

mgr Lena Bielawska

**Ocena wybranych markerów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein
osocza u osób z nadmierną masą ciała**

**Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Ewa Wysocka
Promotor pomocniczy: dr n. biol. Aleksandra Baszczuk

Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej



Wydział Lekarski
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

Tytuł angielski: Evaluation of the selected markers reflecting oxidative modification
of plasma lipoproteins in patients with excessive body mass

Słowa kluczowe: lipoproteiny, stres oksydacyjny, insulinooporność, otyłość

Key words: lipoproteins, oxidative stress, insulin resistance, obesity

Składam serdecznie podziękowania

*Pani dr hab. n. med. Ewie Wysockiej
za umożliwienie realizacji projektu badawczego,
nieocenioną pomoc merytoryczną,
poświęcony czas i ogrom życzliwości.*

*Pani dr n. biol. Aleksandrze Baszczuk
za cenne rady i wskazówki oraz życzliwe wsparcie
w trakcie opracowywania niniejszej pracy.*

Projekt badawczy został sfinansowany z funduszy statutowych Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej UMP oraz ze środków finansowych UMP na prowadzenie badań naukowych przez młodych naukowców nr 502-14-01131196-10062.

Spis treści

Spis rycin.....	7
Spis tabel	8
Wykaz skrótów.....	9
1. Wstęp.....	11
1.1. Otyłość jako choroba	11
1.2. Insulinooporność	12
1.3. Stres oksydacyjny	14
1.4. Reakcje peroksydacji lipidów.....	16
1.5. Markery oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein	17
1.6. Udział zmodyfikowanych oksydacyjnie LDL w patomechanizmie miażdżycy	19
1.7. Układ antyoksydacyjny	22
2. Cel pracy	25
3. Materiał i metody	26
3.1. Populacja badana	26
3.2. Metody badawcze	28
3.2.1. Doustny test tolerancji glukozy	28
3.2.2. Metody oznaczania stężenia glukozy, parametrów gospodarki lipidowej i stężenia białka C-reaktywnego	28
3.2.2.1. Metoda oznaczania stężenia glukozy	29
3.2.2.2. Metoda oznaczania cholesterolu całkowitego	29
3.2.2.3. Metoda oznaczania cholesterolu frakcji LDL	29
3.2.2.4. Metoda oznaczania cholesterolu frakcji HDL	30
3.2.2.5. Metoda oznaczania stężenia triglicerydów.....	30
3.2.2.6. Metoda obliczania stężenia cholesterolu frakcji nie-HDL	30
3.2.2.7. Metoda oznaczania stężenia białka C-reaktywnego	30
3.2.3. Metody oznaczania wykładników stresu oksydacyjnego	31
3.2.3.1. Metoda oznaczania całkowitego statusu antyoksydacyjnego.....	31
3.2.3.2. Metoda oznaczania stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym	31
3.2.4. Metody oznaczania stężenia insuliny oraz zmodyfikowanych oksydacyjnie lipoprotein frakcji LDL	32
3.2.4.1. Metoda oznaczania stężenia insuliny	32
3.2.4.2. Metoda oznaczania stężenia zmodyfikowanych oksydacyjnie LDL.....	33
3.2.5. Metoda oceny insulinooporności.....	33
3.2.6. Ocena zmian parametrów stresu oksydacyjnego w trakcie OGTT	34
3.2.7. Analiza statystyczna	34

4. Wyniki.....	35
4.1. Analiza populacji badanej z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT	35
4.1.1. Charakterystyka opisowa badanej populacji z uwzględnieniem płci	35
4.1.2. Charakterystyka opisowa badanej populacji z uwzględnieniem wyniku OGTT.....	37
4.1.3. Analiza korelacji w całej badanej populacji z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT	39
4.2. Analiza badanej populacji z uwzględnieniem kwartyli BMI (B1-B4).....	43
4.2.1. Charakterystyka opisowa i porównanie grup badanych B1-B4	43
4.2.2. Analiza korelacji w grupach badanych B1-B4.....	51
4.2.3. Analiza regresji wielokrotnej w grupach badanych B1-B4.....	53
4.3. Analiza badanej populacji z uwzględnieniem kwartyli HOMA-IR (H1-H4).....	55
4.3.1. Charakterystyka opisowa i porównanie grup badanych H1-H4.....	55
4.3.2. Analiza korelacji w grupach badanych H1-H4.....	67
4.3.3. Analiza regresji wielokrotnej w grupach H1-H4.....	69
4.4. Porównanie badanych parametrów w trakcie OGTT	71
4.5. Podsumowanie wyników	73
5. Dyskusja	74
6. Wnioski:	83
7. Streszczenie.....	84
8. Summary	86
9. Piśmiennictwo	88
10. Opinia Komisji Bioetycznej.....	94

