsni marker ateroskleroznih promena u drugim delovima vaskularnog sistema.

Podaci Framingamske Studije (*Framingham Heart Study*) otkrivaju da približno 20 % pacijenata sa simptomatskom PAB ima dijabetes, kao i da je prava prevalenca PAB kod dijabetičara potcenjena s obzirom da polovina pacijenata nema simptome, trećina pacijenata ima atipične simptome, a preostali broj ima teške oblike PAB.

Ustanovljeno je, takođe, da su najznačajniji faktori rizika za PAB dijabetes i pušenje. Ostali pozanti faktori rizika su starije životno doba, hipertenzija i hiperlipidemija. Pored navedenih kao

potencijalni faktori rizika za PAB se navode i povećani nivoi CRP-a, fibrinogena, homocisteina, apolipoproteina B, lipoproteina (a) i viskoznosti plazme.

Kod dijabetičara rizik za razvoj PAB raste sa starijim životnim dobom, dužinom trajanja dijabetesa i postojanjem periferne neuropatije (20,21). Dužina trajanja i regulisanost dijabetesa koreliraju sa incidencom i rasprostranjenošću PAB. Povezanost između dužine trajanja dijabetesa i rizika za razvoj PAB je naročito snažna kod muškaraca pušača sa hipertenzijom (20). Podaci Britanske Prospektivne Dijabetesne Studije (*United Kingdom Diabetes Prospective Study*, UKPDS), takođe, pokazuju veću prevalencu PAB kod pacijenata sa dužim trajanjem dijabetesa (18,19), kao i da je lošija metabolička kontrola povezana sa znatno većim rizikom za PAB (18).

Dijabetes je snažno povezan pre svega sa femoro-poplitealnom i tibijalnom (ispod kolena) lokalizacijom PAB, dok su ostali faktori rizika (na pr. pušenje i hipertenzija) povezani uglavnom sa proksimalnom lokalizacijom PAB na aorto-ilio-femoralnim arterijama (iznad kolena).

Procenjuje se, takođe, da približno 27% pacijenata sa PAB ima progresiju simptoma tokom petogodišnjeg intervala, približno 4% doživi amputacije ekstremiteta, dok 20% doživi infarkt miokarda ili šlog. Dijabetičari sa kritičnom ishemijom ekstremiteta (KIE) imaju znatno lošiju prognozu u smislu češćih amputacija i većeg mortaliteta u poređenju sa pacijentima bez dijabetesa (22).

1.3.1.2. Patofiziologija periferne arterijske bolesti u dijabetesu

Patofiziologija PAB kod dijabetičara i pacijenata bez dijabetesa je vrlo slična, ali su aterosklerozne promene kod dijabetičara uglavnom lokalizovane na distalnim arterijama donjih ekstremiteta i znatno su difuznije (20). Izmenjeno metaboličko stanje u dijabetesu dovodi do izmena strukture i funkcije arterija, povećanja vaskularne inflamacije, izmena multiplih ćelijskih tipova i hemostatskih faktora.

Inflamacija se smatra faktorom rizika, ali i pokazateljem faktora rizika. Predhodnim radovima je ustanovljeno da su povećani nivoi inflamatornog citokina CRP-a povezani sa razvojem PAB. C- reaktivni protein je označen kao marker za PAB, ali i kao faktor koji verovatno učestvuje u nastanku i napredovanju same bolesti. Ustanovljeno je, na primer, da CRP podstiče ekspresiju tkivnog faktora, inhibira eNOS, remeti regulaciju vaskularnog tonusa i povećava produkciju PAI-1 (20). Dokumentovani proinflamatorni i proaterogeni efekti CRP-a u endotelijalnim ćelijama su

sledeći: smanjenje nivoa NO i prostaciklina, povećanje nivoa ET-1, ćelijskih adhezionih molekula kao što su monocitni privlačači protein 1 (*monocyte chemo attractant protein-1*, MCP-1), interleukin-8 (IL-8) i PAI-1. U monocitima/makrofagima CRP indukuje sekreciju tkivnog faktora, oslobađanje ROS i proinflammatoryh citokina, promoviše hemotaksu i adheziju monocita, a povećava i preuzimanje OxLDL. Pokazano je, takođe, da CRP u vaskularnim GMĆ povećava aktivnost nuklearnog faktora kapa beta (*nuclear factor kappa β* , NF- κ B) i MAPK, a što je još značajnije izaziva ushodnu regulaciju Ang II tip 1 receptora što dovodi do povećanja ROS i proliferacije GMĆ. Sve navedeno upućuje na zaključak da se CRP zaista može posmatrati ne samo kao marker kardiovaskularnog rizika već i kao svojevrsni učesnik u samom procesu aterogeneze (1).

Najveći broj pacijenata sa dijabetesom i PAB ima generalizovanu endotelnu disfunkciju. Poznato je da se u endotelnim ćelijama zdravih krvnih sudova sintetiše NO, snažan vazodilatator koji inhibira aktivaciju trombocita i migraciju GMĆ. Hiperglikemija, povećan nivo SMK i insulinska rezistencija u dijabetesu smanjuju bioraspoloživost NO i remete vazodilataciju (20). Pored smanjenja koncentracije NO, u dijabetesu je povećana produkcija vazokonstriktora (na pr. ET-1) i RKS koji promovišu endotelnu disfunkciju i stvaranje ateroskleroznih lezija. Efekti endotelne disfunkcije i aktivacije receptora za AGE dovode do lokalnog povećanja proinflammatoryh faktora, a to uz smanjenje nivoa NO dovodi do migracije i transformacije leukocita u penaste ćelije što predstavlja prvu fazu u stvaranju ateroma. Pored navedenog u dijabetesu postoji poremećaj funkcije vaskularnih GMĆ i povećana sklonost ka koagulaciji uz poremećenu fibrinolizu, pa se tako stvara preduslov da ruptura ateroskleroznog plaka dovede do formiranja tromba i opstrukcije vaskularnog lumena.

Dijabetes stimuliše i proaterogenu aktivnost u GMĆ: redukovanjem nivoa PI3k, povećanjem lokalnog oksidativnog stresa, ushodnom regulacijom PKC, receptora za AGE i NF- κ B. Sve navedene promene deluju stimulatивно na proces aterogeneze, pre svega povećanjem apoptoze GMĆ i smanjenjem sinteze komponenti koje stabilizuju plak.

Slično kao i u endotelijalnim ćelijama, i u trombocitima, pri hiperglikemiji, dolazi do povećanja oksidativnog stresa i povećane sklonosti ka agregaciji. Kod pacijenata sa dijabetesom trombociti imaju i izraženu ekspresiju glikoproteina I b i IIa/IIIa receptora što, takođe, povećava sklonost trombocita ka adheziji i agregaciji.

Pored svega navedenog u dijabetesu je usled smanjenja koncentracije antitrombina, proteina C, poremećene fibrinolitičke funkcije, povećane produkcije PAI-1 i tkivnog faktora, povećanih nivoa faktora VIII i fibrinogena (i njegovih degradacionih produkata), kao i usled povećane viskoznosti krvi stvoreno i svojevrsno prokoagulantno stanje koje, takođe, favorizuje proces ubrzane i difuzne ateroskleroze karakteristične za PAB kod pacijenata sa dijabetesom.

1.3.1.3. Dijagnostikovanje periferne arterijske bolesti kod osoba sa dijabetesom

Glavni cilj dijagnostikovanja PAB kod pacijenata sa dijabetesom je otpočinjanje terapije za smanjenje rizika aterotrombotičnih događaja, poboljšanje kvaliteta života i smanjenje invaliditeta.

Detaljna anamneza i klinički pregled su od primarnog značaja u ispitivanju kao i podatak o pojavi, i dužini trajanja tegoba.

Određivanje kliničkih stadijuma PAB se zasniva na korišćenju Fontaine ili Rutheford klasifikacionih sistema (18,23).

Najčešći simptom kojim se PAB prezentuje je intermitentna klaudikacija koja se definiše kao bol u mišićima nogu koji se javlja pri hodanju ili fizičkoj aktivnosti i prestaje sa mirovanjem. Lokalizacija klaudikacionih bolova može pomoći u proceni mesta arterijske okluzije. Tako je klaudikacija u listovima obično rezultat okluzije superficijalne femoralne arterije, klaudikacija u butinama, gluteusima i preponama je povezana sa okluzijom aorte i ilijačnih arterija (24). Pored lokalizacije, važno je utvrditi i dužinu trajanja bolova, šta ih pogoršava kao i da li je primenjena konzervativna terapija dovela do umanjanja tegoba. Anamnestički podaci bi trebalo da obuhvate i distancu koju pacijent može preći pre no što se bolovi pojave kao i vremenski interval potreban za prestanak bolova. Neophodno je, takođe, utvrditi da li postoji neki poseban položaj koji pacijent mora zauzeti da bi došlo do prestanka bolova. Rose/SZO upitnik je dizajniran tako da otkrije simptomatsku PAB, a sastoji se 8 pitanja koja bi trebalo da ukažu na pacijente sa intermitentnom klaudikacijom (25). Procenjena senzitivnost upitnika je od 60% do 68%, dok je procenjena specifičnost od 90% do 100%. Edimburška modifikacija Rose/SZO upitnika, sačinjena je od 6 pitanja sa dijagramom za lokalizovanje bolova. Senzitivnost ovog upitnika je 91.3% a specifičnost 99.3% (26).

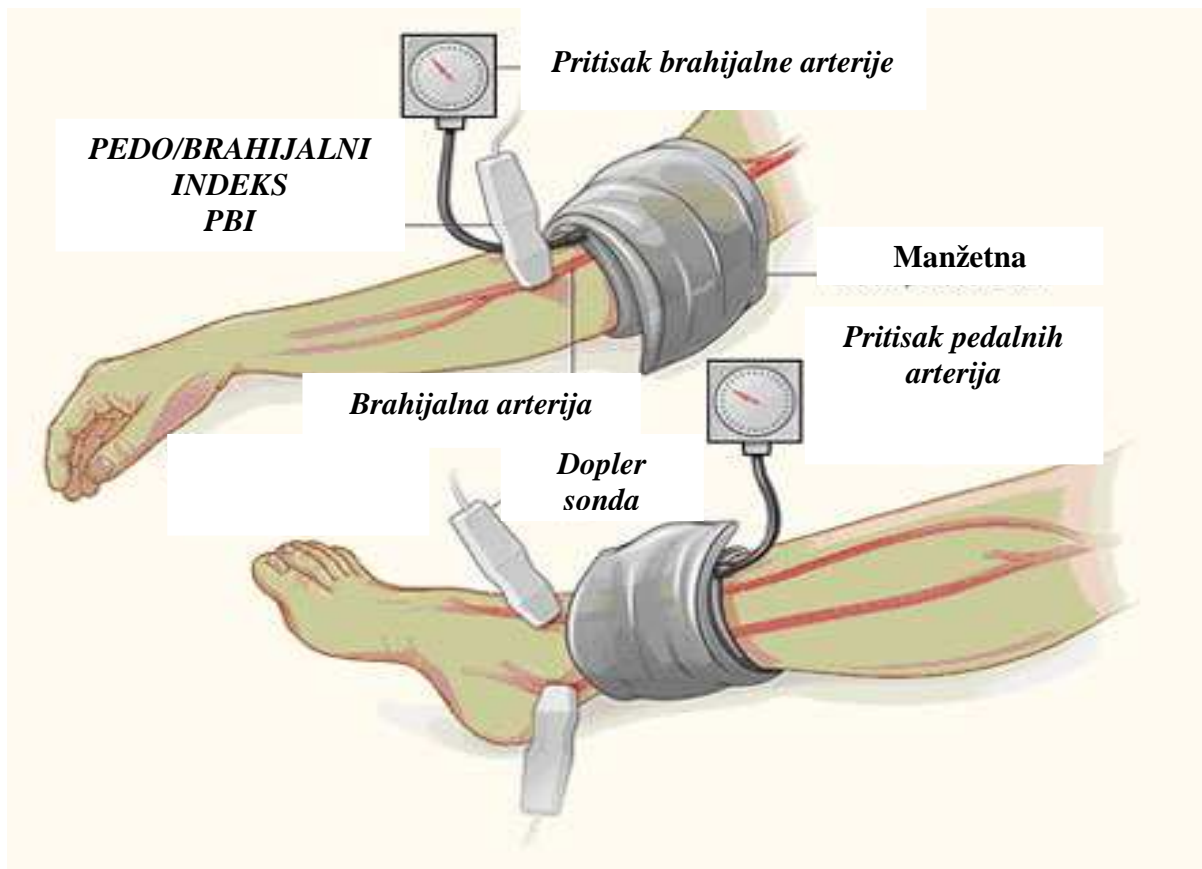
Palpacija arterijskih pulsacija pruža značajnu informaciju za postavljanje dijagnoze PAB. Palpiraju se obostrano pulsacije femoralnih, poplitealnih, zadnjih tibijalnih i dorzalnih arterija stopala, a kvalitet pulsacija se označava na skali od 0 do 2 (na primer 0=odsutne pulsacije, 1=snižene pulsacije, 2=normalne pulsacije). Pored palpacije pedalnih pulsacija, treba obaviti detaljan pregled donjih ekstremiteta sa ciljem otkrivanja trofičkih promena kože, edema, ulkusnih promena, fisura ili gangrenoznih promena. Važno je notirati i postojanje razlika među ekstremitima kao promene boje i temperature kože pri promeni položaja ekstremiteta.

Neinvazivni dijagnostički testovi pružaju neprocenjiv podatak u postavljanju dijagnoze i sprovođenju terapije PAB.

Neinvazivni dijagnostički testovi obuhvataju nekoliko metoda kao što su, na primer, određivanje pedo/brachijalnih indeksa (PBI), *Doppler* ultrazvučni pregled i ispitivanje oblika *Doppler* talasa, merenje segmentnih pritisaka, arterijsku pletizmografiju sa merenjem volumena pulsa. Svi ovi testovi mogu pomoći u određivanju nivoa stenozne i postojanja hemodinamske značajnosti stenozne.

Pored fizikalnog pregleda, najefikasniji način za utvrđivanje postojanja i procenu težine PAB donjih ekstremiteta bazira se na preračunavanju PBI i *Doppler indeksa*.

Merenje PBI se obavlja kod pacijenta u ležećem položaju tako što se najpre izmere sistolni pritisci brachijalnih arterija ručnom dopler sondom, a zatim se izmere sistolni pritisci pedalnih arterija (a.dorsalis pedis i a.tibialis posterior). Preračunavanje PBI se obavlja deljenjem najviše vrednosti sistolnog pritiska pedalnih arterija sa najvišom vrednošću sistolnog pritiska brachijalne arterije za svaki ekstremitet ponaosob. Vrednosti $PBI < 0.90$ ima specifičnost i do 95% u otkrivanju angiografski verifikovane PAB. Ovaj test omogućava semikvantitativno merenje težine PAB, i nezamenljivo je sredstvo u proceni progresije bolesti kao i odgovora na primenjene terapijske procedure (27), a može poslužiti i kao pokazatelj ukupnog kardiovaskularnog rizika. Merenje PBI i segmentnih pritisaka ekstremiteta može biti ograničeno postojanjem kalcifikacija zidova arterija, a to dovodi do nekompresibilnosti arterija i lažno visokih vrednosti PBI (> 1.33), i viđa se kod dijabetičara i pacijenata sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom. ACC/AHA vodiči iz 2006, preporučuju korišćenje PBI za skrining PAB kod pacijenata mlađih od 50 obolelih od dijabetesa, starosti od 50-69 godina sa anamnezom pušenja ili dijabetesa i osobe starije od 70 sa klaudikacionim i/ili ishemijskim bolovima u miru ili osobe sa oslabljenim pedalnim pulsacijama!



Slika 4. Princip određivanja pedo/brahijalnog indeksa (engl. ankle/brachial index, PBI)

KLASIFIKACIJA PAB PREMA PBI

1. bez PAB=PBI od **0.91-1.30**
2. blaga opstrukcija=PBI od **0.70-0.90**
3. umerena opstrukcija=PBI od **0.41-0.69**
4. teška opstrukcija=PBI **<0.40**
5. slabo kompresibilni krvni sudovi (usled medijalne arterijske kalcifikacije) kada je PBI **>1.30**

Shodno preporukama Američke Dijabetološke Asocijacije (ADA) iz 2013 inicijalni skrining PAB bi trebalo da obuhvati: anamnestički podatak o klaudikaciji, palpacija pedalnih pulseva, merenje PBI kod svih pacijenata starijih od 50 godina i kod onih mlađih od 50 koji imaju druge faktore rizika za PAB (na pr. pušenje, hipertenziju, dužinu trajanja dijabetesa preko 10 godina) i merenje PBI jednom godišnje kod svih pacijenata sa dijabetesom.

Kod pacijenata kod kojih se sumnja da postoji PAB, a ipak se dobiju normalne vrednosti PBI treba sprovesti funkcionalne testove uz merenje PBI pre i nakon vežbanja. Test se sprovodi uz korišćenje pokretne trake koja se kreće prosečno 3.2 km/sat sa usponom od 12%. Pacijent bi trebalo da korača tokom 5 minuta ili do pojave klaudikacionih bolova. Merenje ABI se obavlja pre i svakog minuta po prestanku koračanja sve dok se vrednost ABI ne vrati na početnu. Smanjenje sistolnog pritiska više od 50 mmHg koje perzistira tokom nekoliko minuta upućuje na postojanje PAB.

Pletismografija uz merenje volumena pulsa predstavlja još jedan vid neinvazivne dijagnostičke procedure za ispitivanje arterijske cirkulacije naročito kod pacijenata sa nekompresibilnim krvnim sudovima (28).

Pored napred pobrojanih u dijagnostikovanju PAB, koriste se i vizualizacione metode, ali prvenstveno u sastavu planirane hirurške intervencije. Najznačajnije vizualizacione metode su: konvencionalna kontrastna digitalna subtrakciona angiografija, *dupleks* ultrazvučni pregled, magnetna rezonantna angiografija i kompjuterizovana tomografska angiografija.

Konvencionalna kontrastna digitalna subtrakciona angiografija predstavlja zlatni standard među vizualizacionim procedurama. Ovaj metod omogućava najpouzdanije ispitivanje arterijske cirkulacije, međutim primena kontrasta i jonizujućeg zračenja čini ovaj metod potencijalno nefrotoksičnim ako se primenjuje kod pacijenata sa smanjenom bubrežnom funkcijom.

Dupleks ultrazvučni pregled je pristupačan i neinvazivan metod za vizualizaciju arterija donjih ekstremiteta, ali je manje pouzdan od angiografije i u mnogome zavisi od veštine osobe koja ga obavlja.

Magnetna rezonantna angiografija je neinvazivna procedura koja omogućava znatno bolju vizualizaciju od dupleks ultrazvučnog pregleda. Ovaj metod je, međutim, manje pouzdan od kontrastne digitalne subtrakcione arteriografije u evaluaciji ilijačnih i tibijalnih arterija.

Kompjuterizovana tomografska arteriografija, je relativno neinvazivan metod koji omogućava trodimenzionalnu vizualizaciju arterijskog stabla. Ovaj metod, ipak, ima ograničenja koja se sastoje pre svega u nefrotoksičnosti primenjivanog jodnog kontrasta, čestih arterficialnih nalaza kod postojanja kalcifikacija zidova arterija, i nedovoljno precizne vizualizacije tibijalnih arterija.

Biomarkeri u dijagnostikovanju i praćenju PAB: alternativno fizikalnom pregledu i merenju PBI skrining PAB bi se možda mogao sprovoditi i određivanjem biomarkera. U literaturi se poslednjih godina dosta pažnje posvećivalo utvrđivanju postojanja cirkulirajućih biomarkera za PAB pa se tako u literaturi kao mogući markeri pominju: a) *inflamatorni markeri* (CRP, IL-6, β 2mikroglobulin, TNF- α i dr.), b) *markeri tromboze* (D-dimer, TPA, PAI, i dr.), c) lipoproteini (Lp(a) i dr.), d) *markeri oksidativnog stresa* (vitamin C, glutation peroksidaza, i dr.), e) *matriksne metaloproteinaze* (MMPs) i njihovi inhibitori, f) *markeri angiogeneze* (vaskularni endotelijalni faktor rasta, angiopoetin, i dr.), g) *ostali markeri* (homocistein i dr.).

Ključno pitanje je da li postoje i koji su to specifični biomarkeri za PAB?

Na osnovu svega do sada rečenog, zaključeno je da je za adekvatnu terapiju PAB od izuzetnog značaja pouzdano dijagnostikovanje težine bolesti i faktora rizika koji doprinose njenom nastanku i progresiji. S obzirom na činjenicu da veliki broj pacijenata ima asimptomatsku PAB, vrlo često se bolest ne dijagnostikuje i ne leči pravovremeno.

U do sada publikovanim ispitivanjima malo je podataka o tome koji su mogući markeri za predikciju nastanka, kao i za predikciju progresije PAB kod dijabetičara (29,30).

Imajući u vidu do sada navedeno, i činjenicu da se relativno malo zna o karakteristikama PAB kod dijabetičara kao i da je malo studija koje jasno definišu markere rizika za razvoj i progresiju PAB kod pacijenata sa dijabetesom nameće se potreba daljih ispitivanja.

2. CILJ RADA

Cilj rada je utvrđivanje značaja C-reaktivnog proteina i lipidnih biomarkera kao mogućih prediktora razvoja i progresije PAB donjih ekstremiteta kod pacijenata sa dijabetesom.

Iz navedenog cilja proizašli su sledeći zadaci:

2.1. Ispitivanje razlika nivoa CRP-a i lipidnih biomarkera kod pacijenta sa tipom 2 dijabetesa sa PAB i bez PAB.

2.2. Analiza korelacije nivoa CRP-a i lipidnih biomarkera kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa sa i bez PAB.

2.3. Analiza povezanosti nivoa CRP-a sa stepenom i pojavom PAB kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

2.4. Analiza prediktivnog značaja CRP-a i lipidnih biomarkera za PAB kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

2.5. Analiza prediktivnog značaja CRP-a i lipidnih biomarkera za progresiju PAB kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

3. METODE

3.1. Selekcija ispitanika

Ispitivanje je rađeno kao prospektivna kohortna studija u periodu od 2004. do 2009. godine koja je obuhvatila 80 pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, lečenih u Institutu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije. Ispitanici su bili pacijenti starosne dobi od 45 do 70 godina, na terapiji oralnim antidijabeticima. Na početku ispitivanja svi pacijenti su podeljeni u dve grupe (grupa A i grupa B), na osnovu vrednosti PBI. Grupa A je obuhvatala pacijente sa vrednostima PBI koje su označavale postojanje umereno izražene ili blage PAB. Grupa B je obuhvatala pacijente sa vrednostima PBI koje su isključivale postojanje PAB.

Nakon pet godina svi ispitani pacijenti su podeljeni na podgrupe A1, A2, B1 i B2 u zavisnosti od toga da li je tokom ispitivanja došlo do progresije, odnosno do razvoja PAB. Podgrupa A1 je obuhvatala pacijente sa PAB kod kojih je došlo do progresije PAB, odnosno do smanjenja vrednosti PBI u odnosu na početnu vrednost. Podgrupa A2 je obuhvatala pacijente sa PAB kod kojih nakon pet godina nije nađena promena PBI. Podgrupa B1 je obuhvatala pacijente bez PAB kod kojih je nakon pet godina utvrđeno postojanje PAB na osnovu sniženih vrednosti PBI. Podgrupa B2 je obuhvatala pacijente bez PAB kod kojih ni nakon pet godina nije dijagnostikovana PAB, odnosno nije došlo do smanjenja PBI.

3.2. Protokol studije

Tokom ispitivanja strogo su poštovani kriterijumi za uključivanje, odnosno isključivanje iz ispitivanja. Glavni kriterijumi isključivanja iz ispitivanja su bili sledeći: odbijanje ispitanika da budu praćeni i ispitivani i konzumiranje duvana (ranije ili aktuelno).