Spis rycin

Rycina 1. Udział oxLDL w rozwoju dysfunkcji śródbłónka [56].	21
Rycina 2. Udział oxLDL w tworzeniu komórek piankowatych [56].	21
Rycina 3. Udział oxLDL w procesach prozakrzepowych [56].	21
Rycina 4. Porównanie obwodu talii między badanymi grupami B1-B4.	45
Rycina 5. Porównanie DBP między badanymi grupami B1-B4.	45
Rycina 6. Porównanie stężenia CRP między badanymi grupami B1-B4.	46
Rycina 7. Porównanie stężenia HDL-C między badanymi grupami B1-B4.	46
Rycina 8. Porównanie glikemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.	47
Rycina 9. Porównanie insulinemii w 0. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.	47
Rycina 10. Porównanie insulinemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.	48
Rycina 11. Porównanie HOMA-IR między badanymi grupami B1-B4.	48
Rycina 12. Porównanie stężenia TBARS w 0. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.	50
Rycina 13. Porównanie stężenia TBARS w 120. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.	50
Rycina 14. Porównanie BMI między badanymi grupami H1-H4.	57
Rycina 15. Porównanie obwodu talii między badanymi grupami H1-H4.	57
Rycina 16. Porównanie liczby leukocytów między badanymi grupami H1-H4.	58
Rycina 17. Porównanie stężenia CRP między badanymi grupami H1-H4.	58
Rycina 18. Porównanie stężenia HDL-C między badanymi grupami H1-H4.	59
Rycina 19. Porównanie stężenia TG między badanymi grupami H1-H4.	59
Rycina 20. Porównanie glikemii w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	60
Rycina 21. Porównanie glikemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	60
Rycina 22. Porównanie insulinemii w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	61
Rycina 23. Porównanie insulinemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	61
Rycina 24. Porównanie stężenia oksydowanych LDL w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	63
Rycina 25. Porównanie stężenia oksydowanych LDL w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	63
Rycina 26. Porównanie wskaźnika oxLDL-RO _{OGTT} między badanymi grupami H1-H4.	64
Rycina 27. Porównanie stężenia TBARS w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	64
Rycina 28. Porównanie stężenia TBARS w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	65
Rycina 29. Porównanie TAS w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	65
Rycina 30. Porównanie TAS w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.	66
Rycina 31. Porównanie wskaźnika TAS-RO _{OGTT} między badanymi grupami H1-H4.	66

Spis tabel

Tabela 1. Wartości odcięcia HOMA-IR w różnych populacjach.	14
Tabela 2. Wybrane reaktywne formy tlenu.	15
Tabela 3. Markery peroksydacji lipidów [61].	18
Tabela 4. Zasady interpretacji wyników doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT).	35
Tabela 5. Charakterystyka opisowa całej badanej populacji oraz porównanie grup kobiet i mężczyzn.	36
Tabela 6. Parametry stresu oksydacyjnego w całej badanej populacji oraz porównanie grup kobiet i mężczyzn.	37
Tabela 7. Porównanie wyników parametrów antropometrycznych i analiz laboratoryjnych krwi w grupie NGT i PRE.	38
Tabela 8. Porównanie wyników parametrów stresu oksydacyjnego w grupie NGT i PRE.	39
Tabela 9. Korelacje wykładników stresu oksydacyjnego z parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w populacji badanej z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT.	40
Tabela 10. Porównanie wyników parametrów antropometrycznych i analiz laboratoryjnych krwi w grupach badanych B1-B4.	44
Tabela 11. Porównanie wyników parametrów stresu oksydacyjnego w grupach badanych B1-B4.	49
Tabela 12. Korelacje wykładników stresu oksydacyjnego z parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w grupach badanych B1-B4.	51
Tabela 13. Wyniki analizy regresji wielokrotnej w zakresie korelacji między badanymi parametrami w grupach B1-B4.	54
Tabela 14. Porównanie wyników parametrów antropometrycznych i analiz laboratoryjnych krwi w grupach badanych H1-H4.	56
Tabela 15. Porównanie wyników parametrów stresu oksydacyjnego w grupach badanych H1-H4.	62
Tabela 16. Korelacje wykładników stresu oksydacyjnego z parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w grupach badanych H1-H4.	68
Tabela 17. Wyniki analizy regresji wielokrotnej w zakresie korelacji między badanymi parametrami w grupach H1-H4.	70
Tabela 18. Porównanie parametrów badanych w trakcie OGTT (0' i 120') w całej badanej populacji i w grupach: kobiet, mężczyzn, NGT i PRE.	71
Tabela 19. Porównanie parametrów badanych w trakcie OGTT (0' i 120') w grupach B1-B4.	72
Tabela 20. Porównanie parametrów badanych w trakcie OGTT (0' i 120') w grupach H1-H4.	72

Wykaz skrótów

ABTS [®]	2,2'-Azyno-di-3-etylobenzotiazoliny siarczan
ADA	Amerykańskie Towarzystwo Diabetologiczne (ang. <i>American Diabetes Association</i>)
ADP	adenozynodifosforan
Ant	antyoksydant drobnocząsteczkowy
Apo A	apoproteina A
Apo B	apoproteina B
ATP	adenozynotrifosforan
BAI	wskaźnik otluszczenia ciała (ang. <i>body adiposity index</i>)
BMI	wskaźnik masy ciała (ang. <i>body mass index</i>)
COBJwDL	Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Laboratoryjnej
CRP	białko C-reaktywne (ang. <i>C-reactive protein</i>)
DBP	rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi (ang. <i>diastolic blood pressure</i>)
DM	cukrzyca (łac. <i>diabetes mellitus</i>)
EC-SOD	pozakomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa (ang. <i>extracellular superoxide dismutase</i>)
ELISA	test immunoenzymatyczny (ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
G 0'	glikemia w 0. minucie OGTT
G 120'	glikemia w 120. minucie OGTT
GSH	zredukowana forma glutationu
GSSG	utleniona forma glutationu
HDL	lipoproteina o wysokiej gęstości (ang. <i>high density lipoprotein</i>)
HDL-C	cholesterol frakcji HDL (ang. <i>high density lipoprotein-cholesterol</i>)
HOMA-IR	ang. <i>homeostasis model assessment of insulin resistance</i>
HX-Fe ^{III}	metmioglobina
IDL	lipoproteina o pośredniej gęstości (ang. <i>intermediate density lipoprotein</i>)
IFG	nieprawidłowa glikemia na czczo (ang. <i>impaired fasting glucose</i>)
IGT	nieprawidłowa tolerancja glukozy (ang. <i>impaired glucose tolerance</i>)
IL-1 β	interleukina 1 β
IL-6	interleukina 6
Ins 0'	insulinemia w 0. minucie OGTT
Ins 120'	insulinemia w 120. minucie OGTT
IR	insulinooporność (ang. <i>insulin resistance</i>)
LDL	lipoproteina o niskiej gęstości (ang. <i>low density lipoprotein</i>)
LDL-C	cholesterol frakcji LDL (ang. <i>low density lipoprotein-cholesterol</i>)
LOX-1	ang. <i>lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1</i>
Lp(a)	lipoproteina (a)
MDA	dialdehyd malonowy (ang. <i>malondialdehyde</i>)
NAD ⁺	utleniona forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego
NADH	zredukowana forma dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego
NADP ⁺	utleniona forma fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego
NADPH	zredukowana forma fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego

NAFLD	niealkoholowe stłuszczenie wątroby (ang. <i>non-alcoholic fatty liver disease</i>)
NGT	grupa normoglikemiczna (ang. <i>normal glucose tolerance</i>)
nHDL-C	stężenie cholesterolu frakcji nie-HDL
OGTT	doustny test tolerancji glukozy (ang. <i>oral glucose tolerance test</i>)
oxLDL	zmodyfikowane oksydacyjnie LDL (ang. <i>oxidized LDL</i>)
oxLDL 0'	oxLDL w 0. minucie OGTT
oxLDL 120'	oxLDL w 120. minucie OGTT
PRE	grupa dysglikemiczna (ang. <i>prediabetes</i>)
PTD	Polskie Towarzystwo Diabetologiczne
RFT	reaktywne formy tlenu
RIQAS	<i>Randox International Quality Assessment Scheme</i>
SBP	skurczowe ciśnienie tętnicze krwi (ang. <i>systolic blood pressure</i>)
SDS	laurylosiarczan sodu
SKPP-UMP	Szpital Kliniczny <i>Przemienienia Pańskiego</i> Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
SOD	dysmutaza nadadtlenkowa (ang. <i>superoxide dismutase</i>)
SR	receptor zmiatający (ang. <i>scavenger receptor</i>)
TAS	całkowity status antyoksydacyjny (ang. <i>total antioxidant status</i>)
TAS 0'	TAS w 0. minucie OGTT
TAS 120'	TAS w 120. minucie OGTT
TBA	kwask tiobarbiturowy (ang. <i>thiobarbituric acid</i>)
TBARS	substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (ang. <i>thiobarbituric acid reactive substances</i>)
TBARS 0'	TBARS w 0. minucie OGTT
TBARS 120'	TBARS w 120. minucie OGTT
T-C	cholesterol całkowity (ang. <i>total cholesterol</i>)
TG	triglicerydy
TNF- α	czynnik martwicy nowotworów alfa (ang. <i>tumor necrosis factor α</i>)
TOS	całkowity status oksydacyjny (ang. <i>total oxidant status</i>)
VLDL	lipoproteina o bardzo niskiej gęstości (ang. <i>very low density lipoprotein</i>)
WBC	białe krwinki (ang. <i>white blood cell</i>)
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia (ang. <i>World Health Organization</i>)
WHR	wskaźnik talia-biodra (ang. <i>waist-to-hip ratio</i>)
WHtR	wskaźnik talia-wzrost (ang. <i>waist-to-height ratio</i>)
X-[Fe ^{IV} = O]	ferylomoglobin

1. Wstęp

Otyłość, szczególnie centralna, jest jedną z głównych przyczyn rozwoju zaburzeń metabolicznych, takich jak cukrzyca typu 2, miażdżycy, dyslipidemia czy nadciśnienie tętnicze, prowadzących do zgonów z powodu zawału serca i udaru mózgu. Minimalizowanie ryzyka sercowo-naczyniowego jest istotnym wyzwaniem współczesnej medycyny. Oceniane rutynowo parametry profilu lipidowego, a także dodatkowe, jak na przykład stężenie lipoproteiny (a) czy apoprotein: apo AI i apo B, mogą być niewystarczające do uzyskania pełnego obrazu zaburzeń metabolizmu lipoprotein. Stres oksydacyjny oraz zaburzenia metabolizmu glukozy są czynnikami modyfikującymi strukturę i funkcje lipoprotein. Wolne rodniki powodują m.in. peroksydację lipidów oraz oksydację białek, czego następstwem jest powstawanie takich produktów, jak np. zmodyfikowane oksydacyjnie lipoproteiny frakcji LDL, których obecność stanowi jeden z najważniejszych elementów patomechanizmu miażdżycy. W ścisłym związku z rozwojem miażdżycy pozostają również zaburzenia gospodarki węglowodanowej. Insulinooporność stanowi istotny czynnik w rozwoju dysglikemii, a w konsekwencji cukrzycy. Wysokie stężenie glukozy we krwi sprzyja także gromadzeniu lipoprotein zmodyfikowanych poprzez glikoksydację. Dla szczegółowej analizy zachodzących procesów oksydacji lipoprotein we krwi przydatne może być określenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego osocza oraz ocena składowych lipidowych i białkowych zmodyfikowanych lipoprotein.

1.1. Otyłość jako choroba

Według definicji Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO), nadwaga i otyłość to nieprawidłowe i nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej, będące zagrożeniem dla zdrowia [1]. Kryterium oceny stanowi prosty wskaźnik BMI (ang. *body mass index*), który wylicza się dzieląc masę ciała (w kg) przez wzrost (w cm) podniesiony do kwadratu. Wartość $> 25 \text{ kg/m}^2$ wskazuje na nadwagę, a $> 30 \text{ kg/m}^2$ – na otyłość [2]. Pod koniec XX wieku, przez wzgląd na wykazane zwiększone ryzyko występowania ciężkich powikłań medycznych, oficjalnie uznano otyłość za chorobę [3].