Ispitivanje je i sprovedeno shodno osnovnim principima Helsinške deklaracije iz 1964 godine (revizija, 2008.), koju je sačinilo i usvojilo Svetsko udruženje lekara (World Medical Association) (31) i odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Ispitanicima je detaljno objašnjeno ispitivanje, od ispitanika je dobijen pismeni pristanak za učešće u studiji.

3.3. Praćenje ispitanika

Sve analize su rađene na početku i nakon pet godina od uključivanja ispitanika u studiju.

3.3.1. Dijagnoza tipa 2 dijabetesa

Na osnovu dve uzastopno utvrđene vrednosti glikemije našte ≥ 7.0 mmol/l, i/ili na osnovu vrednosti glikemije ≥ 11.1 mmol/l u drugom satu posle unosa 75 g. glukoze u oralnom testu tolerancije glikoze (32). Ispitivani su dijabetičari sa insulin-nezavisnim dijabetesom lečeni isključivo dijetom i/ili oralnim antidijabeticima, i niko od ispitanika nije primao insulin. Takođe, niko od ispitanika nije primao sredstva koja mogu uticati na vrednosti nivoa glikemije barem 12 sati pre, i sredstva koja mogu uticati na vrednosti nivoa lipoproteina barem 48 sati pre uzimanja uzoraka krvi za analize. Terapija oralnim antiagregacionim i antikoagulantnim sredstvima i/ili sredstvima koja mogu uticati na promenu koagulacije krvi, bila su prekinuta u periodu od najmanje 30 dana pre predviđenog ispitivanja.

3.3.2. Merenje krvnog pritiska i određivanje hipertenzije

Dijagnostikovanje hipertenzije se zasnivalo na metodama indirektnog merenja krvnog pritiska aparatom sa živinim manometrom (kalibrisanim u intervalima od 2-10 mmHg, na skali od 0-300 mmHg). Određivanje stepena i kategorizacija hipertenzije vršena je prema klasifikaciji krvnog pritiska za odrasle osobe starije od 18 godina. Prema ovoj klasifikaciji kao normalan krvni pritisak označen je pritisak do 130/85 mmHg; visoko normalan 130-139/85-89 mmHg; kao blaga hipertenzija (stadijum 1) krvni pritisak 140-159/90-99 mmHg; kao umerena hipertenzija (stadijum 2) krvni pritisak 160-179/100-109 mmHg; kao teška hipertenzija (stadijum 3) krvni pritisak 180-209/110-119 mmHg; i kao veoma teška hipertenzija (stadijum 4) krvni pritisak preko 210/120 mmHg. Krvni pritisak je meren najmanje dva puta uzastopno, u sedećem položaju, u jutarnjim satima (između 08 i 12 h, pre podne), a zatim je preračunata srednja vrednost. Prema usvojenom konsenzusu, shodno preporukama, arterijska hipertenzija je definisana vrednostima krvnog pritiska višim od 140/90 mmHg (33,34). Koristeći vrednosti sistolnog (SP) i dijastolnog

pritiska (DP) preračunavan je i srednji arterijski pritisak (*mean arterial pressure*, MAP) prema sledećoj formuli:

$$\text{MAP} = \text{DP} + 1/3 (\text{SP} - \text{DP})$$

Idealna vrednost MAP je 93 mmHg što odgovara arterijskom pritisku od 120/80 mmHg.

3.3.3. Dijagnoza periferne arterijske bolesti

Periferna arterijska bolest je dijagnostikovana merenjem ABI. Patološkim vrednostima PBI smatra se vrednost ≤ 0.9 i PBI ≥ 1.3 . Podo/brachijalni indeks je određivan za svaku nogu ponaosob kao srednja vrednost tri merenja sistolnog pritiska nad arterijom tibialis posterior i arterijom dorsalis pedis, podeljenog vrednošću sistolnog krvnog pritiska nad brachijalnom arterijom.

Dijagnoza PAB bazirana na određivanju PBI interpretirana je na sledeći način: bez PAB=PBI od 0.91-1.30; blaga opstrukcija=PBI od 0.70-0.90; umerena opstrukcija=PBI od 0.41-0.69; teška opstrukcija=PBI ≤ 0.40 ; slabo kompresibilni krvni sudovi (usled kalcifikacije medije arterije) kada je PBI > 1.30 (35).

3.3.4. Ispitivanje glikoregulacije

Glikoregulacija je ispitivana određivanjem glikemije i glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) u krvi.

Kod svakog ispitanika uzorci krvi za laboratorijske analize su uzimani izjutra, našte, nakon 12-14 sati gladovanja tokom noći, za prvi pregled tako i za kontrolni pregled nakon 5 godina. Svi biohemijski parametri su određivani neposredno nakon uzimanja uzoraka krvi za planirane analize.

Koncentracija glikoze u krvi je određivana enzimatski, korišćenjem komercijalnih testova Beckman Coulter® (USA), metodom heksokinasa/glucozo-6-pfosfat dehidrogenaza (G-6-PDH) (36, 37). Referentne vrednosti glikemije u serumu: 3.9-6.1 mmol/l.

Glikozilirani hemoglobin (HbA1C) je određivan u uzorcima krvi sakupljenim sa K₂EDTA, imuno-inhibicionim metodom (38). Referentne vrednosti glikoziliranog hemoglobina u serumu: 3.9-6.1%.

3.3.5. Ispitivanje lipidnih parametara

Lipidni status je ispitivan određivanjem nivoa ukupnog holesterola, HDL holesterola i triglicerida (39), LDL se preračunavao po formuli: ukupni holesterol – (HDL+Tg/2.2) (40). Kod svakog ispitanika uključenog u studiju uzorci krvi za laboratorijsku analizu uzimani su izjutra našte nakon 12 do 14 satnog gladovanja inicijalno i pet godina kasnije. Venepunkcija (dve epruvete BD Vacutainer- jedna SST® II Advance i druga sa K₂EDTA) je obavljena nakon petominutnog mirovanja u sedećem položaju. Serum je izdvajan centrifugiranjem tokom 15 minuta na 1500 g, i korišćen je za merenje koncentracije glikoze, ukupnog, HDL- i LDL- holesterola, triglicerida i CRP, dok je koncentracija HbA1C merena u celokupnom uzorku krvi sakupljanom sa K₂EDTA. Svi biohemijski parametri su određivani neposredno nakon uzimanja uzoraka krvi. Holesterol je određivan metodom baziranom na delovanju holesterol oksidaze (CHO) i peroksidaze (POD), HDL-holesterol je određivan direktnim homogenim esejom a trigliceridi metodom sa korišćenjem serije reakcija katalizovanih lipazom, glicerol kinazom (GK), glicerol fosfat oksidazom (GPO) i peroksidazom (POD). Svi pomenuti testovi su rađeni na analizatoru Beckman Coulter AU 400®.

Referentne vrednosti za ukupni holesterol: 0-5.2 mmol/L; vrednost od 5.2-6.2 mmol/L, označena je kao granično povećanje; dok je vrednost ≥ 6.2 mmol/L, visoko povećanje. Referentne vrednosti HDL-holesterola: ≥ 1.0 mmol/L; nizak HDL-holesterol označen je kao značajan faktor rizika za koronarna srčana oboljenja, dok je HDL-holesterol > 1.55 mmol/L, visok HDL-holesterol označen kao 'negativan' faktor rizika za koronarna srčana oboljenja. Referentne vrednosti triglicerida: 0-1.70 mmol/L, označene su kao normalne normalne; 1.70-2.25 granično visoke; 2.26-5.64 visoke; ≥ 5.65 , vrlo visoke vrednosti.

Lipoproteinske frakcije, Lp(a), Apo A1, Apo B, određivane su nefelometrijski na Behring nefelometrima (41). Referentne vrednosti za Apo A1: za žene 1.25-2.15 g/l, za muškarce 1.10-2.05 g/L; za Apo B: za žene 0.55-1.25 g/L, za muškarce 0.55-1.40 g/L; za Lp(a): do 100 mg/dL.

Pored navedenog preračunavani su i aterogeni indeksi: *ukupni holesterol/HDL-holesterol*, (indeks korišćen za predikciju razvoja ateroskleroze, idealno $< 3.5.$, cilj $< 4.5.$, povećan rizik ako je $> 5.$); *trigliceridi/HDL-holesterol* (u obrnutoj je korelaciji sa nivoom malih gustih LDL partikula, ako je $> 4.$ snažan je nezavisni prediktor razvoja koronarne arterijske bolesti); i *non-*

HDL-holesterol koji se preračunava kao razlika između ukupnog i HDL-holesterola i koji se koristi, takođe, za procenu koronarnog rizika (visok rizik kada je non-HDL holesterol >3.36 mmol/l, a kada je >4.13 neophodno je primeniti medikamentnu terapiju) (42,43).

3.3.6. Određivanje insulinemije i insulinske senzitivnosti

Nivo insulina u serumu određivan je metodom radioimunoeseja (PEG), Inep Insulin RIA komplet standardizovan prema referentnom preparatu SZO (66/304). Preporučeni opseg normalnih koncentracija 5-25 mIU/L posle prekonoćnog gladovanja.

Insulinska senzitivnost je preračunavana korišćenjem formula homeostaznog modela, HOMA-IR (44,45,46).

Vrednost HOMA-IR je izračunavana po formuli:

$HOMA-IR = \text{insulinemija (mIU/l)} \times \text{glikemija (mmol/l)} / 22.5$ (44,45,46).

HOMA-IR Skor:

Normalna insulinska rezistencija: < 3

Umerena insulinska rezistencija: Između 3 i 5

Teška insulinska rezistencija: >5

3.3.7. Ispitivanje stepena i tipa gojaznosti

Kod svakog ispitanika bilo je obavljeno merenje telesne težine (TT) i telesne visine (TV) i na osnovu toga izračunavan indeks telesne mase (ITM), ili Queteletov indeks, po formuli, $ITM (kg/m^2) = TT (kg) / TV (m^2)$.

Vrednost ITM za osobe koje nisu fizički aktivne: ITM od 18.5-25, optimalna telesna masa; ITM manji od 18.5, smanjena telesna masa; ITM preko 25, povećana telesna masa; ITM ispod 17.5, anoreksija; ITM preko 30, gojaznost; ITM preko 40, morbidna gojaznost (47,48).

Raspored masnog tkiva, odnosno tip gojaznosti određivan je tako što je kod svakog ispitanika, u stojećem položaju, meren obim struka na nivou umbilikusa i najširi obim kukova i preračunavan je njihov odnos (SKO), prema ranije opisanoj metodi. Shodno preporukama Nacionalnog Instituta za Dijabetes, Digestivne i Bubrežne Bolesti (*The National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Disease, NIDDK*), vrednost SKO veća od 0.8 kod žena i 1.0 kod

muškaraca je povezana sa većim rizikom za hipertenziju, dijabetes, ranu pojavu srčanih bolesti kao i nekih oblika kancera (49,50).

Pored SKO, i vrednost obima struka (OS) može poslužiti kao pokazatelj rizika, i to vrednost OS veća od 88 cm za žene i 102 cm za muškarce (49) što je korišćeno i u našem ispitivanju.

3.3.8. Ispitivanje C-reaktivnog proteina

C-reaktivni protein određivan je visokosenzitivnom metodom uz korišćenje komercijalnih imunoesej kitova Siemens HealthCare® a testovi su rađeni na Behring Nefelometrijskom Analizatoru II®.

Ispitanici sa vrednostima visokosenzitivnog CRP (*high sensitive CRP*, hs-CRP) >10mg/L su isključeni iz studije s obzirom da takva vrednost hs-CRP ukazuje na postojanje akutne inflamatorne bolesti. Vrednost hs-CRP <1 mg/L, označavaju mali rizik za KB; od 1-3 mg/L=umereni rizik; od 3-10 mg/L=visoki rizik (51,52).

3.3.9. Ostali pregledi

Koronarna i cerebrovaskularna bolest su dijagnostikovane na osnovu anamnestičkih kao i podataka iz medicinske dokumentacije o anginoznim bolovima; predhodnom infarktu miokarda, ugradnji koronarnog by pass grafta, perkutanoj transluminalnoj koronarnoj angioplastici; anamnestičkih podataka i dokumentacije o ranijem prolaznom ishemijskom cerebrovaskularnom ataku (TIA), moždanom udaru i predhodnim revaskularizacionim procedurama.

3.3.10. Statistički metodi

U obradi i analizi dobijenih podataka, korišćene su sledeće statističke metode:

- **Metode univarijantne statističke analize**

- 1) Deskriptivna statistika za opis podataka

- 2) Eksploratorna analiza za međugrupnu analizu
- 3) Kolmogorov-Smirnov Hi kvadrat test za testiranje postojanja normalne raspodele
- 4) Pirsonov Hi kvadrat test za utvrđivanje postojanja veze između parametara
- 5) Hi kvadrat Likelihood Ratio test za utvrđivanje postojanja veze između parametara
- 6) Cochran test za Odds Ratio i Relativni Rizik
- 7) ROC kriva za određivanje tačke prevoja kod analize senzitivnosti i specifičnosti
- 8) Hi kvadrat test za jednakost raspodele parametara
- 9) Studentov t test za razliku između grupa
- 10) Upareni Studentov t test za parove promenljivih
- 11) Levenov test homogenosti varijanse
- 12) Pirsonov koeficijent korelacije za određivanje stepena povezanosti parametara
- 13) Analiza varijanse za razliku između grupa po LSD i Bonferoni metodi određivanja razlika

Test proporcije za utvrđivanje postignutog odnosa

- **Metode multivarijacione analize**

- 1) Logistička regresija za procenu značajnosti parametara
- 2) Test homogenosti varijanse
- 3) Multivarijantna regresiona analiza (backward metoda) za projekciju posmatranih parametara
- 4) Fišerov test multivarijacione regresione analize

U cilju obrade podataka korišćen je statistički paket SPSS verzija 18. Analize su rađene sa verovatnoćom od 95% ($p \leq 0.05$).

Obradeni podaci i dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

4. REZULTATI

4.1. Osnovne karakteristike ispitanika grupe A i grupe B

Ispitivanjem je obuhvaćeno 80 pacijenata sa T2D. Svi ispitanici su shodno vrednostima PBI podeljeni na dve grupe, grupu A i grupu B. U grupu A su svrstani pacijenti sa vrednostima ABI koje su označavale postojanje blage arterijske opstrukcije, PBI=0.70-0.90, i umerene arterijske opstrukcije, PBI=0.40-0.69. Grupa B je obuhvatala pacijente sa normalnim vrednostima PBI=0.91-1.30. Obe grupe su bile poredive u pogledu starosti i dužine trajanja dijabetesa.

Tabela 1. Osnovne karakteristike ispitanika grupe A i grupe B

<i>Karakteristike</i>	<i>Grupa A (n=38)</i>	<i>Grupa B (n=42)</i>	<i>p</i>
Pol (m/ž)*	14(36.8%)/24(63.2%)	18(42.9%)/24(57.1%)	0.583 ^a
Starost (godine)	64±6**	62±7**	0.358 ^b
Trajanje DM (godine)	8±2**	8±2**	0.989 ^b
Polineuropatija	8 (21.1%)	5 (11.9%)	0.268 ^a
Nefropatija	4 (10.5%)	1 (2.4%)	0.123 ^a
Hipertenzija	30 (78.9%)	29 (69.6%)	0.315 ^a
Koronarna bolest	14 (36.8%)	16 (38.1%)	0.908 ^a
Porodična anamneza za KVB	17 (44.7%)	20 (47.6%)	0.796 ^a
Klaudikacija	23 (60.5%)	12 (28.6%)	0.004 ^a
Retinopatija	6 (15.8%)	2 (4.8%)	0.095 ^a

**m=muški pol, ž=ženski pol, **rezultati su izraženi kao srednja vrednost i standardna devijacija (X±SD), ^ap vrednost za X² test, ^bp vrednost za studentov t-test*

Osnovne karakteristike ispitanika prikazane su u tabeli 1. Najveći broj ispitanih pacijenata grupe A i grupe B je imao hipertenziju (78.9% vs. 69.6%, $p=0.315$), dok je klaudikaciju imao statistički značajno veći broj pacijenata grupe A (60.5% vs. 28.6%, $p=0.004$) (tabela 1.). Znatno manji broj ispitanika kako grupe A, tako i grupe B je imao mikrovaskularne komplikacije kao što su nefropatija i retinopatija (tabela 1).

4.1.1. Analiza ispitivanih parametara u grupi A i grupi B na početku ispitivanja

Kod ispitanika **grupe A** vrednosti holesterola bile su više pri prvom pregledu u odnosu na kontrolni (6.40 ± 1.51 vs. 6.20 ± 1.26 , $p=0.250$), kao i vrednosti triglicerida (2.56 ± 2.23 vs. 2.42 ± 2.19 , $p=0.250$), a vrednosti HDL holesterola (1.20 ± 0.28 vs. 1.26 ± 0.29 , $p=0.128$) i LDL holesterola (4.05 ± 1.12 vs. 4.06 ± 1.09 , $p=0.947$) su bile niže (tabele 2. i 3., grafikon 2.).

Aterogeni indeksi: non-HDL (5.08 ± 1.50 vs. 4.85 ± 1.30 , $p=0.170$), TC/HDL (5.42 ± 1.89 vs. 5.42 ± 1.41 , $p=0.170$), i Tg/HDL (2.25 ± 1.98 vs. 2.00 ± 2.31 , $p=0.046$), kao i lipoprotein B (1.24 ± 0.35 vs. 1.21 ± 0.35 , $p=0.355$), i Lp (a) (0.30 ± 0.36 vs. 0.30 ± 0.35 , $p=0.944$), su bili viši pri prvom pregledu, a vrednost lipoproteina A1 niža (1.62 ± 0.32 vs. 1.72 ± 0.37 , $p=0.056$) (tabele 2. i 3., grafikoni 4 i 6).

Vrednost CRP pri prvom pregledu je bila niža u odnosu na kontrolni (4.09 ± 2.32 vs. 4.51 ± 2.12 , $p=0.170$) (tabele 2 i 3, grafikon 1).

Kod ispitanika **grupe B** vrednosti holesterola (6.23 ± 1.51 vs. 6.27 ± 1.40 , $p=0.817$), triglicerida (2.82 ± 2.75 vs. 3.00 ± 2.81 , $p=0.461$), HDL holesterola (1.99 ± 0.29 vs. 1.27 ± 0.32 , $p=0.032$), LDL holesterola (4.02 ± 1.21 vs. 1.77 ± 0.38 , $p=0.661$), Apo A1 (1.58 ± 0.35 vs. 1.77 ± 0.38 , $p=0.004$), Apo B (1.21 ± 0.374 vs. 1.25 ± 0.37 , $p=0.295$) i Lp (a) (0.23 ± 0.21 vs. 0.23 ± 0.23 , $p=0.752$), kao i vrednost Tg/HDL (2.51 ± 2.45 vs. 2.67 ± 3.06 , $p=0.686$), su bile niže pri prvom pregledu.

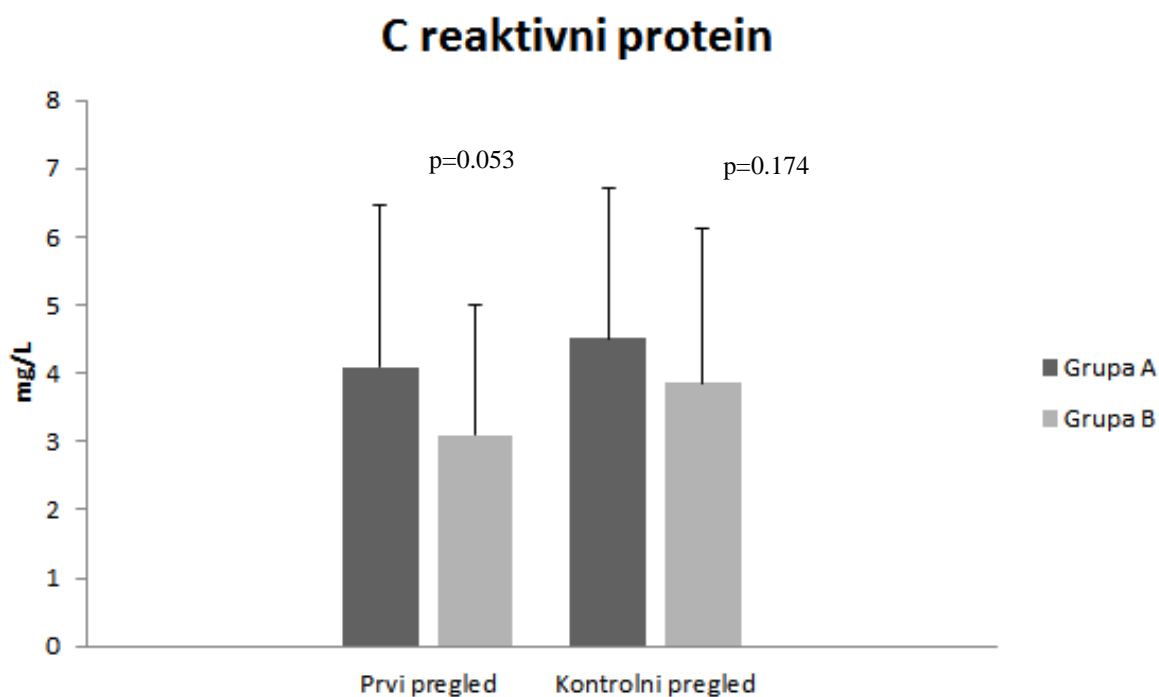
Vrednosti aterogenih indeksa non-HDL (4.99 ± 1.57 vs. 4.91 ± 1.49 , $p=0.567$) i TC/HDL (5.47 ± 2.39 vs. 5.16 ± 1.78 , $p=0.222$) su bile više pri prvom pregledu (tabele 2 i 3 i grafikoni, 2,3,4,5,6 i 7).

Vrednost CRP je, takođe, bila niža pri prvom u odnosu na kontrolni pregled (3.09 ± 2.21 vs. 3.86 ± 2.27 , $p=0.002$) (tabele 2 i 3, Grafikon 1).

Tabela 2. Razlika između vrednosti ispitivanih parametara grupe A i grupe B, pri prvom pregledu

<i>Ispitivani parametri</i>	<i>Grupa A^a</i>	<i>Grupa B^a</i>	<i>Razlika između vrednosti ispitivanih parametara</i>
ITM (kg/m²)	30.06 ± 4.36	29.04 ± 3.86	p=0.272
OS (cm)	102.13 ± 12.47	96.55 ± 9.72	p=0.028 ^b
SKO	0.95 ± 0.07	0.92 ± 0.08	p=0.110
MAP	107.56 ± 12.27	103.76 ± 13.45	p=0.192
Glikemija (mmol/l)	8.82 ± 2.99	8.59 ± 2.58	p=0.706
HbA1c (%)	8.06 ± 1.88	7.58 ± 1.63	p=0.229
Holesterol (mmol/l)	6.40 ± 1.52	6.23 ± 1.51	p=0.616
Trigliceridi (mmol/l)	2.56 ± 1.48	2.82 ± 2.75	p=0.614
HDL (mmol/l)	1.20 ± 0.25	1.19 ± 0.29	p=0.997
LDL (mmol/l)	4.05 ± 1.04	4.02 ± 1.21	p=0.902
Apo A1	1.63 ± 0.30	1.58 ± 0.35	p=0.584
Apo B	1.24 ± 0.33	1.21 ± 0.38	p=0.711
Lp (a)	0.30 ± 0.36	0.23 ± 0.21	p=0.263
Non-HDL	5.08 ± 1.45	4.99 ± 1.57	p=0.797
TC/HDL	5.42 ± 1.14	5.47 ± 2.39	p=0.921
Tg/HDL	2.25 ± 1.31	2.51 ± 2.45	p=0.569
Insulinemija (mIU/l)	21.48 ± 6.91	22.26 ± 10.64	p=0.701
HOMA-IR	8.39 ± 3.75	8.74 ± 5.27	p=0.744
CRP (mg/l)	4.09 ± 2.35	3.09 ± 2.21	p=0.053

^a rezultati su izraženi kao srednja vrednost±standardna devijacija, $X\pm SD$, ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom



Grafikon 1. Vrednosti CRP-a u grupama A ($n=38$) i B ($n=42$) pri prvom i kontrolnom pregledu (nakon pet godina)

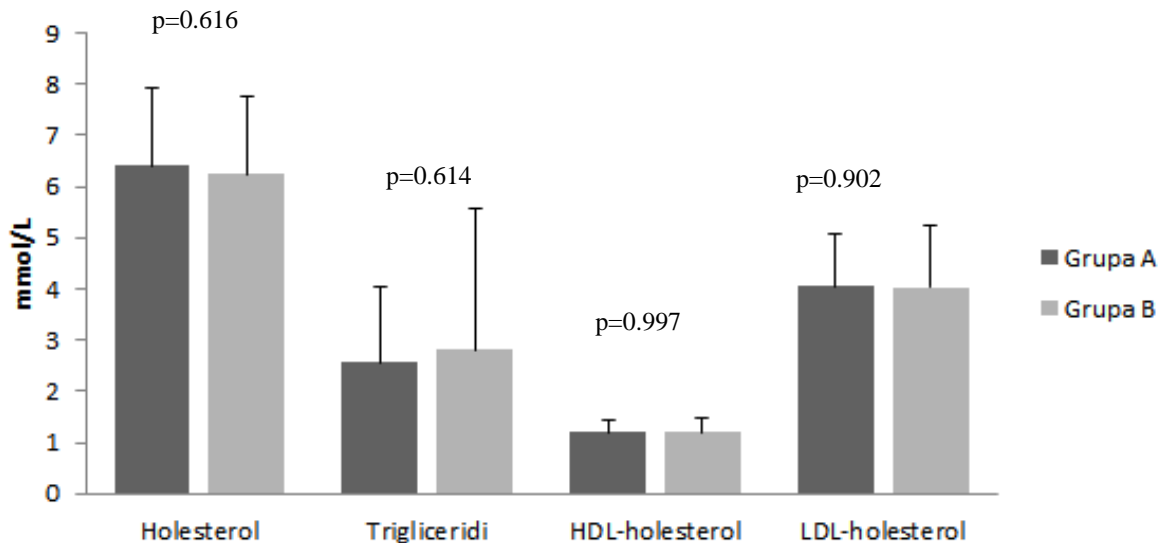
Analiza CRP-a visokosenzitivnom metodom uz korišćenje komercijalnih imunoesej kitova Siemens Helathcare® uz testove koji su rađeni na Behring Nefelometrijskom Analizatoru II®.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm sandardna devijacija.

Značajnost razlike je ispitivana studentovim t -testom.

Statistički značajna razlika između ispitanika grupe A i B prilikom prvog ($p=0.053$) i kontrolnog pregleda ($p=0.174$) nije nađena.

Lipidi prvi pregled



Grafikon 2. Vrednosti Lipida u grupama A (n=38) i B pri (n=42) pri prvom pregledu.

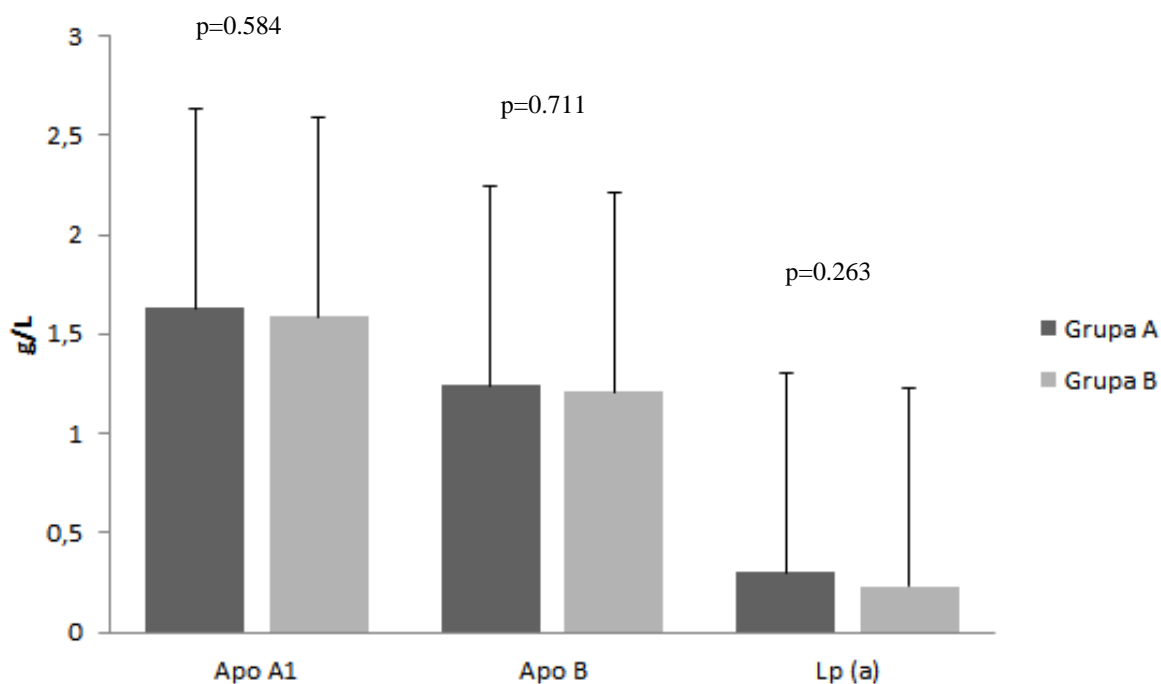
Analizirani lipidni parametri: ukupni holesterol (metod baziran na delovanju holesterol oksidaze (CHO) i peroksidaze (POD)), HDL- i LDL-holesterol (direktni homogeni esej) i trigliceridi (metod sa korišćenjem serije reakcija katalizovanih sa lipazom, glicerol kinazom (GK), glicerol foosfat oksidazom (GPO) i peroksidazom (POD)). Svi pomenuti testovi su rađeni na analizatoru Beckman Coulter AU 400®.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Unačajnost razlike ispitivana je studentovim t-testom.

Nije nađena statistički značajna razlika u vrednostima holesterola ($p=0.61$), triglicerida ($p=0.614$), HDL-holesterola ($p=0.997$) i LDL-holesterola ($p=0.902$) između ispitanika grupe A i B prilikom prvog pregleda.

Lipoproteini prvi pregled



Grafikon 3. Vrednosti Lipoproteina u **grupama A** ($n=38$) i **B** ($n=42$) pri prvom pregledu.

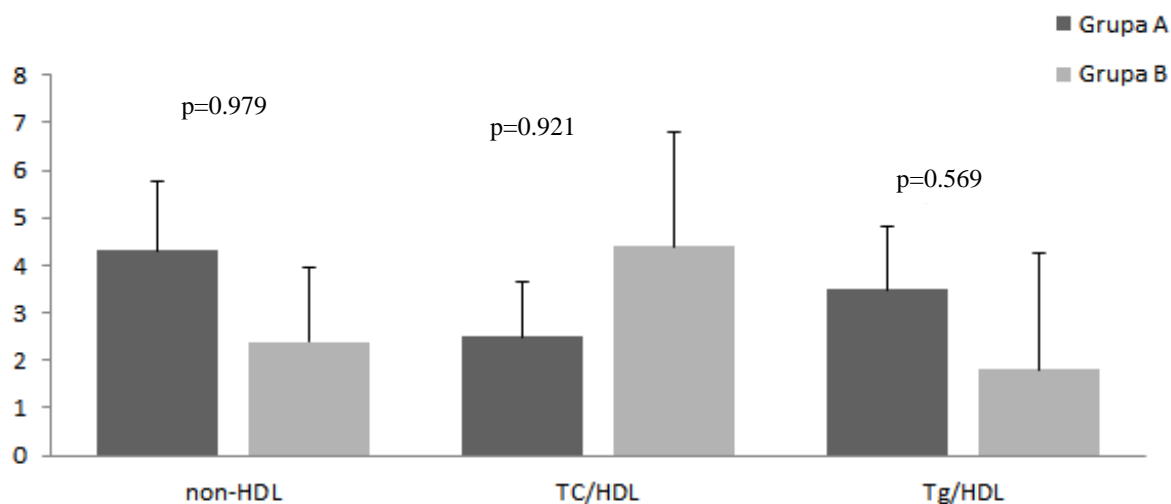
Lipoproteinske frakcije, $Lp(a)$, Apo A1, Apo B, određivane su nefelometrijski na Behring nefelometrima.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je studentovim t -testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima Apo A1 ($p=0.584$), Apo B ($p=0.71$) kao i $Lp(a)$ ($p=0.263$) nije nađena između ispitanika grupe A i B prilikom prvog pregleda.

Aterogeni indeksi prvi pregled



Grafikon 4. Vrednosti Aterogenih indeksa u **grupama A** ($n=38$) i **B** ($n=42$) pri prvom pregledu.

Preračunavani su aterogeni indeksi: ukupni holesterol/HDL-holesterol; trigliceridi/HDL-holesterol i non-HDL-holesterol izražen u mmol/L (razlika između ukupnog i HDL-holesterola).

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je studentovim *t*-testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima non-HDL ($p=0.979$), TC/HDL ($p=0.921$) kao i Tg/HDL ($p=0.569$) nije nađena između ispitanika grupe A i B prilikom prvog pregleda.

4.1.2. Analiza ispitivanih parametara u grupama A i B pri kontrolnom pregledu

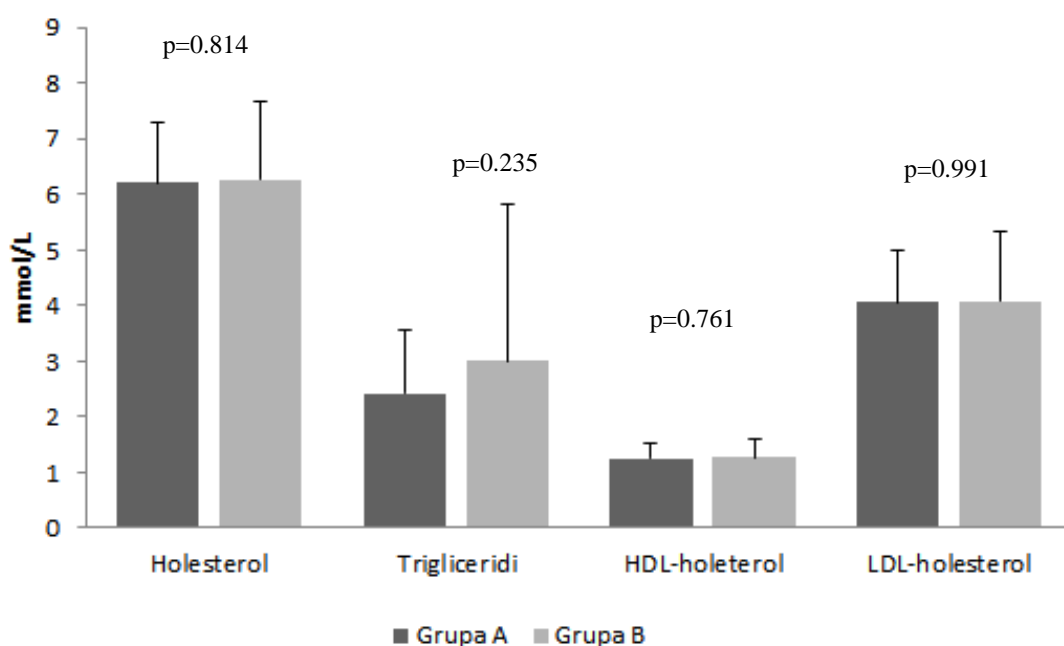
Prilikom kontrolnog pregleda ispitanici grupe A su imali više vrednosti CRP-a (4.06 ± 1.92 vs. 3.86 ± 2.27 , $p=0.174$) u odnosu na ispitanike grupe B, ali ta razlika nije bila statistički značajna. Ispitanici grupe A su, takođe, imali više vrednosti OS, SKO, MAP, glikemije i Lp (a) u odnosu na ispitanike grupe B, ali ni ta razlika nije bila statistički značajna (tabela 3 i grafikoni 5,6,7).

Tabela 3. Razlika između vrednosti ispitivanih parametara **grupe A i grupe B**, pri kontrolnom pregledu

Ispitivani parametri	Grupa A^a	Grupa B^a	Razlika između vrednosti ispitivanih parametara
ITM (kg/m²)	30.07 ± 4.46	29.09 ± 4.08	p=0.309
OS (cm)	103.04 ± 11.98	99.05 ± 9.57	p=0.102
SKO	0.95 ± 0.07	0.94 ± 0.08	p=0.455
MAP	104.82 ± 9.79	104.04 ± 11.34	p=0.742
Glikemija (mmol/l)	9.42 ± 9.20	8.77 ± 2.32	p=0.658
HbA1c (%)	7.49 ± 1.141	7.72 ± 1.54	p=0.473
Holesterol (mmol/l)	6.20 ± 1.10	6.27 ± 1.40	p=0.814
Trigliceridi (mmol/l)	2.42 ± 1.16	3.01 ± 2.81	p=0.235
HDL (mmol/l)	1.25 ± 0.27	1.27 ± 0.32	p=0.761
LDL (mmol/l)	4.06 ± 0.92	4.09 ± 1.25	p=0.911
Apo A1	1.72 ± 0.37	1.77 ± 0.38	p=0.530
Apo B	1.21 ± 0.34	1.26 ± 0.37	p=0.589
Lp (a)	0.30 ± 0.35	0.23 ± 0.23	p=0.308
non-HDL	4.85 ± 1.08	4.91 ± 1.49	p=0.849
TC/HDL	5.12 ± 1.06	5.16 ± 1.68	p=0.904
Tg/HDL	2.00 ± 0.93	2.67 ± 3.06	p=0.205
Insulinemija (mIU/l)	20.96 ± 5.72	21.63 ± 8.98	p=0.694
HOMA-IR	7.35 ± 2.41	8.68 ± 4.64	p=0.115
CRP (mg/l)	4.51 ± 1.92	3.86 ± 2.27	p=0.174

^a rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna devijacija, $X \pm SD$, ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom

Lipidi kontrolni pregled



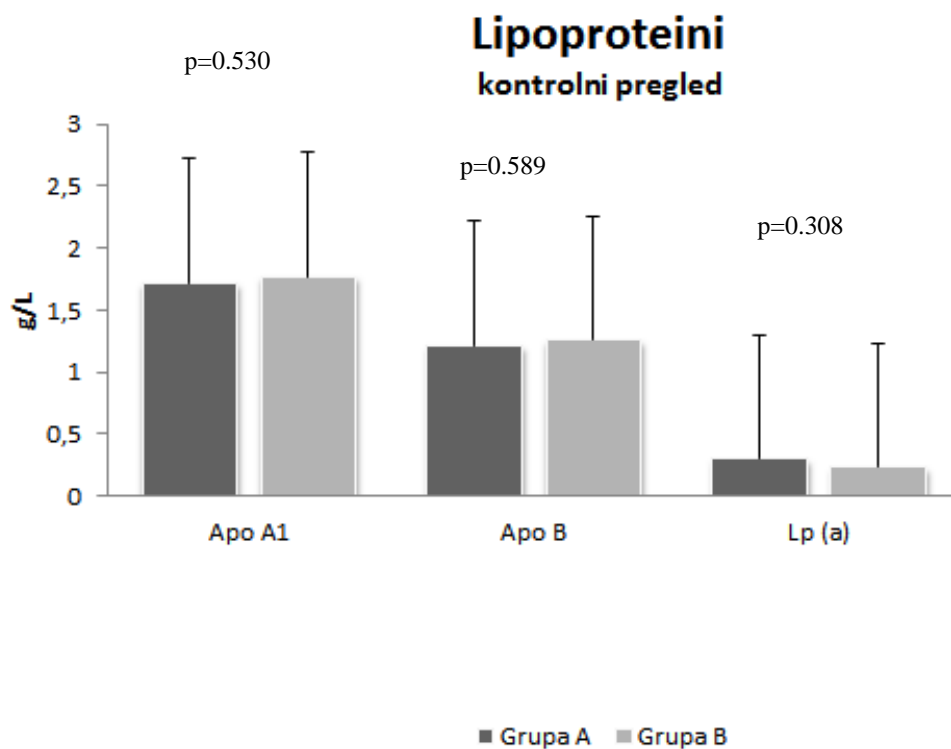
Grafikon 5. Vrednostil Lipida u **grupama A** ($n=38$) i **B** ($n=42$) pri kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Analizirani lipidni parametri: ukupni holesterol (metod baziran na delovanju holesterol oksidaze (CHO) i peroksidaze (POD)), HDL- i LDL-holesterol (direktni homogeni esej) i trigliceridi (metod sa korišćenjem serije reakcija katalizovanih sa lipazom, glicerol kinazom (GK), glicerol foosfat oksidazom (GPO) i peroksidazom (POD)). Svi pomenuti testovi su rađeni na analizatoru Beckman Coulter AU 400®.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je studentovim t -testom.

Nije nađena statistički značajna razlika u vrednostima holesterola ($p=0.814$), triglicerida ($p=0.235$), HDL-holesterola ($p=0.761$) i LDL-holesterola ($p=0.991$) između ispitanika grupe A i B prilikom prvog pregleda.



Grafikon 6. Vrednosti Lipoproteina u **grupama A** ($n=38$) i **B** ($n=42$) pri kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

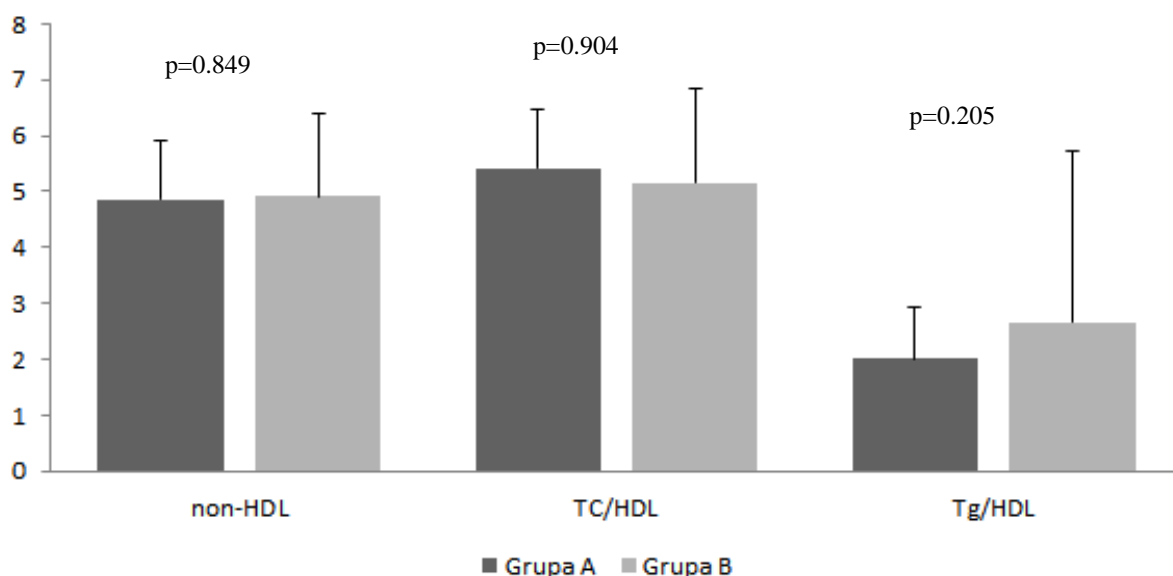
Lipoproteinske frakcije, Lp(a), Apo A1, Apo B, određivane su nefelometrijski na Behring nefelometrima.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je studentovim t-testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima Apo A1 ($p=0.530$), Apo B ($p=0.589$) kao i Lp (a) ($p=0.380$) nije nađena između ispitanika grupe A i B prilikom kontrolnog pregleda.

Aterogeni indeksi kontrolni pregled



Grafikon 7. Vrednosti Aterogenih indeksa u **grupama A** ($n=38$) i **B** ($n=42$) pri kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Preračunavani su aterogeni indeksi: ukupni holesterol/HDL-holesterol; trigliceridi/HDL-holesterol i non-HDL-holesterol izražen u mmol/L (razlika između ukupnog i HDL-holesterola).

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

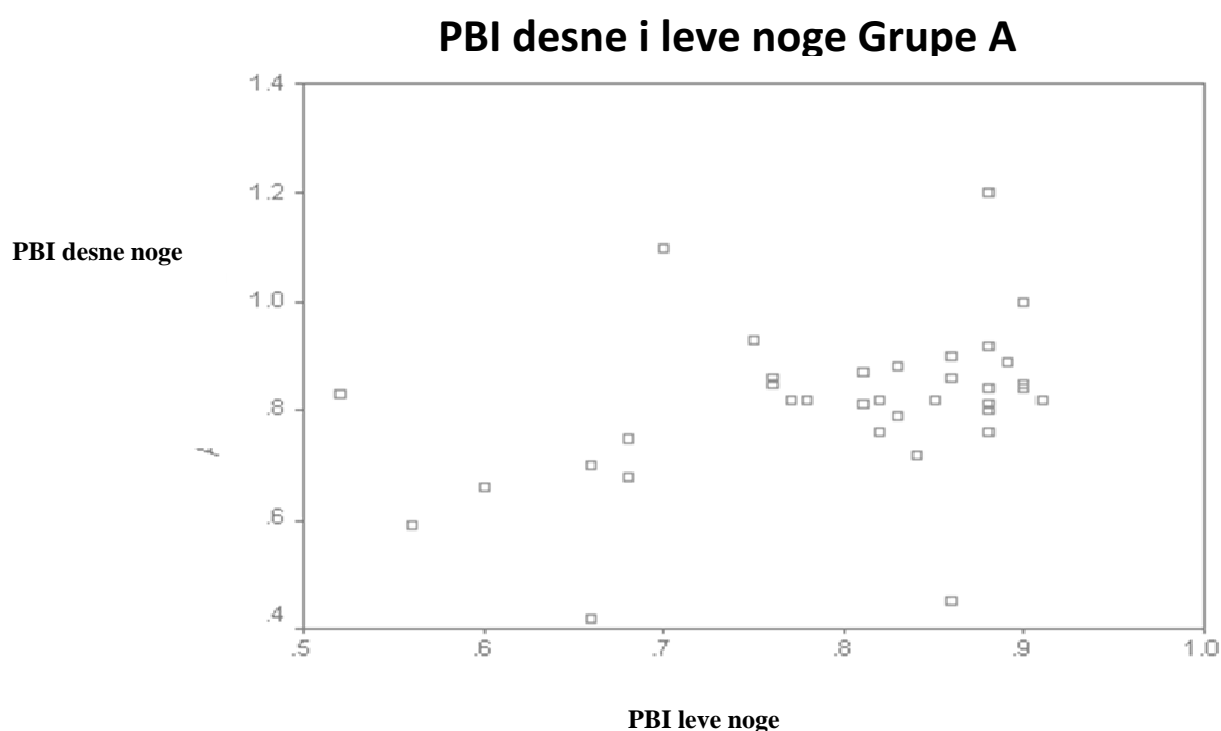
Značajnost razlike ispitivana je studentovim t -testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima non-HDL ($p=0.849$), TC/HDL ($p=0.904$) kao i Tg/HDL ($p=0.205$) nije nađena između ispitanika grupe A i B prilikom kontrolnog pregleda.

4.1.3. Korelacija pedo/brahijalnih indeksa desne i leve noge kod ispitanika grupe A

Kod ispitanika u grupi A na početku ispitivanja nije nađena statistički značajna korelacija vrednosti ABI desne i leve noge ($r=0.316$, $p=0.054$) (grafikon 8).

Izostanak korelacije pokazuje da je kod ispitanika sa PAB jednostrano sniženje ABI bilo predominantno.



r =Pirsonov koeficijent korelacije, p =verovatnoća

Grafikon 8. Korelacija između vrednosti PBI leve i desne noge kod ispitanika **grupe A** ($n=38$)

Značajnost korelacije ispitivana je Sberman-ovim testom.

Nije nađena statistički značajna korelacija u vrednostima PBI leve i desne noge kod ispitanika sa PAB (grupa A), na prvom pregledu ($r=0.316$, $p=0.054$).