Oszacowano, że częstość występowania nadwagi i otyłości na świecie w 2016 roku wyniosła 1,9 mld osób dorosłych, co stanowi prawie 40% populacji. Szczególną uwagę WHO zwraca obecnie na problem otyłości u dzieci. W 2019 roku nadwagę lub otyłość miało ponad 38 mln dzieci poniżej 5. roku życia [1]. Należy jednak pamiętać, że wykorzystywany w badaniach

epidemiologicznych (u dorosłych) wskaźnik BMI nie uwzględnia dużej zmienności międzyosobniczej w zawartości tkanki tłuszczowej zależnej od wieku, płci czy pochodzenia etnicznego. W populacji azjatyckiej procentowa zawartość tkanki tłuszczowej jest większa niż u osób rasy kaukaskiej przy tej samej wartości BMI. Stąd, w 2002 roku eksperci WHO zaproponowali obniżenie wartości odcięcia BMI dla rozpoznania otyłości w tej populacji do $27,5 \text{ kg/m}^2$. Biorąc pod uwagę tę niedoskonałość wskaźnika BMI, można przypuszczać, że występowanie otyłości na świecie jest znacznie częstsze niż sugerują dostępne dane epidemiologiczne [4].

Tkanka tłuszczowa już od dawna nie jest postrzegana wyłącznie jako rezerwuuar energetyczny organizmu. Jest to aktywny narząd endokrynnny, w którym syntetyzowane są biologicznie czynne peptydy i obecne są receptory dla wielu hormonów i cytokin [5]. W sytuacji zaburzenia równowagi energetycznej organizmu, gdy bilans kaloryczny jest dodatni, dochodzi do rozrostu tkanki tłuszczowej, poprzez zwiększenie objętości już istniejących adipocytów i/lub wytworzenie nowych, mniejszych. Okazuje się, że struktura tkanki tłuszczowej, niezależnie od jej całkowitej ilości, również ma istotne znaczenie w rozwoju zaburzeń metabolicznych [6]. Dowiedziono, że wielkość komórek tłuszczowych jest ważnym wyznacznikiem wydzielania adipokin. Hipertroficzne adipocyty uwalniają znacznie większe ich ilości, w tym również czynników prozapalnych [7]. Obecność dużych komórek w tkance tłuszczowej sprzyja nietolerancji glukozy, insulinooporności, a w efekcie rozwojowi cukrzycy typu 2 [6].

Nadmierne zwiększenie masy ciała ma negatywny wpływ na wszystkie układy organizmu. Szczególnie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem chorób metabolicznych i chorób układu sercowo-naczyniowego, a przez to zwiększa ryzyko wystąpienia zawału serca i udaru mózgu [8], czego podłożem jest współzależność nadmiernej masy ciała z zaburzeniami gospodarki lipidowej i węglowodanowej, zjawiskiem insulinooporności i stresem oksydacyjnym.

1.2. Insulinooporność

Insulina jest hormonem anabolicznym wydzielanym przez komórki β wysp trzustki i wykazuje szerokie działanie w zakresie homeostazy organizmu. Reguluje metabolizm węglowodanów, głównie poprzez zwiększanie wychwytu glukozy przez tkanki, ale wpływa również na metabolizm lipidów i białek [9].

Insulina działa na komórki na drodze receptorowej. Upośledzenie przekazywania sygnału, zaburzenie struktury białka receptorowego czy też samej cząsteczki insuliny powoduje upośledzenie odpowiedzi biologicznej tkanek na insulinę – insulinooporność (ang. *insulin*

resistance, IR) [10]. Prowadzi to do powstania szeregu zaburzeń metabolicznych w tkankach. Poważnym następstwem jest pojawienie się hiperglikemii, prowadzącej do rozwoju cukrzycy typu 2. Początkowo zmniejszenie wrażliwości tkanek na insulinę jest kompensowane przez wzrost wydzielania tego hormonu, dzięki czemu u części osób cukrzyca nie rozwija się przez wiele lat [5].

Insulinooporność jest ważnym etapem rozwoju cukrzycy typu 2. Już wiele lat temu wykazano, że jest ona jej niezależnym i najsilniejszym czynnikiem patogenetycznym i może wystąpić 10 lat lub wcześniej przed ujawnieniem się choroby [10]. Jest również ściśle związana z otyłością, chociaż może się rozwinąć także u osób szczupłych [11]. Do chorób, w rozwoju których wykazano udział IR, zaliczają się też: choroba niedokrwienna serca, choroby autoimmunologiczne i nowotworowe [12-14].

Bezpośrednie zdiagnozowanie insulinooporności jest możliwe przy zastosowaniu euglikemicznej klamry metabolicznej. Została ona opracowana przez Andresa i wsp., i udoskonalona przez DeFronzo i wsp. Wymaga podania pacjentowi we wlewie dożylnym insuliny w stałym stężeniu oraz wlewu glukozy ze zmienną szybkością utrzymującą stan euglikemii. Metoda ta, w porównaniu z innymi, jest stosunkowo skomplikowana. Cechuje się jednak wysoką powtarzalnością i współczynnikiem zmienności na poziomie 10%, podczas gdy dla innych metod wynosi on od 25% do 35% [15,16]. Bardziej przystępne w ocenie insulinooporności jest wykorzystanie wskaźników wyliczanych ze wzorów, które opierają się jedynie na wartościach stężenia glukozy i insuliny na czczo. Bardziej złożone wskaźniki wymagają przeprowadzenia doustnego testu tolerancji glukozy (ang. *oral glucose tolerance test*, OGTT) w wersji podstawowej lub rozszerzonej. Obecnie najpopularniejszy jest indeks HOMA-IR (ang. *homeostasis model assessment of insulin resistance*), wyliczany ze wzoru:

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{G \text{ 0' [mmol/l]} \times \text{Ins 0' [mU/l]}}{22,5} \text{ [mU} \times \text{mmol} \times \text{l}^{-2}\text{]}$$

G 0' [mmol/l] – stężenie glukozy w osoczu na czczo

Ins 0' [mU/l] – stężenie insuliny w osoczu na czczo

Przyjmuje się, że w warunkach fizjologicznych współczynnik ten powinien wynosić 1,0. Natomiast wartość HOMA-IR, przy której należy rozpoznać insulinooporność pozostaje dyskusyjna. Znaczna część ekspertów uważa, że powinna ona wynosić 2,5 [10], jednakże autorzy wielu badań dotyczących insulinooporności przyjmują różne wartości odcięcia (tabela 1). Zwracają

oni również uwagę na wpływ wieku i płci przy wyznaczaniu optymalnej wartości odcięcia HOMA-IR dla identyfikowania osób z podwyższonym ryzykiem sercowo-naczyniowym [17].