Pet godina nakon prvog, prilikom kontrolnog pregleda shodno vrednostima PBI, svi ispitani pacijenti su podeljeni na podgrupe (A1, A2, B1 i B2) u zavisnosti od toga da li je došlo do progresije ili do razvoja PAB.

4.2. Osnovne karakteristike ispitanika u podgrupama A1, A2, B1 i B2

Podgrupa A1 je obuhvatala pacijente sa PAB kod kojih je došlo do progresije bolesti, odnosno do daljeg smanjenja PBI u odnosu na početnu vrednost. Podgrupa A2 je obuhvatala pacijente kod kojih nakon pet godina nije došlo do promene PBI.

Podgrupa B1 je obuhvatala pacijente bez PAB kod kojih je na kontrolnom pregledu posle pet godina utvrđeno postojanje bolesti na osnovu sniženih vrednosti PBI.

Podgrupa B2 je obuhvatala pacijente bez PAB, kod kojih ni nakon pet godina nije došlo do smanjenja PBI, odnosno nije konstatovano postojanje PAB.

Kod 8 ispitanih pacijenata iz Grupe A konstatovana je progresija PAB (podgrupa A1), a u grupi B kod 22 pacijenta je došlo do razvoja PAB (podgrupa B1).

Osnovne karakteristike ispitanih pacijenata u podgrupama, prikazane su u tabeli (tabela 4). Ispitanici svih podgrupa su bili poredivi u pogledu starosti i dužine trajanja dijabetesa, odnosno nije postojala statistički značajna razlika u navedenim varijablama.

Podgrupe A2 i B1 imale su statistički značajno veći broj ispitanika ženskog pola (tabela 4). Klaukacione tegobe su bile statistički značajno zastupljenije u podgrupama A1 i A2 (tabela 4).

Osnovne karakteristike ispitanih pacijenata u podgrupama, prikazane su u tabeli (tabela 4). Ispitanici svih podgrupa su bili poredivi u pogledu starosti i dužine trajanja dijabetesa, odnosno nije postojala statistički značajna razlika u navedenim varijablama.

Podgrupe A2 i B1 imale su statistički značajno veći broj ispitanika ženskog pola (tabela 4).

Klaukacione tegobe su bile statistički značajno zastupljenije u podgrupama A1 i A2 (tabela 4).

Tabela 4. Osnovne karakteristike ispitanika u podgrupama A1, A2, B1 i B2

<i>Karakteristike</i>	<i>Podgrupa A1 (n=8)</i>	<i>Podgrupa A2 (n=30)</i>	<i>Podgrupa B1 (n=22)</i>	<i>Podgrupa B2 (n=20)</i>	<i>p</i>
Pol (m/ž)*	5(62.5%)/ 3(37.5%)	9(30.0%)/ 21(70.0%)	4(18.2%)/ 18(81.8%)	14(70.0%)/ 6(30.0%)	0.002 ^a
Starost (godine)	62.9±4.3**	63.8±6.7**	62.2±8.2**	62.4±5.0**	0.704 ^b
Trajanje DM (godine)	8.0±2.3**	8.8±2.1**	8.0±1.7**	7.6±1.9**	0.787 ^b
Polineuropatija	1 (12.5%)	7 (23.3%)	1 (4.5%)	4 (20.0%)	0.238 ^a
Nefropatija	1 (12.5%)	3 (10.0%)	1 (4.5%)	0 (0.0%)	0.291 ^a
Hipertenzija	7 (87.5%)	23 (76.7%)	15 (68.2%)	14 (70.07%)	0.703 ^a
Koronarna bolest	3 (37.5%)	11 (36.7%)	9 (40.9%)	7 (35.0%)	0.982 ^a
Porodična anamneza za KVB	2 (25.0%)	15 (50.0%)	9 (40.9%)	11 (55.0%)	0.462 ^a
Klaudikacija	4 (50.0%)	19 (63.3%)	5 (22.7%)	7 (35.0%)	0.025 ^a
Retinopatija	2 (25.0%)	4 (13.3%)	1 (4.5%)	1 (5.0%)	0.337 ^a

*m=muški pol, ž=ženski pol, **rezultati su izraženi kao srednja vrednost i standardna devijacija (X±SD), ^ap vrednost za χ^2 test, ^bp vrednost za studentov t-test

4.2.1. Analiza ispitivanih parametara u podgrupama A1, A2, B1 i B2 pri prvom i kontrolnom pregledu

Pri prvom (116.88 ± 10.63 , vs. 105.08 ± 11.59 , $p=0.014$), tako i pri kontrolnom pregledu (112.50 ± 12.02 vs. 102.78 ± 8.17 , $p=0.010$), ispitanici podgrupe A1 su imali statistički značajno više vrednosti MAP u odnosu na ispitanike podgrupe A2 (tabele 5 i 6). Ispitanici podgrupe B1 su pri prvom pregledu imali statistički značajno više vrednosti Apo A1 u odnosu na ispitanike podgrupe B2 (1.71 ± 0.40 vs. 1.46 ± 0.24 , $p=0.022$) (tabela 7).

Između podgrupa A1 i A2, tako i između podgrupa B1 i B2 prilikom prvog i kontrolnog pregleda nisu nađene statistički značajne razlike u vrednostima lipoproteina i aterogenih indeksa (tabele 7 i 8, i grafikoni 9,10,11,12,13 i 14).

Tabela 5. Razlika između vrednosti ispitivanih parametara **podgrupe A1 i A2**, pri prvom pregledu

<i>Ispitivani parametri</i>	<i>Podgrupa A1^a</i>	<i>Podgrupa A2^a</i>	<i>Razlika između vrednosti ispitivanih parametara</i>
ITM (kg/m²)	29.57 ± 4.32	30.19 ± 4.44	p=0.727
OS (cm)	100.88 ± 13.11	102.47 ± 12.51	p=0.753
SKO	0.95 ± 0.07	0.95 ± 0.07	p=0.956
MAP	116.88 ± 10.63	105.08 ± 11.59	p=0.014 ^b
Glikemija (mmol/l)	9.04 ± 2.65	8.77 ± 3.11	p=0.823
HbA1c (%)	8.34 ± 1.68	7.98 ± 1.95	p=0.462
Holesterol (mmol/l)	6.04 ± 1.12	6.50 ± 1.62	p=0.455
Trigliceridi (mmol/l)	2.04 ± 0.76	2.71 ± 0.16	p=0.263
HDL (mmol/l)	1.19 ± 0.31	1.20 ± 0.24	p=0.901
LDL (mmol/l)	3.92 ± 0.85	4.08 ± 1.09	p=0.699
Apo A1	1.59 ± 0.35	1.64 ± 0.29	p=0.711
Apo B	1.09 ± 0.16	1.28 ± 0.35	p=0.140
Lp (a)	0.29 ± 0.27	0.31 ± 0.38	p=0.886
Non-HDL	4.85 ± 0.93	5.14 ± 1.57	p=0.619
TC/HDL	5.23 ± 1.04	5.48 ± 1.17	p=0.592
Tg/HDL	1.87 ± 0.93	2.35 ± 1.39	p=0.361
Insulinemija (mIU/l)	18.98 ± 6.23	22.15 ± 7.03	p=0.254
HOMA-IR	7.71 ± 3.40	8.58 ± 3.87	p=0.568
CRP (mg/l)	4.69 ± 2.69	3.94 ± 2.28	p=0.432

^a rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna devijacija, $X \pm SD$; ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom

Tabela 6 . Razlika između vrednosti ispitivanih parametara podgrupe A1 i A2, pri kontrolnom pregledu

Ispitivani parametri	Podgrupa A1^a	Podgrupa A2^a	Razlika između vrednosti ispitivanih parametara
ITM (kg/m²)	29.59 ± 4.37	30.19 ± 4.55524	p=0.742
OS (cm)	101.38 ± 13.31	103.48 ± 11.80	p=0.664
SKO	0.95 ± 0.07	0.95 ± 0.07	p=0.934
MAP	112.50 ± 12.02	102.78 ± 8.17	p=0.010 ^b
Glikemija (mmol/l)	9.42 ± 1.28	9.87 ± 1.33	p=0.567
HbA1c (%)	7.72 ± 1.19	7.44 ± 1.14	p=0.558
Holesterol (mmol/l)	5.94 ± 0.99	6.27 ± 1.14	p=0.464
Trigliceridi (mmol/l)	2.09 ± 0.72	2.50 ± 1.25	p=0.387
HDL (mmol/l)	1.27 ± 0.31	1.25 ± 0.26	p=0.808
LDL (mmol/l)	3.98 ± 0.65	4.08 ± 0.98	p=0.787
Apo A1	1.65 ± 0.33	1.73 ± 0.38	p=0.591
Apo B	1.14 ± 0.19	1.23 ± 0.37	p=0.519
Lp (a)	0.29 ± 0.25	0.30 ± 0.38	p=0.973
non-HDL	4.79 ± 0.89	4.87 ± 1.13	p=0.866
TC/HDL	4.89 ± 0.98	5.18 ± 1.09	p=0.512
Tg/HDL	1.75 ± 0.79	2.07 ± 0.97	p=0.389
Insulinemija (mIU/l)	19.60 ± 5.03	21.33 ± 5.92	p=0.456
HOMA-IR	6.70 ± 2.77	7.5227 ± 2.33	p=0.398
CRP (mg/l)	5.05 ± 1.79	4.37 ± 1.95	p=0.379

^a-svi rezultati su izraženi kao srednja vrednost±standardna devijacija, $X\pm SD$; ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom

Tabela 7. Razlika između vrednosti ispitivanih parametara **podgrupe B1 i B2**, pri prvom pregledu

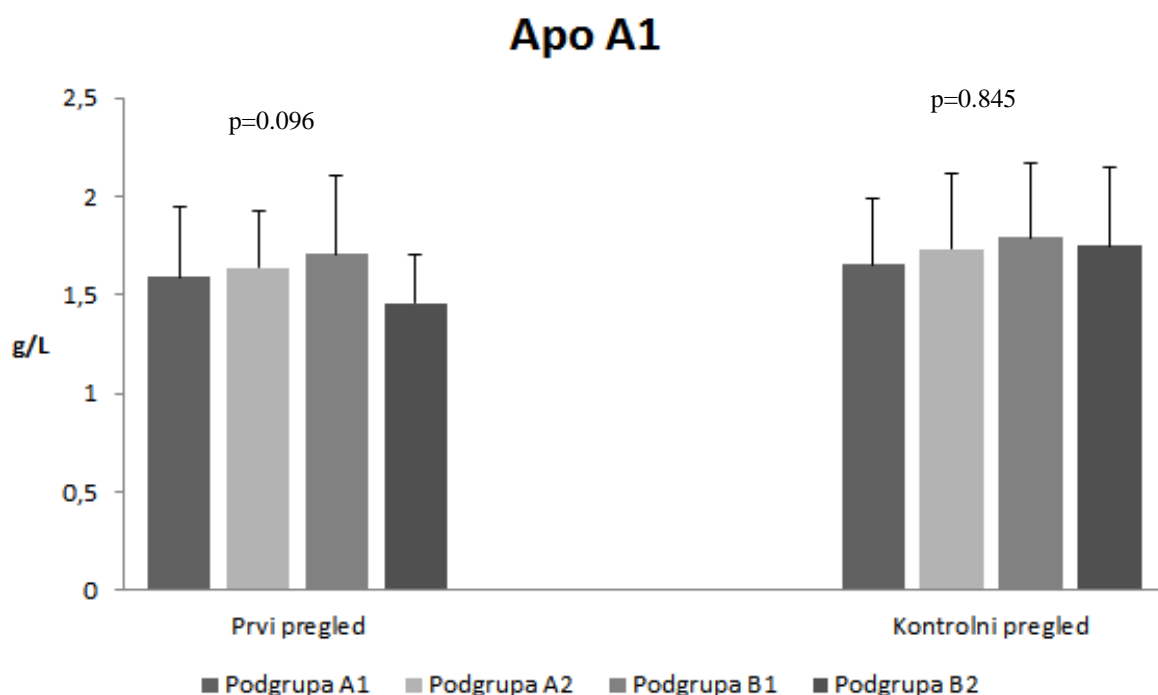
<i>Ispitivani parametri</i>	<i>Podgrupa B1^a</i>	<i>Podgrupa B2^a</i>	<i>Razlika između vrednosti ispitivanih parametara</i>
ITM (kg/m²)	29.17 ± 4.19	28.91 ± 3.56	p=0.835
OS (cm)	94.64 ± 8.88	98.65 ± 10.38	p=0.184
SKO	0.91 ± 0.07	0.94 ± 0.09	p=0.182
MAP	104.05 ± 15.82	103.45 ± 10.64	p=0.888
Glikemija (mmol/l)	8.01 ± 2.49	9.22 ± 2.59	p=0.131
HbA1c (%)	7.55 ± 1.76	7.61 ± 1.53	p=0.922
Holesterol (mmol/l)	6.41 ± 1.66	6.04 ± 1.35	p=0.430
Trigliceridi (mmol/l)	2.34 ± 1.31	3.35 ± 3.73	p=0.241
HDL (mmol/l)	1.27 ± 0.26	1.12 ± 0.32	p=0.091
LDL (mmol/l)	4.12 ± 1.36	3.91 ± 1.05	p=0.580
Apo A1	1.70 ± 0.40	1.46 ± 0.24	p=0.022 ^b
Apo B	1.25 ± 0.44	1.17 ± 0.29	p=0.522
Lp (a)	0.23 ± 0.20	0.23 ± 0.21	p=0.998
non-HDL	5.06 ± 1.73	4.92 ± 1.40	p=0.780
TC/HDL	5.23 ± 1.44	5.73 ± 3.16	p=0.501
Tg/HDL	1.99 ± 1.27	3.06 ± 3.25	p=0.163
Insulinemija (mIU/l)	20.68 ± 8.10	24.01 ± 12.88	p=0.318
HOMA-IR	7.77 ± 4.85	9.80 ± 5.63	p=0.215
CRP (mg/l)	4.04 ± 2.56	2.05 ± 1.06	p=0.003 ^b

^a-svi rezultati su izraženi kao srednja vrednost±standardna devijacija, $X\pm SD$; ^b statistički značajna razlike između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom

Tabela 8 . Razlika između vrednosti ispitivanih parametara podgrupe B1 i B2, pri kontrolnom pregledu

<i>Ispitivani parametri</i>	<i>Podgrupa B1^a</i>	<i>Podgrupa B2^a</i>	<i>Razlika između vrednosti ispitivanih parametara</i>
ITM (kg/m²)	29.29 ± 4.27	28.87 ± 3.95	p=0.740
OS (cm)	97.68 ± 9.22	100.55 ± 9.94	p=0.338
SKO	0.92 ± 0.08	0.96 ± 0.08	p=0.116
MAP	103.19 ± 13.14	104.97 ± 9.21	p=0.619
Glikemija (mmol/l)	8.58 ± 2.67	8.98 ± 1.92	p=0.581
HbA1c (%)	7.70 ± 1.39	7.74 ± 1.72	p=0.950
Holesterol (mmol/l)	6.32 ± 1.49	6.21 ± 1.33	p=0.798
Trigliceridi (mmol/l)	2.72 ± 2.21	3.32 ± 3.39	p=0.498
HDL (mmol/l)	1.36 ± 0.34	1.18 ± 0.29	p=0.079
LDL (mmol/l)	4.08 ± 1.36	4.09 ± 1.17	p=0.953
Apo A1	1.79 ± 0.38	1.75 ± 0.40	p=0.710
Apo B	1.28 ± 0.43	1.23 ± 0.29	p=0.699
Lp (a)	0.23 ± 0.19	0.24 ± 0.27	p=0.972
non-HDL	4.84 ± 1.76	4.99 ± 1.15	p=0.745
TC/HDL	4.87 ± 1.65	5.48 ± 1.69	p=0.238
Tg/HDL	2.26 ± 2.47	3.12 ± 3.61	p=0.369
Insulinemija (mIU/l)	21.41 ± 9.26	21.88 ± 8.89	p=0.869
HOMA-IR	8.65 ± 5.72	8.72 ± 3.21	p=0.964
CRP (mg/l)	5.16 ± 2.39	2.43 ± 0.85	p<0.001 ^b

^a-svi rezultati su izraženi kao srednja vrednost±standardna greška, $X\pm SE$; ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom



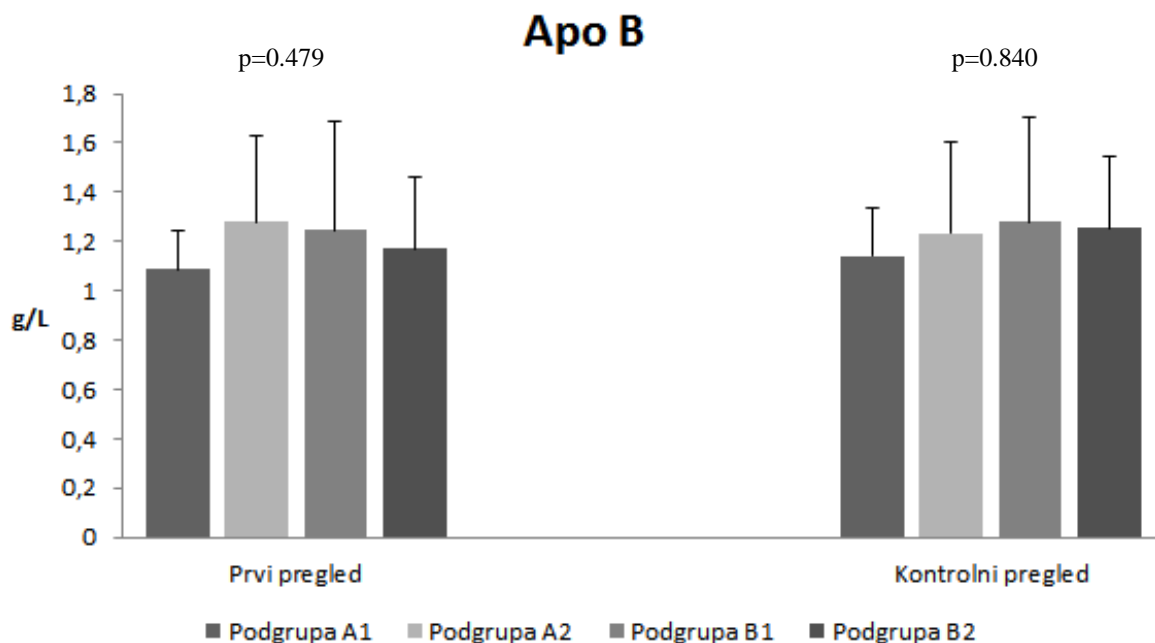
Grafikon 9. Vrednosti Apo A1 u podgrupama A1 ($n=8$), A2 ($n=10$), B1 ($n=22$) i B2 ($n=20$) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Lipoproteinske frakcije, Lp(a), Apo A1, Apo B, određivane su nefelometrijski na Behring nefelometrima.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je ANOVA testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima Apo A1-prvi pregled ($p=0.096$), Apo A1-kontrolni pregled ($p=0.845$) nije nađena između ispitanika podgrupe A1, A2, B1 i B2.



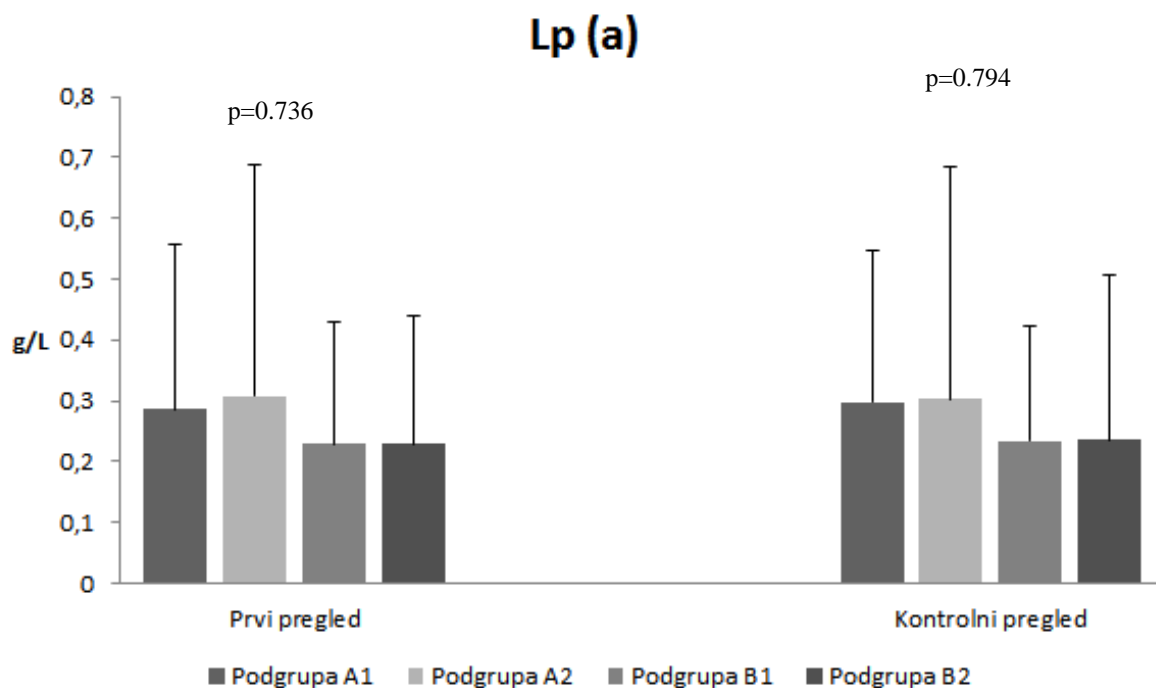
Grafikon 10. Vrednosti Apo B u **podgrupama A1** ($n=8$), **A2** ($n=10$), **B1** ($n=22$) i **B2** ($n=20$) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Lipoproteinske frakcije, $Lp(a)$, Apo A1, Apo B, određivane su nefelometrijski na Behring nefelometrima.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je ANOVA testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima Apo B-prvi pregled ($p=0.479$), Apo B-kontrolni pregled ($p=0.840$) nije nađena između ispitanika podgrupe A1, A2, B1 i B2.



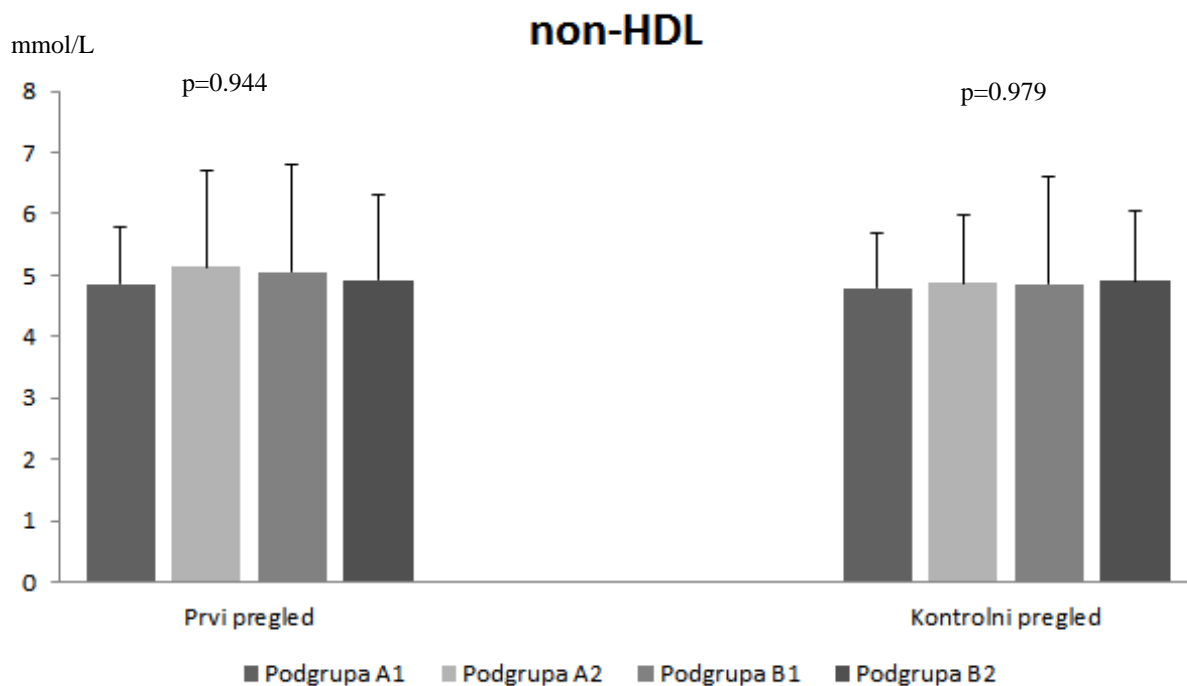
Grafikon 11. Vrednosti Lp(a) u **podgrupama A1** (n=8), **A2** (n=10), **B1** (n=22) i **B2** (n=20) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Lipoproteinske frakcije, Lp(a), Apo A1, Apo B, određivane su nefelometrijski na Behring nefelometrima.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je ANOVA testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima Lp(a)-prvi pregled ($p=0.736$), Lp(a)-kontrolni pregled ($p=0.794$) nije nađena između ispitanika podgrupe A1, A2, B1 i B2.