Tabela 1. Wartości odcięcia HOMA-IR w różnych populacjach.

Badanie	Liczebność populacji	Wartość odcięcia HOMA-IR
Hedblad i wsp., Szwecja 2000 [18]	n=4816	$\geq 2,0$ (75. percentyl)
Marques-Vidal i wsp., Francja 2002 [19]	n=1153	$\geq 3,8$ (75. percentyl)
Ohnishi i wsp., Japonia 2002 [20]	n=965	$\geq 1,73$ (80. percentyl)
Geloneze i wsp., Brazylia 2006 [21]	n=1317	$\geq 2,77$ (90. percentyl)
Sumner i wsp., USA 2008 [22]	n=2804	$\geq 2,73$ (66. percentyl)
Do i wsp., Tajlandia 2010 [23]	n=1217	$M \geq 1,56; K \geq 1,64$ (90. percentyl)

1.3. Stres oksydacyjny

Udział stresu oksydacyjnego w patomechanizmie wielu chorób został już wielokrotnie potwierdzony przez badaczy z różnych dziedzin medycyny. Definiowany jest jako zaburzenie równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (RFT) a funkcjonowaniem układu antyoksydacyjnego, czego efektem są uszkodzenia składników komórkowych powodowane przez nadmiar wolnych rodników tlenowych [24]. Literatura potwierdza niezaprzeczalne znaczenie stresu oksydacyjnego przede wszystkim w chorobach metabolicznych, takich jak cukrzyca typu 2, nadciśnienie tętnicze czy miażdżyca, ale także w chorobach płuc, chorobach neurodegeneracyjnych i chorobach nowotworowych [25-29].

Tlen jest pierwiastkiem niezbędnym w procesach komórkowych, których celem jest wytworzenie energii. Znajdujący się w atmosferze tlen cząsteczkowy jest jednak stosunkowo mało reaktywny i aby mógł być wykorzystany w procesach oddychania, musi ulec wzbudzeniu. W stanie podstawowym, tzw. tlen trypletowy posiada dwa niesparowane elektrony o tym samym spinie. Zgodnie z prawami mechaniki kwantowej, cząsteczka tlenu mogłaby wejść w reakcję z inną cząsteczką tylko wtedy, gdyby posiadała ona analogicznie dwa elektrony o tym samym spinie, jednak przeciwnym do elektronów na cząsteczce tlenu. Ponieważ znaczna większość cząsteczek ma sparowane elektrony, reaktywność tlenu w stanie podstawowym jest znikoma. Wzbudzenie cząsteczki tlenu powoduje powstanie jego reaktywnych form, wśród których większość to wolne rodniki, czyli cząsteczki lub atomy posiadające jeden wolny elektron. Ich znaczna reaktywność wynika z „dążenia” do oddania nadmiarowego lub przyjęcia dodatkowego elektronu [30,31].

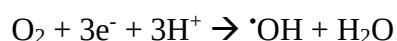
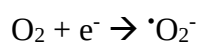
W tabeli 2. wymieniono wybrane reaktywne formy tlenu. Oprócz wolnych rodników są to także pochodne tlenowe, które nie posiadają niesparowanych elektronów, ale wykazują większą aktywność niż tlen w stanie podstawowym [32].

Tabela 2. Wybrane reaktywne formy tlenu.

Wolne rodniki tlenowe		Nierodnikowe pochodne tlenu	
Anionorodnik ponadtlenkowy	$\cdot\text{O}_2^-$	Nadtlenek wodoru	H_2O_2
Rodnik hydroksylowy	$\cdot\text{OH}$	Tlen singletowy	$^1\text{O}_2$
Rodnik wodoronadtlenkowy	$\text{HO}_2\cdot$	Ozon	O_3
Rodnik nadtlenkowy	$\text{ROO}\cdot$	Kwas podchlorawy	HOCl
Rodnik alkoksylowy	$\text{RO}\cdot$	Kwas podbromawy	HOBr

Istotnymi źródłami RFT w organizmie są: mitochondrialny łańcuch oddechowy, utlenianie jonów metali grup przejściowych (reakcja Fentona) i związków niskocząsteczkowych, reakcje enzymatyczne katalizowane przez niektóre oksydazy czy aktywacja fagocytów w odpowiedzi na zakażenie bakteryjne. W mniejszym stopniu RFT powstają pod wpływem czynników egzogennych, takich jak promieniowanie ultrafioletowe, jonizujące, ultradźwięki, dym papierosowy czy wzrost temperatury [33]. Fizjologicznie, w ilościach równoważnych do potrzeb, RFT pełnią ważne funkcje mediatorów szlaków sygnałowych i regulatorów procesów utleniania i redukcji w komórkach. Są niezbędne w odpowiedzi układu odpornościowego na zakażenie mikroorganizmami chorobotwórczymi, jak również biorą udział w procesach starzenia się i apoptozy komórek [34-37].