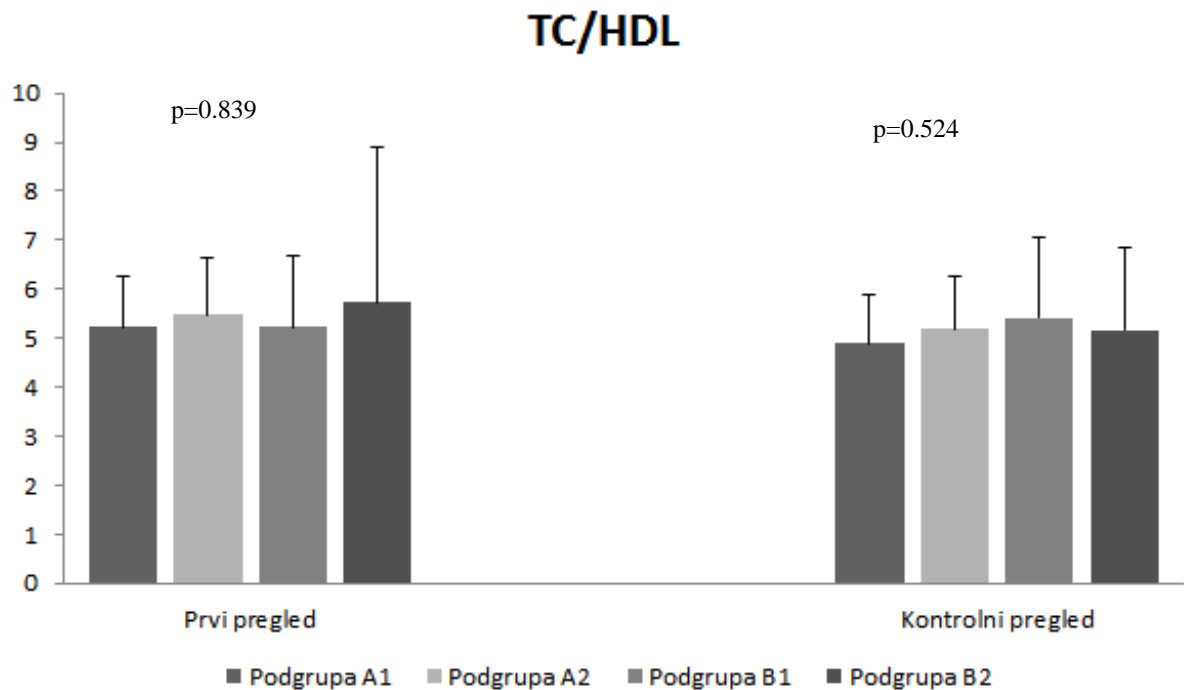
Grafikon 12. Vrednosti non-HDL u **podgrupama A1** ($n=8$), **A2** ($n=10$), **B1** ($n=22$) i **B2** ($n=20$) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Preračunavan je aterogeni indeks: non-HDL-holesterol izražen u mmol/L (razlika između ukupnog i HDL-holesterola).

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je ANOVA testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima non-HDL-pri pregled ($p=0.979$), non-HDL-kontrolni pregled ($p=0.904$) nije nađena između ispitanika podgrupa A1, A2, B1 i B2.



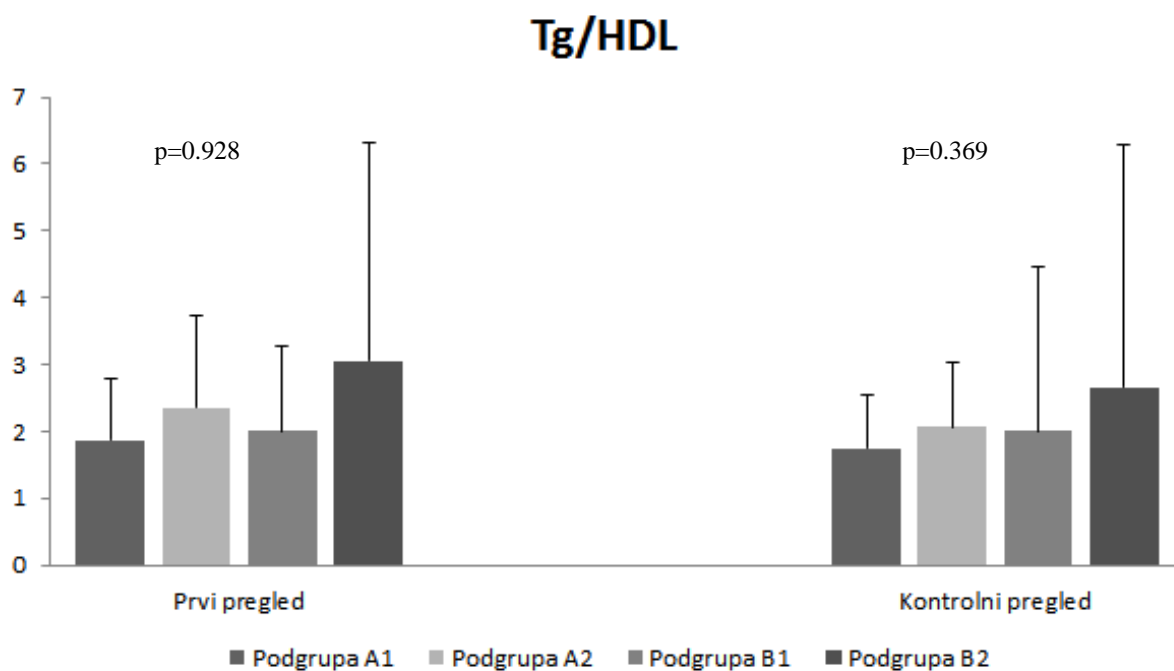
Grafikon 13. Vrednosti TC/HDL u **podgrupama A1** ($n=8$), **A2** ($n=10$), **B1** ($n=22$) i **B2** ($n=20$) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Preračunavan je aterogeni indeks: ukupni holesterol/HDL-holesterol.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike ispitivana je ANOVA testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima TC/HDL-pri pregled ($p=0.839$), TC/HDL-kontrolni pregled ($p=0.524$) nije nađena između ispitanika podgrupa A1, A2, B1 i B2.



Grafikon 14. Vrednosti Tg/HDL u **podgrupama A1** ($n=8$), **A2** ($n=10$), **B1** ($n=22$) i **B2** ($n=20$) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Preračunavan je aterogeni indeks: trigliceridi/HDL-holesterol.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

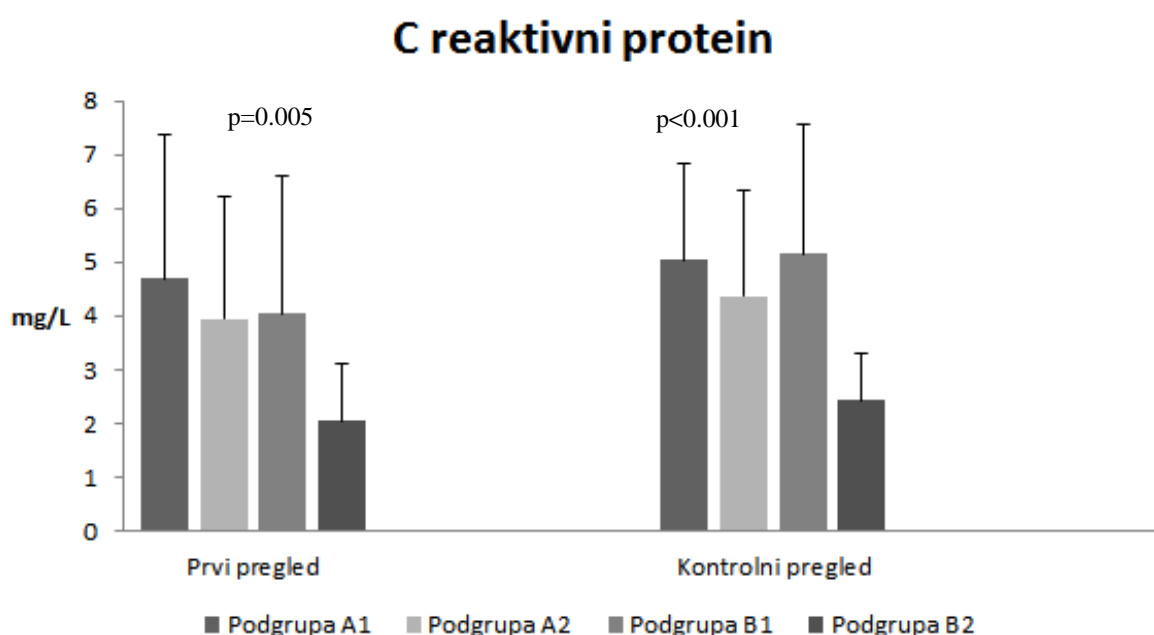
Značajnost razlike ispitivana je ANOVA testom.

Statistički značajna razlika u vrednostima Tg/HDL-pri pregled ($p=0.928$), Tg/HDL-kontrolni pregled ($p=0.369$) nije nađena između ispitanika podgrupa A1, A2, B1 i B2.

4.2.2. C-reaktivni protein kod ispitanika u podgrupama A1, A2, B1 i B2

Vrednosti CRP su i pri prvom (4.0382 ± 2.56318 vs. 2.0525 , $p=0.003$) i pri kontrolnom pregledu (5.16 ± 2.39 vs. 2.43 ± 0.85 , $p<0.001$) bile statistički značajno više kod ispitanika podgrupe B1 u odnosu na podgrupu B2 (tabele 7 i 8).

Ustanovljeno je da su ispitanici podgrupe B2 imali najnižu vrednost CRP kako pri prvom tako i pri kontrolnom pregledu.



Grafikon 15. Vrednosti CRP u podgrupama A1 ($n=8$), A2 ($n=10$), B1 ($n=22$) i B2 ($n=20$) pri prvom i kontrolnom pregledu (pet godina nakon prvog pregleda).

Analiza CRP-a visokosenzitivnom metodom uz korišćenje komercijalnih imunoesej kitova Siemens Helathcare® uz testove koji su rađeni na Behring Nefelometrijskom Analizatoru II®.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija.

Značajnost razlike je ispitivana ANOVA testom.

Statistički značajna razlika između ispitanika grupe A i B prilikom je nađena i prilikom prvog ($p=0.005$) i kontrolnog pregleda ($p=0.001$) između ispitanika u podgrupama A1, A2, B1 i B2.

Korišćenjem jednosmerne analize varijanse, ANOVA, prilikom prvog pregleda utvrđena je statistički značajna razlika u vrednostima CRP između ispitanika podgrupa A1, A2, B1 i B2 (4.69 ± 0.95 vs. 3.94 ± 0.42 vs. 4.04 ± 0.55 vs. 2.05 ± 0.24 , $p=0.005$), tako i pri kontrolnom pregledu (5.05 ± 1.79 vs. 4.37 ± 1.95 vs. 5.16 ± 2.39 vs. 2.43 ± 0.85 , $p<0.001$).

Iz navedenih rezultata se vidi da su ispitanici podgrupe A1 imali najviše, a ispitanici podgrupe B2 najniže vrednosti CRP (grafikon 15). Primenom post hoc testova ustanovljeno je, takođe, da je između podgrupe B2 i ostalih podgrupa postojala statistički značajna razlika u vrednostima CRP ($p<0.05$), kao i da između podgrupa A1, A2 i B1 nije postojala statistički značajna razlika u vrednostima CRP ($p>0.05$).

4.3. Analiza ispitanika u podgrupama prema razvoju i/ili progresiji periferne arterijske bolesti

U daljem postupku ispitanike podgrupa sa PAB (A1,A2 i B1), poredili smo sa ispitanicima podgrupe koja na početku ispitivanja kao ni posle pet godina nije imala PAB (podgrupa B2) sa ciljem utvrđivanja koja od ispitivanih varijabli može imati začaj za predikciju postojanja, razvoja i progresije PAB.

Između ispitanika A1, A2 i B1 sa jedne strane i ispitanika podgrupe B2 sa druge strane postojala je statistički značajna razlika samo u broju ispitanika muškog, odnosno ženskog pola ($18/42$ vs. $14/6$, $p=0.002$).

Ispitanici se nisu statistički značajno razlikovali u pogledu starosti, dužine trajanja dijabetesa, postojanja polineuropatije, nefropatije, retinopatije, koronarne bolesti i porodične anamneze za kardiovaskularne bolesti (tabela 9).

Korišćenjem studentovog t-testa poredili smo ispitivane varijable pri prvom i kontrolnom pregledu kod ispitanika podgrupa A1, A2 i B1 sa jedne strane i kod ispitanika podgrupe B2 sa druge strane i ustanovili da je postojala statistički značajna razlika samo u vrednostima CRP (4.09 ± 2.35 vs. 3.0926 ± 2.21 , $p=0.001$), (4.74 ± 2.11 vs. 2.43 ± 0.85 , $p<0.000$) (tabela 10, 11 i grafikon 16.).

Tabela 9. Osnovne karakteristike ispitanika podgrupa A1, A2, B1 i podgrupe B2

Karakteristike	Podgrupe A1, A2, B1 (n=60)	Podgrupa B2 (n=20)	p
Pol (m/ž)*	18 (30.0%)/42 (70.0%)	14 (70.0%)/6 (30.0%)	0.002 ^a
Starost (godine)	63.1±6.9**	62.4±5.0**	0.084 ^b
Trajanje DM (godine)	7.8±1.9**	7.6±1.8**	0.464 ^b
Polineuropatija	9 (15.0%)	4 (20.0%)	0.600 ^a
Nefropatija	5 (8.3%)	0 (0.0%)	0.182 ^a
Hipertenzija	45 (75.0%)	14 (70.0%)	0.660 ^a
Koronarna bolest	23 (38.3%)	7 (35.0%)	0.790 ^a
Porodična anamneza za KVB	26 (43.3%)	11 (55.0%)	0.365 ^a
Klaudikacija	28 (46.7%)	7 (35.0%)	0.362 ^a
Retinopatija	7 (11.7%)	1 (5.0%)	0.389 ^a

**m=muški pol, ž=ženski pol, **rezultati su izraženi kao srednja vrednost i standardna devijacija (X±SD), ^ap vrednost za X² test, ^bp vrednost za studentov t-test*

Prilikom prvog pregleda nađena je statistički značajna razlika u vrednostima Apo A1 (p=0.019) između ispitanika sa PAB (podgrupe A1, A2, B1) i ispitanika bez PAB (podgrupa B2), pri čemu su ispitanici sa PAB imali više vrednosti Apo A1 (tabela 10).

Prilikom kontrolnog pregleda nije našena statistički značajna razlika ispitivanih parametara (izuzev CRP) između ispitanika sa PAB (podgrupe A1, A2, B1) i ispitanika bez PAB (podgrupa B2) (tabela 11).

Tabela 10. Razlika između vrednosti ispitivanih parametara podgrupe A1, A2, B1 i podgrupe B2, pri prvom pregledu

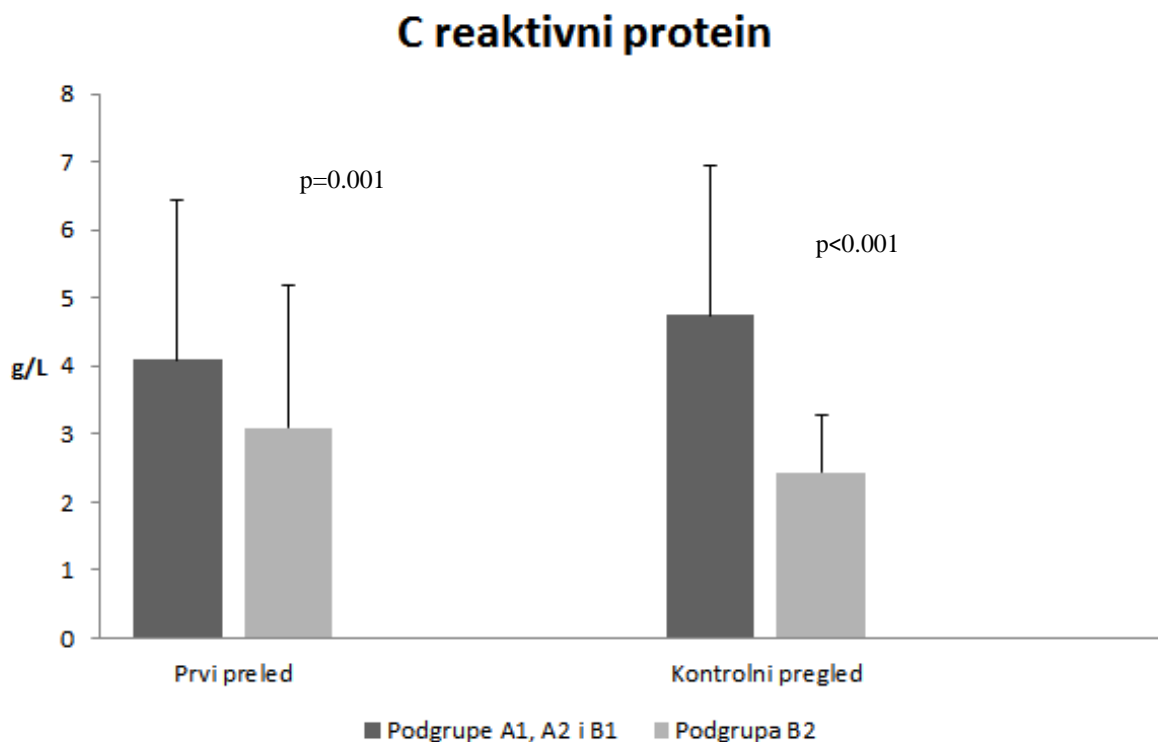
Ispitivani parametri	Podgrupe A1, A2, B1^a	Podgrupa B2^a	Razlika između vrednosti ispitivanih parametara
ITM (kg/m²)	29.73 ± 4.29	28.91 ± 3.56	p=0.443
OS (cm)	99.38 ± 11.78	98.65 ± 10.38	p=0.805
SKO	0.93 ± 0.07	0.94 ± 0.09	p=0.765
MAP	106.27 ± 13.65	103.45 ± 10.64	p=0.402
Glikemija (mmol/l)	8.53 ± 2.82	9.22 ± 2.59	p=0.334
HbA1c (%)	7.87 ± 1.84	7.61 ± 1.53	p=0.558
Holesterol (mmol/l)	6.41 ± 1.56	6.04 ± 1.35	p=0.346
Trigliceridi (mmol/l)	2.48 ± 1.41	3.35 ± 3.73	p=0.134
HDL (mmol/l)	1.23 ± 0.26	1.12 ± 0.32	p=0.125
LDL (mmol/l)	4.08 ± 1.15	3.91 ± 1.05	p=0.569
Apo A1 (g/L)	1.66 ± 0.34	1.46 ± 0.24	p=0.019
Apo B (g/L)	1.24 ± 0.37	1.17 ± 0.29	p=0.434
Lp (a) (g/L)	0.28 ± 0.31	0.23 ± 0.21	p=0.539
non-HDL (mmol/L)	5.07 ± 1.55	4.92 ± 1.40	p=0.699
TC/HDL	5.35 ± 1.25	5.73 ± 3.16	p=0.440
Tg/HDL	2.16 ± 1.29	3.06 ± 3.25	p=0.077
Insulinemija (mIU/l)	21.19 ± 7.31	24.01 ± 12.88	p=0.228
HOMA-IR	8.17 ± 4.16	9.80 ± 5.63	p=0.168
CRP (mg/l)	4.09 ± 2.36	3.09 ± 2.21	p=0.001 ^b

^a rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna devijacija, $X \pm SD$, ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom

Tabela 11. Razlika između vrednosti ispitivanih parametara *podgrupe A1, A2, B1 i podgrupe B2*, pri kontrolnom pregledu

Ispitivani parametri	Podgrupe A1, A2, B1^a	Podgrupa B2^a	Razlika između vrednosti ispitivanih parametara
ITM (kg/m²)	29.79 ± 4.38	28.87 ± 3.95	p=0.409
OS (cm)	101.08 ± 11.27	100.55 ± 9.94	p=0.853
SKO	0.94 ± 0.08	0.96 ± 0.08	p=0.328
MAP	104.23 ± 11.05	104.97 ± 9.21	p=0.789
Glikemija (mmol/l)	9.11 ± 7.47	8.98 ± 1.92	p=0.938
HbA1c (%)	7.57 ± 1.23	7.74 ± 1.72	p=0.650
Holesterol (mmol/l)	6.25 ± 1.25	6.21 ± 1.33	p=0.911
Trigliceridi (mmol/l)	2.53 ± 1.61	3.32 ± 3.39	p=0.166
HDL (mmol/l)	1.29 ± 0.29	1.18 ± 0.29	p=0.153
LDL (mmol/l)	4.06 ± 1.09	4.09 ± 1.17	p=0.906
Apo A1 (g/L)	1.74 ± 0.37	1.75 ± 0.40	p=0.982
Apo B (g/L)	1.24 ± 0.38	1.23 ± 0.29	p=0.965
Lp (a) (g/L)	0.28 ± 0.30	0.24 ± 0.27	p=0.592
non-HDL (mmol/L)	4.85 ± 1.36	4.99 ± 1.15	p=0.676
TC/HDL	5.03 ± 1.30	5.48 ± 1.69	p=0.213
Tg/HDL	2.09 ± 1.65	3.12 ± 3.61	p=0.088
Insulinemija (mIU/l)	21.13 ± 7.15	21.88 ± 8.89	p=0.703
HOMA-IR	7.83 ± 3.96	8.72 ± 3.21	p=0.364
CRP (mg/l)	4.75 ± 2.11	2.43 ± 0.85	p<0.000 ^b

^a rezultati su izraženi kao srednja vrednost ± standardna devijacija, $X \pm SD$, ^b statistički značajna razlika između ispitivanih parametara utvrđena studentovim t-testom



Grafikon 16. CRP kod ispitanika **podgrupa A1, A2, B1**(sa PAB, $n=60$) i ispitanika **podgrupe B2** (bez PAB, $n=20$)

Analiza CRP-a visokosenzitivnom metodom uz korišćenje komercijalnih imunoesej kitova Siemens Helathcare® uz testove koji su rađeni na Behring Nefelometrijskom Analizatoru II®.

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm sandardna devijacija.

Značajnost razlike je ispitivana studentovim *t*-testom.

Statistički značajna razlika između ispitanika podgrupe A1, A2, B1 (sa PAB) i B2 (bez PAB) je nađena i prilikom prvog ($p=0.053$) iprilikom kontrolnog pregleda ($p=0.174$).

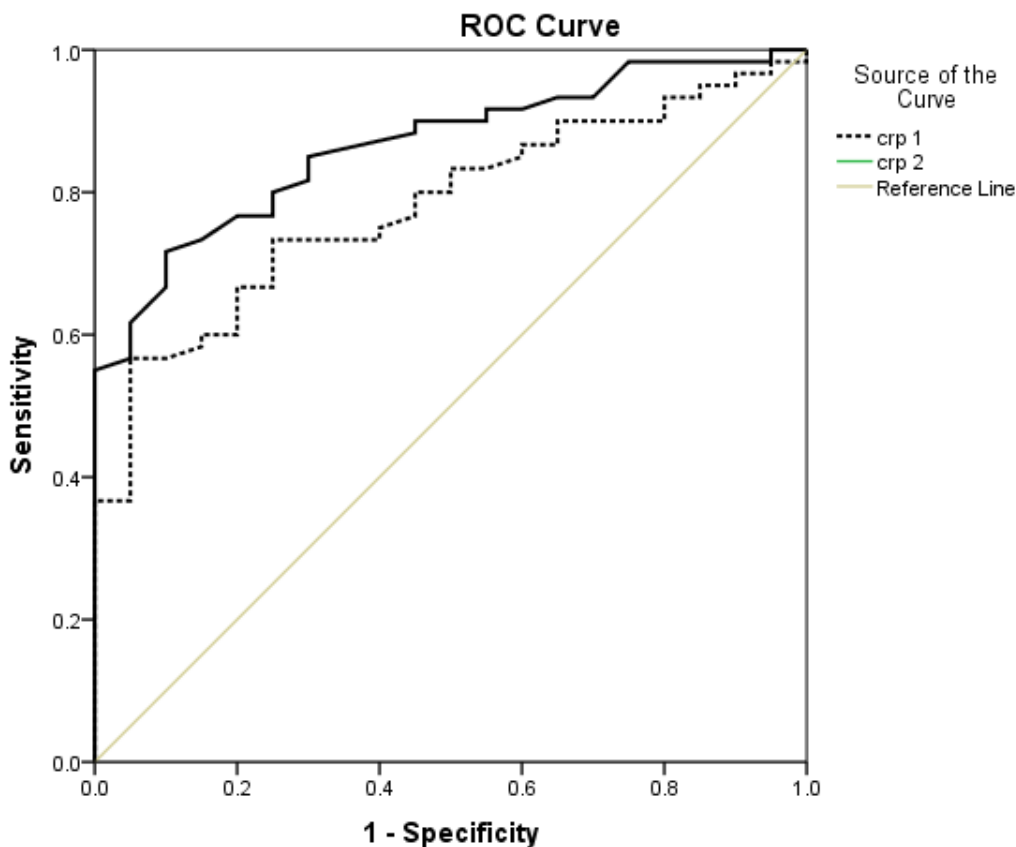
4.4. Određivanje tačke preseka za C-reaktivni protein

U daljem ispitivanju urađena je analiza ROC krive (grafikon 17) i tačke preseka (engl. *cut off point*), kao i analiza specifičnosti i senzitivnosti dobijene tačke preseka za hs-CRP korišćenjem PN odnosa (odnos između pozitivne i negativne prediktivne vrednosti, PPV/ NPV). Ustanovljeno je da za CRP tačka preseka iznosi 2.5 mg/L.

Tabela 12. Area ispod krive (AUC) ispitivanih parametara kod pacijenata sa PAB (*podgrupe A1, A2, B1, n=60*) i ispitanika bez PAB (*podgrupa B2, n=20*)

Ispitivani parametri		AUC		
		AUC	(95%CI)	<i>p</i> -vrednost
Glikemija (mmol/L)	Prvi pregled	.401	.254-.549	.188
	Kontrlni pregled	.382	.238-.525	.115
HbA1c (%)	Prvi pregled	.530	.389-.672	.685
	Kontrlni pregled	.498	.323-.672	.973
Holesterol (mmo/L)	Prvi pregled	.546	.402-.672	.537
	Kontrlni pregled	.510	.362-.658	.894
Trigliceridi (mmol/L)	Prvi pregled	.475	.313-.637	.739
	Kontrlni pregled	.509	.348-.670	.903
HDL holesterol (mmol/L)	Prvi pregled	.643	.498-.788	.057
	Kontrlni pregled	.620	.473-.767	.110
LDL holesterol (mmol/L)	Prvi pregled	.548	.403-.694	.519
	Kontrlni pregled	.507	.358-.656	.925
Insulinemija (mIU/L)	Prvi pregled	.455	.296-.613	.545
	Kontrlni pregled	.525	.370-.679	.743
HOMA IR	Prvi pregled	.406	.260-.552	.209
	Kontrlni pregled	.396	.253-.539	.167
hs-CRP (mg/L)	Prvi pregled	.780	.678-.882	.000
	Kontrlni pregled	.866	.787-.945	.000

AUC-eng. area under the receiver-operating curve-area ispod krive; ^d*CI*-interval poverenja; *hs-CRP*-visoko senzitivni C-reaktivni protein, *HOMA-IR*-*HOMA* indeks insulinske rezistencije



Diagonal segments are produced by ties.

Grafikon 17. ROC kriva za hs-CRP pri prvom pregledu (CRP1), $AUC=0.780$, 95%CI, 0.678-0.882, $p=0.000$, i kontrolnom pregledu (CRP 2) između pacijenata sa PAB (**podgrupe A1, A2, B1**, $n=60$), naspram pacijenata bez PAB (**podgrupa B2**, $n=20$), $AUC=0.866$, 95% CI, .787-0.945, $p=0.000$.

Multivarijantna logistička regresiona analiza ‘*stepwise forward*’ metod pokazao je da je hs-CRP jedini značajni mogući predictor PAB (HR=1.961, 95%CI=1.295-2.976, $p=0.001$).

Pored toga, od svih ispitivanih metaboličkih parametara, hs-CRP je bio jedini nezavisni predictor razvoja i progresije PAB u ROC analizi ($AUC=0.780$, SE=0.052, 95%CI=0.678-0.882, $p=0.000$) (Tabela 12, Grafikon 17).

Preračunata tačka preseka za hs-CRP je bila 2.5 mg/L, sa specifičnošću od 75% i senzitivnošću od 73.3% ($\chi^2 = 14.76$, $p < 0.001$).

Takođe, tačka preseka za hs-CRP je testirana i Cochran Mantel-Haenszel metodom korišćenim za diferenciranje pacijenata sa (podgrupe A1, A2, B1) i bez PAB (podgrupa B2).

Za dobijenu tačku preseka za hs-CRP preračunati OR iznosio je 8.25 (95% CI=2.58-26.39, $p < 0.000$), što ukazuje da je relativni rizik za PAB približno tri puta veći kada je vrednost hs-CRP jednaka ili veća od 2.5 mg/L (RR=2.933, 95% CI 1.35-6.36).

4.5. Vrednosti C-reaktivnog proteina u zavisnosti od stepena periferne arterijske bolesti

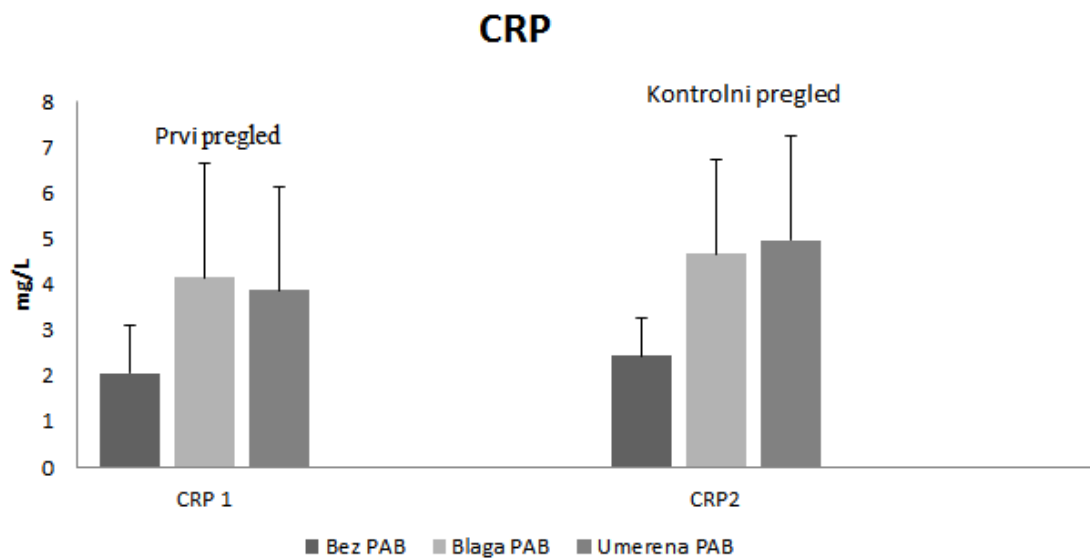
Grafikon 18. prikazuje vrednosti CRP-a kod pacijenata bez PAB, sa blagom i sa umerenom PAB. Prikazani rezultati potvrđuju da je kod pacijenata bez PAB nađena najniža vrednost CRP-a u poređenju sa ispitanicima sa blagom i umerenom PAB (2.05 ± 1.05 vs. 4.15 ± 2.49 vs. 3.87 ± 2.26 , $p=0.002$) prilikom prvog pregleda.

Takođe i prilikom kontrolnog pregleda nađena je statistički značajna razlika u vrednostima CRP-a između ispitanika bez PAB, sa blagom PAB i umerenom PAB (2.43 ± 0.84 vs. 4.66 ± 2.05 vs. 4.96 ± 2.88 , $p < 0.001$).

Prilikom prvog pregleda ustanovljeno je postojanje statistički značajne razlike vrednosti CRP između ispitanika bez PAB i ispitanika sa blagom PAB (2.05 ± 1.05 vs. 4.15 ± 2.49 , $p=0.001$), kao i između ispitanika bez PAB i ispitanika sa umerenom PAB (2.05 ± 1.05 vs. 3.87 ± 2.26 , $p=0.013$), međutim između ispitanika sa blagom i umerenom PAB nije nađena statistički značajna razlika u vrednostima CRP (4.15 ± 2.49 vs. 3.87 ± 2.26 , $p=0.654$).

Prilikom kontrolnog pregleda kao i prilikom prvog, nađena je statistički značajna razlika vrednosti CRP između ispitanika bez PAB i sa blagom PAB (2.43 ± 0.84 vs. 4.66 ± 2.05 , $p < 0.001$), tako i između ispitanika bez PAB i ispitanika sa umerenom PAB (2.43 ± 0.84 vs. 4.96 ± 2.88 , $p < 0.001$).

Između ispitanika sa blagom i umerenom PAB nije nađena statistički značajna razlika vrednosti CRP prilikom kontrolnog pregleda (4.66 ± 2.05 vs. 4.96 ± 2.88 , $p=0.570$).



Grafikon 18. C-reaktivni protein u zavisnosti od stepena PAB (bez PAB, sa blagom PAB i sa umerenom PAB).

Analiza CRP-a visokosenzitivnom metodom uz korišćenje komercijalnih imunoesej kitova Siemens Helathcare® uz testove koji su rađeni na Behring Nefelometrijskom Analizatoru II®. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm sandardna devijacija.

Značajnost razlike je ispitivana ANOVA testom.

Prilikom prvog pregleda nađena je statističk značajna razlika u vrednostima hs-CRP-a među ispitanicima bez PAB i sa blagom i umerenom PAB ($p=0.002$)

Prilikom kontrolnog pregleda nađena je statistički značajna razlika u vrednostima hs-CRP-a između ispitanika bez PAB, sa blagom PAB i umerenom PAB ($p<0.001$)

5. DISKUSIJA

S obzirom da tradicionalni faktori rizika kao što su hiperlipidemija, hiperglikemija i pušenje ne objašnjavaju u potpunosti zašto se PAB češće javlja i ima težu kliničku sliku kod pacijenata sa dijabetesom, kao i s obzirom da je ateroskleroza u osnovi inflamatorni proces namera ovog ispitivanja je bila da se, pre svega, utvrdi mogućnost korišćenja CRP i/ili lipida kao markera za PAB kod pacijenata sa T2D. U literaturi postoji veoma mali broj podataka o ulozi CRP i lipida kao prediktora nastanka i progresije PAB kod pacijenata sa T2D, pa će i naši rezultati biti diskutovani u svetlu tih saznanja.

Rezultati našeg ispitivanja nedvosmisleno pokazuju da se CRP može koristiti kao marker postojanja, razvoja i progresije PAB kod pacijenata sa dijabetesom tip 2 i da se sa velikom verovatnoćom može koristiti i kao prediktor za PAB. Shodno dobijenim rezultatima, za razliku od CRP, ustanovljeno je da se lipidni biomarkeri (holesterol, trigliceridi, LDL holesterol i lipoproteini) ne mogu koristiti kao prediktori za PAB.

Nedostaci ovog ispitivanja se sastoje pre svega u relativno malom broju ispitanika (80 ispitanika, 32 muškog i 48 ženskog pola) i kratkoj dužini praćenja (5 godina) da bi se mogao izvesti definitivni zaključak. Ispitanike je trebalo pratiti od samog početka, odnosno od momenta postavljanja dijagnoze dijabetesa pa na dalje do otkrivanja PAB i dalje kako bi se utvrdilo da li je povećanje nivoa CRP predhodilo razvoju PAB ili se javlja kao prateća pojava već uspostavljene PAB. Takođe, pored analize CRP trebalo je sprovesti analizu i drugih inflamatornih markera kao što su IL-6, TNF- α , sICAM-1, p-selektin, koji su poznati markeri inflamacije niskog intenziteta u vaskularnom zidu (engl. *low-grade inflammation*). Radi analize hs-CRP trebalo je obaviti dva merenja u razmaku od dve nedelje prema preporukama CDC i AHA uz preračunavanje srednje vrednosti.

Periferna arterijska bolest najčešće nastaje kao posledica aterosklerozne okluzije arterija donjih ekstremiteta (53). Od posebnog značaja je pojava PAB kod pacijenata sa dijabetesom s obzirom da je ova dijabetesna komplikacija izuzetno česta (54). Periferna arterijska bolest kod dijabetičara je po pravilu znatno teža i ima lošiju prognozu nego kod pacijenata bez dijabetesa (55). Ustanovljeno je, takođe, da dužina trajanja kao i težina dijabetesa dobro korelira sa incidencom i stepenom razvoja PAB (55).

Postojanje dijabetesne polineuropatije u mnogome otežava rano dijagnostikovanje PAB pa se ovi pacijenti otkrivaju tek po pojavi ulkusnih promena ili gangrene donjih ekstremiteta (22). Kod ispitanika sa i bez PAB obuhvaćenih našim ispitivanjem nije bilo statistički značajne razlike u postojanju polineuropatije. Siptomatska ili asimptomatska polineuropatija je bila zastupljena kod 21.1% ispitanika Grupe A i kod 11.9% ispitanika Grupe B, dakle, bila je nešto zastupljenija u ispitanika sa PAB.

Dijabetes, naročito loše regulisan stvara predispoziciju za aterotrombotične komplikacije čemu u mnogome doprinose hiperglikemija, aktivacija RAGE, povećani nivoi SMK, abnormalnosti lipoproteina, povećan oksidativni stres, endotelna disfunkcija i inflamacija (15). Sudeći prema rezultatima na samom početku ispitivanja, ali i prilikom kontrolnog pregleda, najveći broj ispitanika, naše studije, je imao lošu glikoregulaciju u periodu dužem od dva meseca pred uzimanje uzoraka krvi za analize kao i hiperglikemiju naše. Takođe, najveći broj ispitanika je imao povećane vrednosti ukupnog i LDL holesterola, apolipoproteina B, Lp (a), i povećane vrednosti aterogenih indeksa (non HDL, TC/HDL i Tg/HDL).

Skorašnja saznanja o značaju inflamacije u razvoju i progresiji ateroskleroze ukazuju na mogućnost da se CRP kao inflamatorni marker koristi za procenu kardiovaskularnog rizika (56), međutim, još uvek se vodi polemika o specifičnosti CRP u predikciji PAB. Ridker i saradnici su među prvima ukazali na postojanje veze između hs-CRP i PAB, nezavisno od ostalih faktora rizika (30). Uprkos tome što pacijenti sa PAB imaju više vrednosti cirkulišućih inflamatornih biomarkera nego pacijenti bez PAB, nije ustanovljena tačna uzročna povezanost sa razvojem i progresijom ateroskleroze donjih ekstremiteta (57). Tako je i u našem ispitivanju na samom početku nađena razlika u nivoima hs CRP između ispitanika sa PAB i ispitanika bez PAB (4.0947 ± 2.35579 vs. 3.0926 ± 2.21183 , $p=0.053$).

C-reaktivni protein je pentamerni protein otkriven još pre 70 godina (58) i tradicionalno se smatra pasivnim markerom inflamatornog procesa. Istorijski gledano CRP je uglavnom korišćen za dijagnostikovanje i praćenje inflamacije i infekcije. Poznato je da su hepatociti pod dejstvom citokina (naročito IL 6, IL 1 i TNF α) stimulisani da sintetizuju CRP u odgovoru na oštećenje tkiva ili infekciju. Poznato je, takođe, da se CRP u prisustvu kalcijuma vezuje za polisaharide bakterija, a to dovodi do aktivacije klasičnog puta komplemenata, opsonizacije i fagocitoze bakterija. Prilikom blage upale ili virusne infekcije nivo CRP poraste na vrednosti od 10 do 50 mg/L, međutim, tokom aktivne upale i bakterijske infekcije nivo CRP-a može porasti na

vrednosti od 50 do 200 mg/L. Shodno vrednostima hs-CRP (određivanim ELISA metodom uz korišćenje mono- ili poliklonalnih antitela) Centar za Kontrolu i Prevenciju Bolesti (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC*) i Američkog Udruženja za Srčane bolesti (*American Heart Association, AHA*) klasifikuje ispitanike u tri rizične grupe: 1) niskorizična grupa sa vrednostima hs CRP do 1 mg/L; 2) grupa sa umerenim rizikom, sa vrednostima hs-CRP od 1 do 3 mg/L; i 3) visoko rizična grupa sa vrednostima hs-CRP preko 3 mg/L (59).

Od svih potencijalnih biomarkera (uključujući lipoprotein (a), homocistein, fibrinogen, D-dimer, tPA, PA-1) hs CRP ima najveći potencijal u smislu kliničke primenljivosti (60,61).

Prilikom analize nivoa CRP, od ključnog značaja je proceniti da li postoje druge bolesti koje potencijalno mogu uslovljavati porast CRP. Tako Pepys i Hirschfield preporučuju sledeće: ako je inicijalna vrednost CRP manja od 1 mg/L dovoljno je jedno merenje s obzirom da ta vrednost govori u prilog malog rizika, međutim ako je vrednost CRP oko 2.5 mg/L neophodno je u intervalu od nedelju dana ponoviti merenje. U slučaju da su vrednosti CRP i inicijalno i pri ponovljenom merenju preko 10 mg/L treba preduzeti ispitivanja u smislu traganja za hroničnim inflamatornim bolestima kao što je na primer reumatoidni artritis (51).

Rezultati našeg ispitivanja pokazuju da je nivo hs-CRP od 2.5 mg/L ona diskriminativna vrednost koja sa velikom verovatnoćom ukazuje na rizik postojanja, razvoja i progresije PAB kod ispitanika sa dijabetesom tip 2. Takođe, našim ispitivanjem je ustanovljeno da vrednost CRP koja je veća od 2.5 mg/L povećava rizik postojanja, razvoja i progresije PAB približno tri puta (RR=2.933, 95% CI 1.35-6.36).

Klasifikacija na mali, umereni ili visoki kardiovaskularni rizik (59,62) u zavisnosti od vrednosti hs CRP je jednostavna i korisna za primarnu praksu, pri čemu je važno zapamtiti da su osobe sa najnižim vrednostima hs-CRP (<0.5 mg/L) pod veoma malim kardiovaskularnim rizikom, dok su osobe sa visokim vrednostima hs-CRP (>10 mg/L) pod veoma visokim rizikom (63). Skorašnje studije sugerišu na mogućnost da su koncentracije CRP delom genski određene (64,65,66,67).

Nivoi hs-CRP u serumu zdravih mušaraca i žena se ne razlikuju značajnije, međutim, ustanovljeno je da žene koje uzimaju hormonsku supstytucionu terapiju (engl. *hormone replacement therapy, HRT*) imaju više vrednosti hs-CRP u poređenju sa ženama koje nisu na HRT (68,69). Rezultati našeg ispitivanja, takođe, ne nalaze postojanje značajne razlike u

vrednostima hs-CRP među ispitanicima muškog i ženskog pola. Najveći broj ispitanica uključenih u studiju su bile starije od 45 godina, i nisu koristile HRT.

Veliki broj studija navodi postojanje malih razlika u vrednostima hs-CRP u zavisnosti od starosnog doba (70,71). Kada je u pitanju naša studija, svi ispitanici su pripadali starosnoj dobi od 45 do 70 godina, i među ispitivanim grupama na početku ispitivanja nije nađena statistički značajna razlika u godinama (64 ± 6 vs. 62 ± 7 , $p=0.358$). Takođe, između ispitanika grupe A i grupe B nije postojala statistički značajna razlika u dužini trajanja dijabetesa (8 ± 2 vs. 8 ± 2 , $p=0.989$).

Kada je u pitanju rasna pripadnost, podaci NHANES nisu ukazali na postojanje razlika u nivoima hs-CRP među muškarcima Evro-Američkog, Afro-Američkog, Meksičkog i Japanskog porekla (72,73). Takođe, shodno podacima NHANES, žene Meksičko-Američkog porekla su imale više nivoe hs-CRP nego žene Evro-Američkog porekla, dok Studija o zdravlju žena, daje podatak da su žene Afro-Američkog i Azijsko-Američkog porekla imale više vrednosti hs-CRP nego žene bele rase i žene Hispano-Američkog porekla (74). Zaključeno je, ipak, da svi ovi podaci nisu dovoljni da bi se doneo definitivni zaključak o razlikama nivoa hs-CRP u različitim rasnim ili etničkim grupama.

Istorijski gledano CRP je uglavnom korišćen u kliničkim laboratorijama radi praćenja aktivne infekcije, a eseji za analizu CRP premda automatizovani i reproducibilni, nisu bili dovoljno senzitivni da detektuju vrednosti niže od 3 mg/L koje su bitne za predikciju kardiovaskularnog rizika. Zbog navedenih problema uvedena je analiza hs-CRP koja je omogućavala otkrivanje i sasvim niskih vrednosti CRP. Danas je u upotrebi više od 30 eseja, ali i oni pokazuju značajne razlike od laboratorije do laboratorije pa je neophodna njihova dopunska standardizacija (75,76). Usaglašavanje metodologija analize hs-CRP je od izuzetnog značaja jer bi se na taj način individualni rezultati mogli interpretirati u kontekstu utvrđenih nacionalnih tački preseka (engl. *cut-point*), odnosno graničnih vrednosti. U našem ispitivanju C-reaktivni protein je određivan visokosenzitivnom metodom uz korišćenje komercijalnih imunoesej kitova Siemens Helathcare® a testovi su rađeni na Behring Nefelometrijskom Analizatoru II®.

. Bolesnici sa vrednostima hs-CRP >10 mg/l su isključeni iz studije s obzirom da takva vrednost ukazivala na postojanje akutne inflamatorne bolesti.

Centar za Kontrolu i Prevenciju Bolesti i AHA preporučuju dva sukcesivna merenja hs-CRP u razmaku od dve nedelje nakon čega bi se preračunavala srednja vrednost koja bi bila

znatno bolji pokazatelj vaskularnog rizika (59). S obzirom da na nivo hs-CRP ne utiče unos hrane, praktično ne postoji cirkadijalna varijacija pa se uzimanje uzoraka krvi može obavljati u bilo koje doba dana (77, 78). Poluživot hs-CRP se kreće od 18 do 20 sati tako da nema potrebe za specijalnim procedurama pri uzimanju uzoraka za analizu koja se može vršiti i iz seruma ali i iz pune krvi (78).

Još uvek ne postoje pouzdani dokazi da smanjenje nivoa hs-CRP dovodi do smanjenja kliničkih kardiovaskularnih događaja. Ustanovljeno je, međutim, da primena nekih nefarmakoloških i farmakoloških mera za koje se zna da smanjuju rizik za kardiovaskularne događaje, može dovesti do smanjenja i nivoa hs-CRP.