W mitochondriach tlen ulega czteroelektronowej redukcji do wody. W reakcji dochodzi do uwolnienia energii, a powstające dwie cząsteczki wody są niereaktywne wobec składników komórki. Reakcje jednoelektronowe tlenu z różnymi związkami, w których otrzymuje on jeden elektron, prowadzą do powstania anionorodnika ponadtlenkowego. Przyjęcie następnego elektronu skutkuje powstaniem mniej reaktywnego nadtlenku wodoru, a kolejnego – rodnika hydroksylowego. Ten ostatni ma bardzo wysoki potencjał redoks wskazujący na bardzo silne właściwości utleniające i może reagować prawie ze wszystkimi związkami występującymi w organizmie [38].



1.4. Reakcje peroksydacji lipidów

W stanie stresu oksydacyjnego nadmiarowe RFT reagują w sposób niekontrolowany z białkami, kwasami nukleinowymi i kwasami tłuszczowymi prowadząc do oksydacyjnej modyfikacji tych cząsteczek, czego efektem jest zmiana ich struktury i funkcji [39]. Uważa się, że głównym mechanizmem uszkodzania komórek i tkanek przez RFT jest peroksydacja lipidów [32]. W największym stopniu ulegają jej wielonienasycone kwasy tłuszczowe lub reszty wielonienasyconych kwasów tłuszczowych wchodzące w skład fosfolipidów. Ich podatność wynika z obecności w strukturze wiązań podwójnych. Atomy wodoru związane z atomem węgla pomiędzy dwoma wiązaniami podwójnymi mogą łatwo ulec oderwaniu przez rodnik hydroksylowy lub inną reaktywną formę tlenu. Reakcje wolnorodnikowe mają charakter łańcuchowy. Pojawienie się jednego wolnego rodnika pociąga za sobą powstanie kolejnych. W fazie inicjacji reakcji wolnorodnikowej cząsteczka kwasu tłuszczowego ulega przekształceniu w wolny rodnik alkilowy ($L^{\bullet}$) z niesparowanym elektronem przy atomie węgla, od którego wcześniej został oderwany atom wodoru. Rodnik ten może reagować z tlenem tworząc wolne rodniki nadtlenkowe ($LOO^{\bullet}$), a te z kolei reagują z innymi cząsteczkami wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Ze względu na nagromadzenie i bliskość reszt kwasów tłuszczowych w obrębie dwuwarstwy lipidowej błon komórkowych przemianom może ulec nawet kilkaset cząsteczek. Ostatecznie w wyniku terminacji zachodzących reakcji wolnorodnikowych powstają produkty nie będące wolnymi rodnikami, tj. dimery kwasów tłuszczowych oraz, zawierające grupę $-OH$, okso- lub hydroksykwasów tłuszczowych [40]. Pojawienie się reszt $-OH$ w obrębie hydrofobowego środowiska dwuwarstwy lipidowej powoduje jej dezintegrację, zaburzenie struktury i uszkodzenie [32].

Wolne rodniki, które powstają w czasie peroksydacji lipidów mogą również reagować z białkami zawartymi w błonie komórkowej. Efektem tego jest powstawanie wolnych rodników białek, które uczestnicząc w reakcji terminacji tworzą mieszane połączenia białkowo-lipidowe [40]. W procesie peroksydacji lipidów może mieć miejsce także zjawisko reinicjacji, w którym nadtlenki lipidów ulegają rozpadowi, co prowadzi do ponownego wytworzenia wolnych rodników lipidowych. Rozpad ten zapoczątkowują jony metali grup przejściowych, szczególnie żelaza i miedzi [41]. Efektem dalszych przemian produktów peroksydacji jest rozpad wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w wyniku czego powstaje dialdehyd malonowy (ang. *malondialdehyde*, MDA), 4-hydroksynonenal i inne aldehydy oraz hydroksyaldehydy. Produkty te wykazują mniejszą reaktywność niż wolne rodniki, przez co mogą dyfundować w komórkach na znaczne odległości i w ten sposób pełnić rolę tzw. „wtórnych przekaźników” uszkodzeń przez RFT. Reagują one

z innymi cząsteczkami znajdującymi się w komórkach. Wykazano wiele możliwych efektów działania aldehydowych produktów peroksydacji lipidów. Jest to np. zmiana właściwości antygenowych białek, z którymi mogą się łączyć czy hamowanie aktywności enzymów. Ponadto stwierdzono, że przyczyniają się one do pęknięcia nici DNA, wykazują działanie cytotoksyczne, kancerogenne i mutagenne [42,43].

Następstwem procesu peroksydacji lipidów jest zaburzenie integralności błon komórkowych i plazmatycznych, ze względu na modyfikację ich właściwości fizycznych. Dzieje się tak z powodu zmniejszenia hydrofobowości lipidowego wnętrza błon komórkowych i zmiany organizacji dwuwarstwy lipidowej. Powoduje to zwiększenie przepuszczalności dla jonów wodorowych oraz innych substancji polarnych. Produkty peroksydacji przyczyniają się także do depolaryzacji błony komórkowej, zaburzają jej asymetrię lipidową, hamują też aktywność enzymów błonowych i białek transportujących, np. pompy wapniowej [44-46].

Należy jednak zaznaczyć, że proces peroksydacji lipidów w pewnym stopniu jest elementem fizjologicznego metabolizmu, a zwiększenie ilości RFT jedynie go wzmacnia, a nie inicjuje. W warunkach fizjologicznych stężenie 4-hydroksynonenalu w osoczu i tkankach wynosi 0,1-1 $\mu\text{mol/l}$. W stanie stresu oksydacyjnego wartość ta może wzrosnąć do 5-10 $\mu\text{mol/l}$. Wiadomo również, że lipidy w uszkodzonych komórkach łatwiej ulegają peroksydacji, co wynika z dekompartmentacji struktur komórki i m.in. uwolnienia jonów żelaza, które mają zdolność katalizowania reakcji inicjacji [32].

1.5. Markery oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein

Bezpośredni pomiar ilości reaktywnych form tlenu jest bardzo trudny, ze względu na ich niestabilność. Dlatego też, w celu oceny nasilenia stresu oksydacyjnego, jako biomarkery wykorzystywane są produkty peroksydacji, cechujące się większą trwałością, co umożliwia oznaczenie ich metodami laboratoryjnymi. Są to proste związki, jak powszechnie znany dialdehyd malonowy, ale także zmodyfikowane białka, lipoproteiny czy zasady azotowe (tabela 3). Niektóre z poznanych biomarkerów mogą wykazywać swoistość narządową, np. 24(S)-hydroksycholesterol może być markerem oksydacji cholesterolu w mózgu [57]. Stosowanymi w wielu badaniach naukowych markerami są izoprostany. Są to produkty peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych wchodzących w skład fosfolipidów. Ze względu na długi okres półtrwania, możliwość oznaczania we krwi i w moczu oraz wysoką stabilność w próbce uznawane są za wiarygodne wskaźniki odzwierciedlające równowagę oksydacyjną organizmu. Izoprostany

o budowie zbliżonej do prostaglandyn, głównie 8-iso-PGF2 α , są szczególnie wartościowymi markerami peroksydacji cząstek lipidowych [58,59].

Metodą pośrednią oznaczania produktów peroksydacji lipidów jest natomiast opracowana przez Ohkawa i wsp. metoda oznaczania stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (ang. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*, TBARS). Reakcji ulega przede wszystkim MDA, a także nadtlutki lipidów powstające w procesie peroksydacji [60].

W ocenie nasilenia stresu oksydacyjnego u pacjentów z zaburzeniami metabolicznymi najbardziej przydatne wydaje się ilościowe oznaczanie zmodyfikowanych oksydacyjnie lipoprotein frakcji LDL. Jednak RFT nie działają wybiórczo – składniki lipidowe różnych frakcji lipoprotein mogą ulegać procesom peroksydacji w podobnym stopniu. Obecnie istnieje możliwość oznaczania również zmodyfikowanych lipoprotein frakcji HDL [61].

Tabela 3. Markery peroksydacji lipidów [61].

Biomarkery peroksydacji lipidów	
Oksydowane wolne i estrowe formy kwasów tłuszczowych	wodoronadtlenki izoprostany, izofurany, neuroprostany cyklopentenon: 15-deoksy-prostaglandyna J2 epoksyd sprzężony dien etan, pentan
Aldehydy	alfa, beta-nienasycone aldehydy akroleina, aldehyd krotonowy, 2-heksenal, 2-nonenal, 4-hydroksy-2-heksenal, 2-hydroksy-2-nonenal ketoaldehydy i dialdehydy dialdehyd malonowy TBARS
Oksysterole	5-OOHCh, 7-OOHCh, 7-OHCh, 7-KCh, 5,6-epoxyCh, triol, chlorohydryna
Oksydowane formy lipoprotein	zmodyfikowane oksydacyjnie LDL zmodyfikowane oksydacyjnie HDL

Objaśnienia: TBARS – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym; Ch – cholesterol.

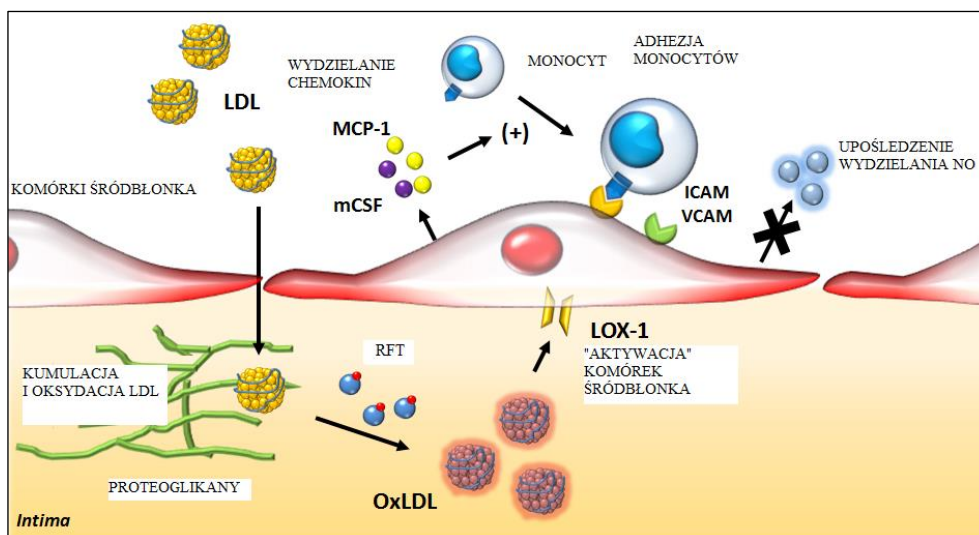
1.6. Udział zmodyfikowanych oksydacyjnie LDL w patomechanizmie miażdżycy

Zmodyfikowane oksydacyjnie lipoproteiny frakcji LDL (ang. *oxidized LDL*, oxLDL) zajmują bardzo ważne miejsce w patomechanizmie miażdżycy, u podstawy którego leży uszkodzenie śródbłonna naczyniowego (ryciny 1-3) [47]. Zwiększenie stężenia LDL w obecności stresu oksydacyjnego sprzyja procesom peroksydacji, a zmodyfikowane lipoproteiny gromadzą się w ścianach naczyń krwionośnych, zapoczątkowując kaskadę reakcji zapalnej [48]. Na skutek zwiększenia ekspresji molekuł adhezyjnych na uszkodzonych komórkach śródbłonna dochodzi do przyciągania i aktywacji komórek układu immunologicznego, głównie monocytów, a także płytek krwi i komórek mięśni gładkich ścian naczyń w miejscu uszkodzenia. W ścianie naczynia krwionośnego monocyty transformują w makrofagi, które na drodze fagocytozy pobierają oxLDL i w wyniku przeładowania tłuszczami przekształcają się w komórki piankowe będące istotnym elementem blaszki miażdżycowej [47].