Do sada objavljeni rezultati nekolicine studija navode da su glavne determinante nivoa hs-CRP u opštoj populaciji ITM i tip gojaznosti (79, 80, 81). Naši rezultati pokazuju da je najveći broj ispitanika na početku studije kako grupe A, tako i grupe B pripadao kategoriji gojaznih, kao i da među ispitanicima nije nađena statistički značajna razlika u vrednostima ITM (30.06 ± 12.47 vs. 29.04 ± 3.86 , $p=0.272$). Najveći broj ispitanika je imao abdominalni tip gojaznosti, pri čemu su ispitanici grupe A imali statistički značajno veći OS u poređenju sa ispitanicima grupe B, (102.13 ± 12.47 vs. 96.55 ± 9.72 , $p=0.028$). Među grupama na početku ispitivanja nije postojala statistički značajna razlika u vrednostima SKO (0.95 ± 0.07 vs. 0.22 ± 0.08 , $p=0.110$), a time je isključena mogućnost uticaja ITM I SKO na razlike u novou hs-CRP među ispitanicima u ovoj studiji.

Kada je u pitanju insulinska rezistencija rezultati studija preseka navode povezanost CRP i pokazatelja insulinske rezistencije ili metaboličkog sindroma, a rezultati nekih longitudinalnih studija to potvrđuju ili negiraju (82). Još uvek nije sasvim jasno da li se prvo javlja insulinska rezistencija ili povećanje nivoa CRP (83,84,85), ali se pretpostavlja da razvoj insulinske rezistencije predhodi povećanju nivoa CRP (86). Kod ispitanika grupe A i B na samom početku studije nije nađena statistički značajna razlika u nivou insulina (21.48 ± 6.91 vs. 22.26 ± 10.64 , $p=0.701$) i vrednostima HOMA-IR indeksa (8.39 ± 3.75 vs. 8.74 ± 5.27 , $p=0.744$). Rezultati pokazuju da je najveći broj ispitanika naše studije imao povećane vrednosti insulina u sklopu sindroma insulinske rezistencije, a time je isključena mogućnost uticaja IR na razlike u nivou hs-CRP među ispitanicima u ovoj studiji.

5.1. C-reaktivni protein i rizik za razvoj i progresiju periferne arterijske bolesti kod osoba bez dijabetesa

Rezultati 3 studije sprovedene na populaciji zdravih ljudi nedvosmisleno pokazuju postojanje veze između hs-CRP i razvoja PAB. Ridker koji se najviše bavio problematikom inflamacije i uloge CRP u procesu ateroskleroze, sa saradnicima, u studiji objavljenoj u časopisu JAMA, 2001. godine navodi da su nivoi CRP prilikom prvog pregleda bili značajno viši kod ispitanika kod kojih je kasnije došlo do razvoja PAB (30,87). Navedena studija je pokazala i da je hs-CRP bio najjači nelipidni prediktor za PAB (30,87). Edimburška studija (*The Edinburgh Artery Study*), identifikuje hs-CRP kao prediktor razvoja i progresije PAB (88), a Van Meer i saradnici svojom studijom, takođe, potvrđuju značaj određivanja CRP u proceni progresije PAB (89). Bluemenkamp i saradnici, takođe, zaključuju da su povećani nivoi hs CRP povezani sa većom verovatnoćom razvoja PAB (90), a Vu i saradnici sugerišu da pacijenti sa metaboličkim sindromom i vrednostima hs-CRP preko 3 mg/L imaju značajno veći rizik za razvoj PAB (91).

Još dve studije publikovane 2005. godine navode vezu između povećanih nivoa inflamatornih biomarkera (pre svega CRP), i postojanja PAB (92,93). Studija o zdravlju lekara (*Physician's Health Study*) saopštava da su viši nivoi CRP zabeleženi kod ljudi kod kojih je nakon više godina praćenja došlo do razvoja PAB (30). Takođe, slično navodi i Studija o zdravlju žena (*Women's Health Study*) prema kojoj su bazalno viši nivoi CRP i sICAM-1 bili povezani sa povećanim rizikom za razvoj PAB nakon 12-to godišnjeg praćenja (94).

Do sada je objavljeno nekoliko studija koje su ispitivale nivoe hs-CRP kod pacijenata sa PAB, i one su nedvosmisleno pokazuju da su nivoi hs CRP viši kod ispitanika sa PAB nego kod ispitanika kontrolne grupe. Tako, na primer, Casser sa saradnicima u svom radu navode da su nivoi hs-CRP značajno viši u grupi ispitanika sa PAB (95).

5.2. C-reaktivni protein kod pacijenata sa perifernom arterijskom bolešću i veza između C-reaktivnog proteina i pedo/brachijalnog indeksa

Merenje PBI je preporučan skrining metod za PAB i kod dijabetičara i kod pacijenata bez dijabetesa (55). Korišćenje PBI može doprineti predikciji kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta pored uobičajenih kardiovaskularnih faktora rizika (96, 97). U našoj studiji svi

pacijenti sa vrednostima PBI ispod 0.40 (što ukazuje na postojanje teške vaskularne opstrukcije) kao i sa vrednostima preko 1.33 (što ukazuje na postojanje slabo kompresibilnih krvnih sudova usled kalcifikacije medijalnog sloja arterijskog zida) bili isključeni iz daljeg praćenja i ispitivanja..

Od pet, do sada objavljenih studija, koje su ispitivale vezu između hs-CRP i PAB, rezultati četiri studije saopštavaju da postoji obrnuta veza između nivoa hs-CRP i vrednosti PBI. Mc Dermott i saradnici su u studiji objavljenoj 2003 godine ustanovili da postoji značajna obrnuta veza između PBI i nivoa hs CRP u serumu (98), kao i da je veći nivo hs CRP bio povezan sa slabijom performansom tokom 6-minutnog testa (99). Vainas i saradnici, takođe, uočavaju postojanje veze između hs-CRP, težine PAB (procenjivane pomoću PBI), i razvoja budućih kardiovaskularnih događaja (93), dok su Hozawa i koautori u Tsurugaya projektu ustanovili postojanje povezanosti većih nivoa hs CRP sa niskim vrednostima PBI (100). Aboyans i saradnici, takođe, navode da su niže vrednosti PBI povezane sa povećanim vrednostima hs-CRP (101).

Nasuprot ovim studijama stoji studija objavljena 2006 godine koja nije pronašla postojanje značajne veze između nivoa hs CRP i progresije PAB, takođe, procenjivane korišćenjem PBI (61).

Rezultati našeg ispitivanja, ne nalaze postojanje povezanosti između nivoa hs-CRP i vrednosti PBI (kako leve tako i desne noge) kod ispitanika grupe A i grupe B. Studija objavljena 2004 godine, slično našim rezultatima, ne nalazi značajnu korelaciju između nivoa hs-CRP u serumu i vrednosti PBI desne i leve noge (102). Ova studija, takođe, navodi postojanje pozitivne korelacije između vrednosti PBI desne i leve noge, što takođe pokazuju i rezultati našeg ispitivanja. Uprkos tome što nisu pronašli korelaciju između serumskog hs-CRP i PBI, autori navedene studije pronalaze značajnu korelaciju hs-CRP sa vrednostima TBI (engl. *toe/brachial index*) (102), i shodno tome zaključuju da je TBI bolji pokazatelj postojanja PAB i generalizovane ateroskleroze, i da bi trebalo da se koristi uvek kada su vrednosti PBI ≥ 1.33 (102,103).

5.3. C-reaktivni protein kod osoba sa dijabetesom

Da li se periferna arterijska bolest javlja češće kod dijabetičara sa povećanim nivoima CRP?

Rezultati ispitivanja John Vu-a i saradnika pokazuju da su povećani nivoi CRP povezani sa većom verovatnoćom postojanja PAB kod pacijenata sa metaboličkim sindromom (MS), čak i u odsustvu ispoljenog dijabetesa (104). Malik i saradnici navode da pacijenti sa MS koji imaju povećane nivoe CRP imaju veći rizik za kardiovaskularne događaje slično kao i pacijenti sa dijabetesom i normalnim nivoima CRP (105). Neki autori povezuju dijabetes sa rizikom za razvoj PAB i težinom PAB (106,107,108), dok drugi autori ukazuju da je povećan nivo CRP nezavisni faktor rizika za pojavu kao i za težinu PAB (43,96). Vu i saradnici su u svom radu objavljenom 2004 godine zapazili da pacijenti sa dijabetesom tip 2 i PAB imaju duže trajanje dijabetesa, veće nivoe kreatinina, veći nivo TC/HDL indeksa, veći stepen hipertenzije, češću zastupljenost intermitentne klaudikacije, više nivoe CRP i IL-6. Ovi istraživači, takođe, navode da je jedino nivo CRP, nezavisno povezan sa PAB kod pacijenata sa dijabetesom tip 2 (109).

Rezultati našeg ispitivanja pokazuju da su pacijenti sa T2D i PAB imali značajno više vrednosti hs-CRP nego ispitanici bez PAB. Ustanovljeno je i da su dijabetičari sa PAB kod kojih je došlo do progresije PAB imali više vrednosti hs-CRP nego ispitanici kod kojih nije došlo do smanjenja ABI, odnosno progresije PAB nakon petogodišnjeg praćenja. Najniže vrednosti hs-CRP su imali ispitanici bez PAB (sa normalnim vrednostima ABI) kod kojih nije došlo do razvoja PAB ni posle pet godina.

5.4. Lipidi i periferna arterijska bolest kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Osobe obolele od dijabetesa koje imaju dislipidemiju, hiperglikemiju, lošu glikoregulaciju kao i anamnestički podatak o pušenju su pod naročito visokim rizikom za nastanak aterotrombotičnih događaja (104). Metabolički *milieu* kod pacijenata sa dijabetesom je takav da favorizuje aterotrombotične procese (110). Faktori koji su odgovorni za ovu povećanu sklonost ka aterotrombozi obuhvataju hiperglikemiju i aktivaciju RAGE, povećanje nivoa SMK, abnormalnosti lipoproteina, povećanje oksidativnog stresa, endotelijalnu disfunkciju, inflamaciju i indukcija protrombotičnih faktora (15,110). Pretpostavlja se da je transporter masnih kiselina

CD 36 uključen u proces agregacije trombocita putem interakcije sa VLDL (111). Aterogeni lipoproteini kao što je VLDL se vezuju za CD 36, stimulišu produkciju trombocitnog trombosana A2 i kolagenom-posredovanu agregaciju trombocita. Pokazano je da se CD 36 vezuje za native i oksidovane lipoproteine kao što je na primer oksidovani LDL, i da, tako, posreduje preuzimanje i akumulaciju holesterola u makrofagima, što dovodi do stvaranja penastih ćelija (112) najznačajnijih za formiranje ateromatoznih pločica.

Kao što se zna, dislipidemiju u dijabetesu odlikuje povećanje nivoa triglicerida i snižen nivo HDL-holesterola uz predominaciju malih gustih LDL partikula. Framingamska studija navodi da je nivo holesterola veći od 7 mmol/L povezan sa dvostrukom incidencijom IC, kao i da je najbolji prediktor pojave PAB odnos ukupnog i HDL holesterola (113).

Premda su neke studije pokazale da je ukupni holesterol snažan nezavisni faktor rizika za PAB, druge studije nisu utvrdile ovu povezanost (113). Sugerisano je, takođe, da pušenje može pojačati negativni efekat hiperholesterolemije.

Pored navedenog neke studije uočavaju da postoji povezanost između hipertrigliceridemije i progresije PAB kao i sistemskih komplikacija PAB, dok podaci drugih studija navode da je lipoprotein (a) najznačajniji lipidni nezavisni faktor rizika za PAB (113).

Kao što je poznato, nezavisni lipidni faktori rizika za PAB, su povećan nivo ukupnog holesterola, LDL holesterola, triglicerida i lipoproteina (a), a faktori koji deluju protektivno povećan nivo HDL holesterola i apolipoproteina A1.

Postoje dokazi da intenzivna terapija hiperlipidemije redukuje progresiju PAB i incidenciju IC. Studija o zaštiti srca (*Heart Protection Study*, HPS), na primer, pokazuje da je kod pacijenata sa PAB, redukcija LDL bila povezana sa značajnom redukcijom kardiovaskularnih događaja (ukupnog i vaskularnog mortaliteta, koronarnih događaja, moždanog udara i ne-koronarnih revaskularizacija). Glavni nedostatak ove studije je u tome što su ispitivanja sprovedena među pacijentima sa simptomatskom PAB.

Shodno rezultatima kliničkih ispitivanja aktuelne preporuke za terapiju lipidnih poremećaja kod pacijenata sa PAB podrazumevaju postizanje ciljnih vrednosti LDL holesterola na vrednosti manje od 2.59 mmol/l (114,115). Takođe, shodno preporukama AAC/AHA i AHA vodiča ciljne vrednosti LDL holesterola trebalo bi da budu manje od 2.59 mmol/l kod svih pacijenata sa PAB, a kod onih sa visokim rizikom, odnosno kod pacijenata sa PAB kod kojih postoji multipla vaskularna bolest preporučena vrednost LDL holesterola je manja od 1.81 mmol/l

(116). Kod pacijenata koji imaju povećane nivoe triglicerida i kod kojih se vrednost LDL holesterola ne može pouzdano preračunati, preporučuje se računanje nivoa non-HDL-holesterola i njegova ciljna vrednost manja od 3.36 mmol/L kod svih pacijenata sa PAB (117), a kod pacijenata sa multiplom vaskularnom bolešću vrednost manja od 2.56 mmol/l. Kod pacijenata sa povećanim nivoima triglicerida i smanjenim nivoima HDL holesterola preporučuje se primena fibrata i/ili niacina. Ove preporuke su bazirane na saznanjima nekih studija koje navode da je korišćenje fibrata kod pacijenata sa koronarnom bolešću povezano sa redukcijom rizika za ne-fatalni infarkt miokarda i ukupni kardiovaskularni mortalitet (118), sa druge strane za niacin je pokazano da je kod pacijenata sa PAB njegova upotreba povezana sa regresijom femoralne ateroskleroze i smanjenjem progresije koronarne ateroskleroze (119,120). Još uvek se ne zna da li fibrat i/ili niacin mogu redukovati rizik sistemskih kardiovaskularnih događaja kod pacijenata sa PAB.

U našoj studiji najveći broj ispitanika je imao povećane vrednosti holesterola, triglicerida, LDL holesterola, Apo B, Lp (a), non-HDL-holesterola i TC/HDL, a snižen nivo HDL holesterola. Između ispitanika sa i bez PAB nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima lipida, lipoproteina i aterogenih indeksa. Rezultati studije O'Neal i saradnika pokazuju da je dislipidemijski profil (okarakterisan povećanim nivoima triglicerida, nižim nivoima Apo A1 i prisustvom malih gustih LDL partikula) bio povezan sa nekomplikovanom PAB i kod pacijenata sa i bez dijabetesa tip 2 (121).

Shodno rezultatima naše studije ni jedan od ispitivanih lipidnih biomarkera, kao ni aterogeni indeksi, nije pokazao značajnost u predikciji PAB kod pacijenata sa T2D.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata naše prospektivne kohortne studije koja je obuhvatila 80 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa praćenih u periodu 2004-2009 godine, može se zaključiti sledeće:

6.1. Pacijenti sa PAB imaju više vredosti holesterola, Lp (a) i aterogenih indeksa u poređenju sa ispitanicima bez PAB, ali ta razlika nije statistički značajna.

6.2. Pacijenti sa PAB imaju više vrednosti CRP kako pri prvom, tako i pri kontrolnom pregledu, ali ta razlika nije statistički značajna.

6.3. Kod pacijenata sa PAB niže vrednosti ABI su uglavnom jednostrane.

6.4. Među ispitanicima sa PAB kod kojih je nakon petogodišnjeg praćenja došlo do smanjenja ABI i ispitanika sa PAB kod kojih je ABI ostao neizmenjen nema statistički značajne razlike u vrednostima lipida, lipoproteina i aterogenih indeksa kao ni razlike u vrednostima CRP.

6.5. Između ispitanika bez PAB kod kojih je došlo do sniženja ABI nakon pet godina praćenja i ispitanika bez PAB kod kojih nije došlo do sniženja ABI postojala je statistički značajna razlika u vrednostima CRP ali ta razlika nije postojala u vrednostima lipida, lipoproteina i aterogenih indeksa.

6.6. Najviše vrednosti CRP imaju ispitanici sa PAB kod kojih je došlo do sniženja vrednosti ABI nakon petogodišnjeg praćenja, dok ispitanici sa normalnim vrednostima ABI pri prvom i pri kontrolnom pregledu imaju najniže vrednosti CRP.

6.7. Ispitanici sa PAB na početku ispitivanja i oni kod kojih je nađena PAB nakon petogodišnjeg praćenja imaju statistički značajno više vrednosti CRP u poređenju sa ispitanicima bez PAB kod kojih ni nakon pet godina merenjem ABI nije konstatovano postojanje PAB, ali takva razlika ne postoji u vrednostima lipida, lipoproteina i aterogenih indeksa.

6.8. Vrednost CRP od 2.5 mg/L je granična i veće vrednosti od te ukazuju na tru puta veći rizik za postojanje i/ili razvoj PAB.

6.9. Najniže vrednosti CRP imaju ispitanici koji na početku i posle pet godina praćenja imaju normalne vrednosti ABI, (4.09 ± 2.35 vs. 3.0926 ± 2.21 , $p=0.001$), (4.74 ± 2.11 vs. 2.43 ± 0.85 , $p<0.001$).

U celini rezultati ove studije su pokazali da je C-reaktivni protein određen visokosenzitivnom metodom bolji pokazatelj/prediktor razvoja i progresije periferne arterijske bolesti kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nego analizirani lipidni biomarkeri.

7. LITERATURA

1. Bassuk SS, Rafai N, Ridker PM. High-Sensitivity C-Reactive Protein: Clinical Importance. *Current Problems in Cardiology* 2004; 29:439-93.
2. Schalkwijk C.G and Stehouwer C.D.A. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science*, 2005; 109: 143-159.
3. Craeger M.A, Luscher T.F, Consentino F and Beckman J.A. Diabetes and Vascular disease. Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. *Circulation*, 2003; 108:1527-1532.
4. Ridker P.M.Rifai W, Rose L, Buring J.E, Cook N.R. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in prediction of first cardiovascular events. *The New England Journal of Medicine*, 2002; 347:1557-1565.
5. Ridker P.M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, 2003; 107: 363-369.
6. Libby P, Ridker P.M. Inflammation and atherosclerosis: role of C-reactive protein in risk assessment. *The American Journal of Medicine*, 2004; 116(6A): 9s-16s.
7. Pasceri V, Willerson J.T.Yeh E.T. Direct inflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, 2000; 102: 2165-2168.
8. Calabro P, Willerson J.T, Yeh E.T. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*, 2003; 108: 1930-1932.
9. Yeh E.T.H. CRP as a mediator of disease. *Circulation*, 2003; 109: (supple II): 11-14.
10. Buja L.M, Mc Allister H.A. Atherosclerosis: Pathologic Anatomy and Pathogenesis. In *Cardiovascular medicine*, 3rd Ed. Springer, London, 2003; 1581-1589.
11. Cardillo C, Nambi S.S, Kilcoyne C.M et al. Insulin stimulates both endothelin and nitric oxide activity in human forearm. *Circulation*, 1999; 100: 820-825.
12. Cummings M.H, Watts G.F, Umpleby A.M. et al. Increased hepatic secretion of very-low-density lipoprotein B.100 in NIDDM. *Diabetologia*, 1995; 38: 959-967.
13. Sniderman A.D, Scantlebury T, Cianflone K. Hypertriglyceridemic hyperapob: The Unappreciated Atherogenic Dyslipoproteinemia in Type 2 Diabetes Mellitus. *Annals of Internal Medicine*, 2001; 135: 447-459.

14. Dimitriadis E, Griffin M, Owens D, et al. Oxidation of low-density lipoprotein in NIDDM. *Diabetologia*, 1995; 38: 1300-1306.
15. Beckman J.A, Craeger M.A, Libby P. Diabetes and Atherosclerosis. *Epidemiology, Pathophysiology, and Management. The Journal of American Medical Association*, 2002; 287 (19): 2570-2581.
16. McFarlane S.I, Banerji M, Sowers J.R. Insulin resistance and Cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001; 36 (2): 713-718.
17. Nilsson J. CRP-Maker or Marker of Cardiovascular Disease? *Atherosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 2005; 25: 1527-1528.
18. Rutheford RB, Baker JD, Ernst C, et al. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version. *Journal of Vascular Surgery*. 1997; 26: 517-38.
19. Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis Pathophysiology and the Role of Novel Risk Factors: A Clinicobiochemical Perspective. *Angiology*, 2007; 58: 513-522.
20. Hirsch A.T, Kalsi H, Rooke T.W. Peripheral Arterial Disease. In. *Cardiovascular Medicine 3rd Ed.* Springer, London, 2007; 1681-1703.
21. Marso S.P, Hiatt W.R. Peripheral Arterial Disease in Patients with Diabetes. *Journal of the American College of Cardiology*, 2006; 47 (5):921-929.
22. ADA. Consensus Statement. Peripheral Arterial Disease in People with Diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26:3333-3341.
23. Fontaine R, Kim M, Kieny R. Die chirurgische Behandlung der peripheren Durchblutungsstörungen. *Helvetica Chimica Acta*.1954;5/6:199-533.
24. Ouriel K. Peripheral arterial disease. *The Lancet* 2001; 358:1257-1264.
25. Rose G.A. The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys. *Bulletin of the World Health Organization* 1962; 27:645-658.
26. Leng G.C, Fowkes F.G. The Edinburgh claudication questionnaire: an improved version of WHO/Rose questionnaire for use in epidemiologic surveys. *Journal of Clinical Epidemiology* 1992;45:1101-1109.

27. Norman P.E, Eikelbloom J.W, Hankey G.J. Peripheral arterial disease: prognostic significance and prevention of atherothrombotic complications. *The Medical Journal of Australia* 2004; 181: 250-154.
28. Schmieder F.A, Comerota A.J. Intermittent claudication: magnitude of the problem, patient evaluation, and therapeutic strategies. *The American Journal of Cardiology* 2001; 87 (12A):3D-13D.
29. 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.
30. Wattanakit K, Folsom AR, Selvin E, Weatherley BD et al. Risk factors for peripheral arterial disease incidence in persons with diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Atherosclerosis* 2005; 180(2):389-97.
31. Williams JR. The Declaration of Helsinki and public health. *Bulletin of the World Health Organization* 2008; 86: 650-651.
32. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes -- 2008. *Diabetes Care* 2008; 31:S12-S54.
33. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. National Institutes of Health National Heart, Lung, and Blood Institute, National High Blood Pressure Education Program. NIH Publication No. 04-5230, August 2004.
34. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42(6): 1206-52.
35. Hull S.K and Kishman C.R Jr. What is the best test for peripheral vascular disease?. *The Journal of Family Practice* 2008, 57(6); 403-405.
36. John Bernard Henry. *Clinical diagnosis and Management by Laboratory Methods* 20th edition, Saunders, Philadelphia, PA, 2001.

37. Ronald A. Sacher and Richard A. McPherson: *Widmann's Clinical Interpretation of Laboratory Tests* 11th edition, F.A. Davis Company, 2001.
38. Larsen ML, Hørder M, Mogensen EF. "Effect of long-term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus". *The New England Journal of Medicine*, 1990; 323 (15): 1021–5.
39. Reisen W.F. Lipid metabolism. In: Thomas El, Ed. *Clinical laboratory diagnostics. Use and assessment of clinical laboratory results*. Frankfurt/Main: The Books Verlagegesellschaft 1998:167-169.
40. Fukuyama N, Homma K, Wakana N, Kudo K, Suyama A, Ohazama H, Tsuji C, Ishiwata K, Yu Eguchi, Nakazawa H and Tanaka E . Validation of the Friedewald Equation for Evaluation of Plasma LDL-Cholesterol. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2008 July; 43(1): 1–5.
41. Schultis H-W, et al. Lipoprotein and lipoproteinanalysis. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1990; 337:125-126.
42. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive summary of the 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). *The Journal of American Medical Association*, 2001; 285: 2486-2496.
43. Da Luz P.L, Cesena F.H, Faucarato D, Cerqueira E.S. Comparison of serum lipid values in patients with coronary artery disease at <50, 50 to 59, 60 to 69 and >70 years of age. *American Journal of Cardiology*, 2005; 96: 1640-3.
44. Haffner M.S, Kennedy E, Gonzales C, et al. A prospective analysis of the HOMA Model: The Mexico City Diabetes Study. *Diabetes Care*, 1996; 19: 1138-41.
45. Matthews D.R, Hosker J.P, Rudenski A.S, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 1985; 28: 412-419.

46. Haffner M.S, Miettinen H and Stern P.M. The Homeostasis Model in San Antonio Heart Study. *Diabetes Care*, 1997; 20 (7):1087-1097.
47. Eknoyan G. ‘Adolphe Quetelet (1796-1874)-the average man and indices of obesity’ *Nephrol. Dial. Transplant*. 2008; 23(1):47-51.
48. Romero-Coral A, Somers V.K, Sierra-Johnson J, Thomas R.J at al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in adult general population. *International Journal of Obesity*, 2008; 32(6):956-959.*
49. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease. The Practical Guide Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. NIH Publication Number 00-4084. 2000.
50. Vazquez G, Duval S, Jacobs D.R, Silventoinen K. Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/hip ratio in predicting incident diabetes: a meta-analysis. *Epidemiologic Reviews*, 2007;29:115-28.
51. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation*, 2003; 111 (12): 1805–12.
52. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L, Greenland P (05 Jun 2006). Narrative Review: Assessment of C - reactive protein in Risk Prediction for Cardiovascular Disease. *Annals of Internal Medicine*, 2006; 145 (1): 35–42.
53. Hiatt W.R. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *The New England Journal of Medicine*, 2001; 344: 1608-1621.
54. Hirsch A.T, et al. Peripheral arterial disease detection, awerness, and treatment in primary care. *The Journal of American Medical Association*, 2001; 286: 1317-1324.
55. Jude E.B, Oybo S.O, Chalmers N, Boulton A.J. Peripheral arterial disease in diabetic and nondiabetic patients: comparison of severity and outcome. *Diabetes Care* ,2001; 24: 1433-1437.
56. Ridker P.M, Hennekens C.H, Buring J.E, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England Journal of Medicine*, 2000; 342: 836-843.

57. Mc Dermott M.M and Lloyd-Jones D.M. Genetics in Peripheral Arterial Disease. *JACC* 2009; 54 (14):1228-37.
58. Yeh Edward T.H. CRP as a mediator of disease. *Circulation* 2004; 109 (Suppl I): II-1-II-4.
59. Pearson T.A, Mensah G.A, Alexander W.R, Anderson J.L, Cannon R.O, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*, 2003; 107: 499-511.
60. Blake G.J, Ridker P.M. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circulation Research*, 2001; 89: 763-71.
61. Blake G.J, Ridker P.M. Inflammatory bio-mrkers and cardiovascular risk prediction. *Journal of Internal Medicine*, 2002; 252: 283-94.
62. Ridker P.M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107: 363-9.
63. Ridker P.M, Cook N.R. Clinical utility of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham risc scores. *Circulation*, 2004; 109: 1955-9.
64. Pankow J.S, Folsom A.R, Cushman M, et al. Familial and genetic determinants of systemic markers of inlammation: the NHLBI family Heart Study. *Atherosclerosis* 2001; 154: 681-9.
65. Zee R.Y, Ridker P.M. Polymorphism in the human C-reactive protein (CRP) gene, plasma concentrations of CRP, and the risk of future arterial thrombosis. *Atherosclerosis*, 2002; 162: 217-9.
66. Szalai A.J, McCrory M.A Cooper G.S, Wu J, Kimberly R.P. Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. *Genes and Immunity*, 2002; 3: 14-9.
67. Mac Gregor A.J, Gallimore J.R, Spector T.D, Pepys M.B. Genetic effects on baseline values of C-reactive protein and serum amyloid A protein: a comparison of monozygotic and dizygotic twins. *Clinical Chemistry*, 2004; 50: 130-4.

68. Ridker P.M, Hennekens C.H, Rifai N, Buring J.E, Manson J.E. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation*, 1999; 100: 713-6.
69. Cushman M, Leguli C, Barrell-Connor E, et al. Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study. *Circulation*, 1999; 100:717-22.
70. Rifai N, Ridker P.M. Population distributions of C-reactive protein in apparently healthy men and women in the United States: implication for clinical interpretation. *Clinical Chemistry*, 2003; 49: 666-9.
71. Imhof A, Frolich M, Loewel H, et al. Distribution of C-reactive protein measured by high-sensitivity assays in apparently healthy men and women from different populations in Europe. *Clinical Chemistry*, 2003; 49: 669-72.
72. Ford E.S, Giles W.H, Myers G.L, Mannino D.M. Population distribution of high sensitivity C-reactive protein among US men: findings from national Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Clinical Chemistry*, 2003; 49: 686-90.
73. Yamada S, Gotoh T, Nakashima Y, et al. Distribution of serum C-reactive protein and its association with atherosclerotic risk factors in Japanese population: Jichi Medical School Cohort Study. *American Journal of Epidemiology*, 2001; 153: 1183-90.
74. Ford E.S, Giles W.H, Mokdad A.H, Myers G.L. Distribution and correlates of C-reactive protein concentration among U.S. women. *Clinical Chemistry*, 2004; 50: 574-81.
75. Ledue T.B, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clinical Chemistry*, 2003; 49: 1258-71.
76. Roberts W.L, Moulton L, Law T.C, et al. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clinical Chemistry*, 2001; 47: 418-25.
77. Ockene I.S, Matthews C.E, Rifai N, Ridker P.M, Reed G, Stanek E. Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults. *Clin Chem* 2001; 47: 444-50.

78. Meier-Ewert H.K, Ridker P.M, Rifai N, Price N, Dingers D.F, Mullington J.M. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clinical Chemistry*, 2001; 47: 426-30.
79. Visser M, Bouter L.M, Mc Quillan G.M, Wener M.H, Harris T.B. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-5.
80. Ford E.S. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes Care*, 1999; 22: 1971-7.
81. Rexrode K.M, Pradhan A, Manson J.E, Buring J.E, Ridker P.M. relationship of total and abdominal obesity with CRP and IL-6 in women. *Annals of Epidemiology*, 2003; 13: 674-682.
82. Howard B.V, Lyle B, Howard J, et al. C-reactive protein, Insulin Resistance, and Metabolic Syndrome in a Population With a High Burden of Subclinical Infection. Insights from the Genetics of Coronary Artery Disease in Alaska Natives (GOCADAN) Study. *Diabetes Care*, 2008; 31(12): 2312-2314.
83. Yudkin J.S, Stehouwer C.D.A, Emeis J.J, Coppack S.W. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 1999; 19: 972-978.
84. Pradhan A.D, Manson J.E, Rifai N, Buring J.E, Ridker P.M. C-reactive protein, interleukin-6, and risk for developing type 2 diabetes mellitus. *The Journal of American Medical Association*, 2001; 286: 327-334.
85. Festa A, D'Agostino R.J, Howard G, Mykkanen L, Tracy R.P, Haffner S.M. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome. *Circulation*, 2000; 2000:42-47.
86. Moran A, Steffen L.M, Pankow J.S, et al. Relation of C-reactive Protein to Insulin Resistance and Cardiovascular Risk Factors in Youth. *Diabetes Care*, 2005; 28 (7): 1763-1768.
87. Ridker P.M, Cushman M, Stampfer M.J, Tracy R.P, Hennekens C.H. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral arterial disease. *Circulation*, 1998; 97: 425-428.

88. Tzoulaki I, Murray G.D, Lee A.J, Rumley A, Lowe G.D.O, Fowkes F.G.R. C-reactive protein, Interleukin-6, and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in general population: Edimbourgh artery study. *Circulation*, 2005; 112: 976-983.
89. Van Der Meer I.M, De Maat M.P, Hak A.E, Kiliaan A.J, Del Sol A.I, Van Der Kuip D.A, et al. C-reactive protein predicts progression of Atherosclerosis measured at various sites in the arterial tree: thee Rotterdam Study. *Stroke*, 2002; 33: 2750-2755.
90. Bloemenkamp D.G, Van Den Bosch M.A, Mali W.P, Tanis B.C, Rosendaal F.R, Kemmeren J.M, et al. Novel risk factors for periperal arterial disease in young women. *American Journal of Medicine*, 2002; 113 (6): 462-467.
91. Vu J.D, Vu J.B, Pio J.R, Malik S, Franklin S.S, Chen R.S, et al. C-reactive protein on the likelihood of peripheral arterial disease in United States adults with metabolic syndrome, Diabetes Mellitus, and pre-existing cardiovascular disease. *American Journal of Cardiology*, 2005; 96(5):655-658.
92. Wildman R.P, Muntner P, Chen J, Sutton-Tyrell K, He J. Relation of inflammation to peripheral arterial disease in national health and nutrition examination survey, 1999-2002. *American Journal of Cardiology*, 2005; 96: 1579-83.
93. Vainas T, Stassen F, de Graff R, et al. C-reactive protein in peripheral arterial disease: relation to severity of the disease and to future cardiovascular events. *Journal of Vascular Surgery*, 2005; 42: 243-51.
94. Pradhan A.D, Shrivastava S, Cook N.R, et al. Symptomatic peripheral arterial disease in women: nontraditional biomarkers of elevated risk. *Circulation*, 2008; 117: 823-31.
95. Cassar K, Ford I, Greaves M, Bachoo P, Brittenden J. Randomized clinical trial of the antiplatelet effects of aspirin-clopidogrel combination versus aspirin alone after lower limb angioplasty. *British Journal of Surgery*, 2005; 92 (2): 159-165.
96. Adler A.I, Stratton I.M, Neil H.A.W, Yudkin J.S, Matthews D.R, Cull C.A, et al. Association of systolic blood pressure with macrovascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 36): prospective observational study. *British Medical Journal*, 2000; 321: 412-419.

97. Smith S.C, Greenland P, Grundy S.M. Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention. Executive summary. *Circulation*, 2000; 101: 111-116.
98. Mc Dermott M.M, Green D, Greenland P, Liu K, Criqui M.H, Chan C, et al. Relation of levels of hemostatic factors and inflammatory markers to the ankle brachial index. *American Journal of Cardiology*, 2003; 92: 194-199.
99. Ms Dermott M.M, Greenland P, Guralnik J.M, Ferucci L, Green D, Liu K, et al. Inflammatory markers, D-dimer, prothrombotic factors, and physical activity levels in patients with peripheral arterial disease. *Vascular Medicine*, 2004; 9 (2):107-115.
100. Hozawa A, Ohmori K, Kuriyama S, Shimazu T, Niu K, Watando A, et al. C-reactive protein and peripheral arterial disease among Japanese elderly: the Tsurugaya Project. *Hypertension Research*, 2004; 27 (12): 955-961.
101. Aboyans V, Criqui M.H, Denenberg J.O, Knoke J.D, Ridker P.M, Fronck A. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. *Circulation*, 2006; 113 (22): 2623-2629.
102. Aso Y, Yoshida N, Inoue T, et al. Results of Blood Inflammatory Markers Are Associated More Strongly With Toe-Brachial Index Than With Ankle-Brachial Index in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2004; 27 (6): 1381-1386.
103. Brooks B, Dean R, Patel S, et al. TBI or not TBI: that is the question: is it better to measure toe pressure than ankle pressure in diabetic patients? *Diabetic Medicine*, 2001; 18: 528-532.
104. Reaven P.D, et al. Coronary artery disease and abdominal aortic calcification are associated with cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2005; 48: 379-385.
105. Malik S, Wok N.D, Franklin S.S, et al. Risk of cardiovascular disease in U.S: persons with metabolic syndrome, diabetes, and elevated C-reactive protein. *Diabetes Care*, 2005; 28: 690-693.
106. Criqui M.H, Langer R, M.H, Browner D, Fronck A, et al. Peripheral arterial disease in large vessels is epidemiologically distinct from small vessel disease: an analysis of risk factors. *American Journal of Epidemiology*, 1989; 129: 1110-1119.

107. Criqui M.H, Langer R.D, Fronek A. Larger vessel and isolated small vessel disease. In: Fowkes FGR, ed. *Epidemiology of Peripheral Vascular Disease*. London: Springer-Verlag,1991.
108. Fowkes F.G, Housely E, Riermersma R.A, Macintyre C.C, et al. Smoking, lipids, glucose intolerance, and blood pressure as risk factors for peripheral atherosclerosis compared with ischemic heart disease in the Edimbourgh Artery Study. *American Journal of Epidemiology*, 1992; 135:331-340.
109. Yu H-I, Shey W.H-H, Song Y-M, Liu H-C, Lee W-J, and Chen Y-T. C-reactive protein and risk factors for peripheral arterial disease in subjects with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 2004; 21:336-341.
110. Eckel R.H, et al. Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease: Writing Group II: pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. *Circulation* 2002; 105: e 138-143.
111. Englyst N.A et al. A novel role for CD 36 in VLDL-enhanced platelet activation. *Diabetes* 52; 1248-1255.
112. Nicholson A.C, et al. CD 36, oxidized LDL and PPAR gamma: pathological interactions in macrophages and atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*, 2004; 41: 139-146.
113. Norgren L, Hiatt W.R, Dormandy A, Nehler M.R, Harris K.A, and Fowkes F.G.R. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Journal of Vascular Surgery*, 2007; 45 (1): S5A-S63A.
114. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts). *Atherosclerosis*, 2004; 173 (2): 381-91.
115. Grundy S.M, Cleeman J.I, Merz C.N, Brewer H.B, Jr Clark L.T, Hunninghake D.B, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment panel III guidelines. *Circulation*, 2004; 110 (2): 227-39.
116. Hirsch A.T, Haskal Z.J, Hertzner N.R, Bakal C.W, Creager M.A, Halperin J.L, et al. ACC/AHA 2005 guidelines for management of patients with peripheral arterial disease

(lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): executive summary a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease) endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; national Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; Trans Atlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *Journal of American College of Cardiology*, 2006; 47: 1239-312.

117. Smith S.C Jr, Blair S.N, Bonow R.O, Brass L.M, Cerqueira M.D, Dracup K, et al. AHA/ACC guidelines for preventing heart attack and death in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: 2001 update: A statement for healthcare professionals from American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation* 2001; 104 (13): ,1577-9.
118. Rubins H.B, Robins S.J, Collins D, Fye C:L, Anderson J.W, Elam M.B, et al. Gemfibrozil for secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *The New England Journal of Medicine*, 1999; 341 (6): 410-8.
119. Blankenhorn D.H, Azen S.P, Crawford D.W, Nessim S.A, Sanmarco M.E, Selzer R.H, et al. Effects of colestipol-niacin therapy on human femoral atherosclerosis. *Circulation*, 1991; 83 (2): 438-47.
120. Taylor A.J, Sullenberger L.E, Lee H.J, Lee J.K, Grace K.A. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation*, 2004; 110 (23): 3512-7.
121. O'Neala D.N, Lewickib J, Ansaric M.Z, Matthews P.G, Besta J.D. Lipid evels and peripheral vascular disease in diabetic and non-diabetic subjects. *Atherosclerosis*, 1998; 136 (1): 1-8.

8. PRILOG

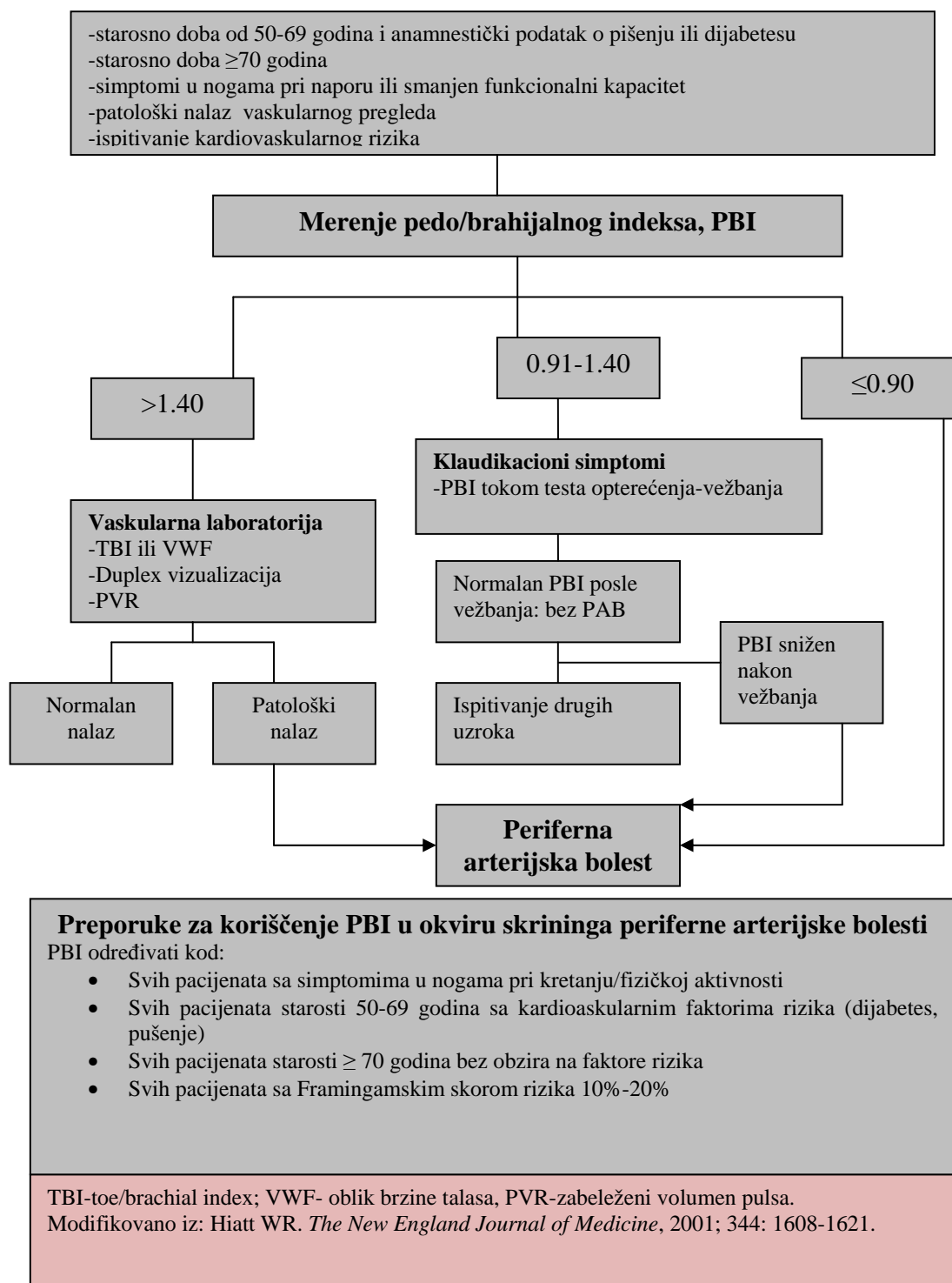
8.1. Upitnik za dijagnostikovanje intermitentne klaudikacije (Leng i Fowkes, 1992):

Ako pacijent opisuje bol ili nelagodnost u nogama pri hodu, pitati:

1. Da li bol započinje pri stajanju ili sedenju? Ne=IC
2. Da li se bol javlja pri hodu uzbrdo ili pri brzom hodu? Da=IC
3. Da li se bol javlja pri uobičajenoj brzini hoda?
Ne=blaga IC, Da=umerena/teška IC
4. Šta se dešava pri mirnom stajanju? Bol prolazi=IC
5. Da li bol prestaje u okviru 10 tak minuta ili manje po zasutavljanju?
Da=IC
6. Gde se bol javlja?

***Klaudikacioni bol se obično javlja u potkolenici,
Atipično je da se javlja u butini ili preponama, stopalima
ili zglobovima i da se širi.***

8.2. Algoritam dijagnoze periferne arterijske bolesti.



Dr Ljiljana Popović

BIOGRAFIJA

Rođena je 07. Avgusta 1964 godine u Beogradu gde je završila osnovnu školu i gimnaziju sa odličnim uspehom.

Upisala je Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu 1983, a diplomirala 1989 sa prosečnom ocenom 8.39.

Nakon diplomiranja i završenog lekarskog staža zaposlila se 1995. Kao klinički lekar na odeljenju za dijabetes Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije gde i sada radi. Specijalistički ispit iz interne medicine položila je 1997 godine sa odličnim uspehom, a subspecijalistički rad iz endokrinologije odbranila 2003 godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Magistarski rad pod nazivom 'Uticaj redukcije telesne mase na glikoregulaciju, tenziju i lipidni status u hipertenzivnih bolesnika sa insulin nezavisnim dijabetesom' (Mentor Prof. Dr Miroslava Zamaklar), odbranila je 2002 godine na medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Odlukom Naučnonastavnog veća Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu 2009 godine stekla je zvanje Istraživač saradnik za oblast endokrinologije.

Od početka rada na Klinici za edokrinologiju aktivno je uključena u naučne projekte. Do sada je autor ili koautor u više od 100 radova publikovanih u međunarodnim i domaćim časopisima i knjigama i izlaganih na međunarodnim i domaćim naučnim skupovima.

Završila je više domaćih i stranih posle diplomskih kurseva iz oblasti endokrinologije i dijabetologije.

Govori i piše engleski jezik.

Član je endokrinološke sekcije Srpskog lekarskog društva, Mediteranske grupe za studiju dijabetesa i Evropske asocijacije za studije u dijabetesu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Љиљана Поповић

број уписа _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

" Ц₃-РЕАКТИВНИ ПРОТЕИНИ ОДРЕЂЕН ВИСОКОСЕНЗИТИВНОМ МЕТОДОМ И ЛИПИДНИ БИОМАРКЕРИ У ПРЕДНИЦИЈИ РАЗВОЈА И ПРОГРЕСИЈЕ ПЕРИФЕРНЕ АРТЕРИЈСКЕ БОЛЕСТИ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПОМ 2 ДИЈАБЕТЕСА "

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

Потпис докторанда

У Београду, 07.08.2014

Љиљана Поповић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске
верзије докторског рада

Име и презиме аутора ЉИЉАНА ПОПОВИЋ

Број уписа _____

Студијски програм _____

Наслов рада "C₃-РЕАКТИВНИ ПРОТЕИНИ ОДРЕЂЕН ВИСОКОСЕНЗИТИВНОМ
МЕТОДОМ И ЛИПИДНИ БИОМАРКЕРИ У ПРЕДИКЦИЈИ РАЗВОЈА
И ПРОГРЕСИЈЕ ПЕРИФЕРНЕ АРТЕРИЈСКЕ БОЛЕСТИ КОЈ
ПАЦИЈЕНТА СА ТИПОМ 2 ДИЈАБЕТЕСА"

Ментор ПРОФ. ДР МИРОСЛАВА ЗАТАКЛАР

Потписани ЉИЉАНА ПОПОВИЋ

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

у Београду, 07.08.2014

Љ. Поповић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

" α_2 -РЕАКТИВНИ ПРОТЕИНИ ОДРЕЂЕНИ ВИСОКОСЕНЗИТИВНОМ МЕТОДОМ И ЛИПИДНИ БИОМАРКЕРИ У ПРЕДНИКЦИЈИ РАЗВОЈА И ПРОГРЕСИЈЕ ПЕРИФЕРНЕ АРТЕРИЈСКЕ БОЛЕСТИ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПОМ 2 ДИЈАБЕТЕСА"

која је моје ауторско дело.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

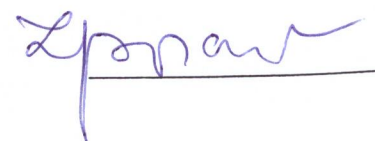
5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 07.08.2014



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.