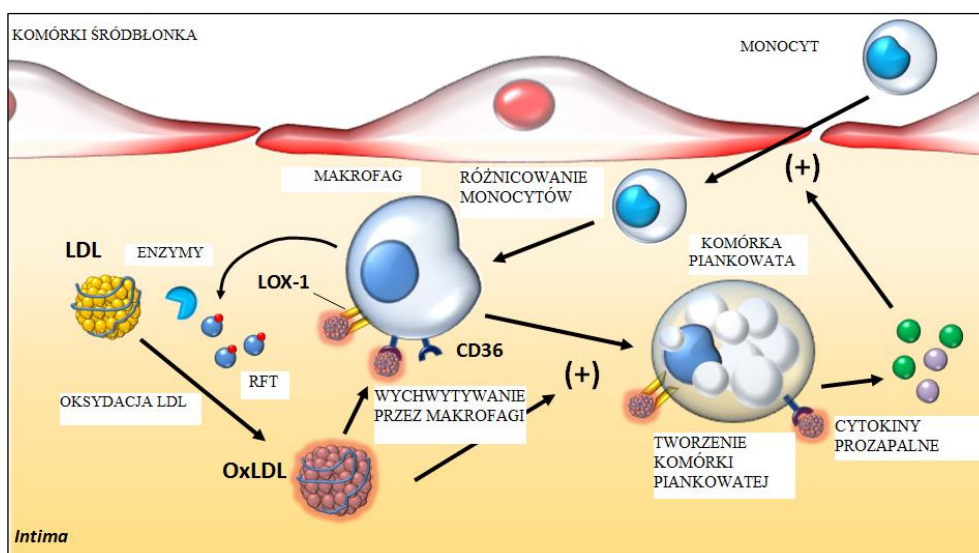
Przylącznie oxLDL przez makrofagi następuje na drodze receptorowej, przy udziale różnych receptorów, w tym receptorów zmiatających (ang. *scavenger receptor*, SR). Są one grupą białek, wśród których wyróżnia się co najmniej 6 klas (od A do F), i które wiążą zmodyfikowane lipoproteiny, polianiony oraz komórki ulegające apoptozie [48,49]. Jednym z nich jest receptor CD36, który znajduje się na powierzchni monocytów, makrofagów, płytek krwi, komórek śródbłonna, adipocytów i wielu innych komórek organizmu. Rozpoznaje on zmodyfikowane oksydacyjnie LDL głównie poprzez ich składnik lipidowy, natomiast drugi ważny receptor, SR-A, łączy się z oxLDL poprzez utlenioną część białkową lipoproteiny. W badaniach na zmodyfikowanych genetycznie myszach wykazano, że za wychwyt i degradację zmodyfikowanych LDL w 70-90% odpowiadają receptory CD36 i SR-A. Udział innych receptorów typu *scavenger* jest stosunkowo niewielki [50].

Najważniejszym receptorem, który odpowiada za interakcje oxLDL z komórkami jest LOX-1 (ang. *lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1*). Jest on zlokalizowany na komórkach śródbłonna, makrofagach, komórkach mięśni gładkich, a do jego ligandów należą również inne zmodyfikowane lipoproteiny, zaktywowane płytki krwi i komórki apoptotyczne. Przy udziale tego receptora dochodzi do indukcji uszkodzania śródbłonna przez oxLDL, nasilenia migracji i proliferacji komórek mięśni gładkich, tworzenia komórek piankowatych, a także destabilizacji istniejącej już blaszki miażdżycowej [51,52].

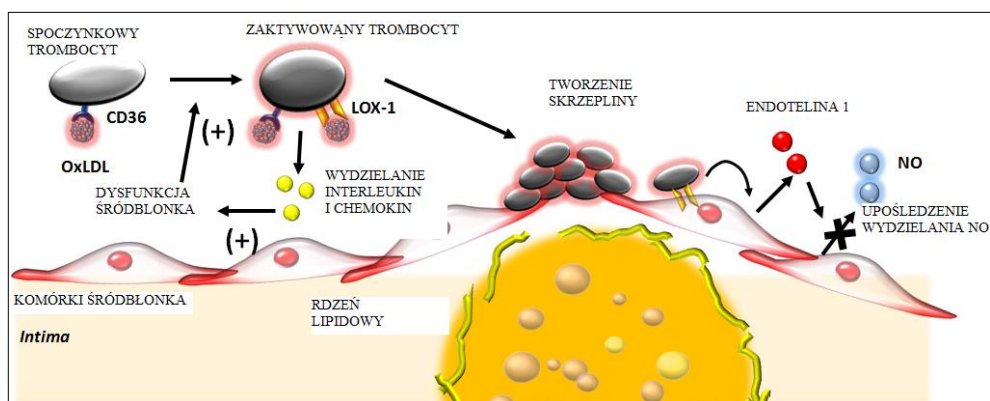
Zmodyfikowane oksydacyjnie LDL sprzyjają dalszemu rozszerzaniu się miejscowego procesu zapalnego poprzez stymulację makrofagów i migracji kolejnych monocytów do miejsca powstawania zmian miażdżycowych. Powodują one również zwiększenie ekspresji metaloproteinaz [53], a także zaburzają ekspresję enzymu syntazy tlenku azotu [54]. Z kolei uwalniane z makrofagów mediatory stanu zapalnego, takie, jak: interleukina 1β (IL- 1β) i czynnik martwicy nowotworów alfa (ang. *tumor necrosis factor α* , TNF- α) nasilają wiązanie cząsteczek LDL do śródbłónki i mięśniówki naczynia krwionośnego [55]. OxLDL wykazują również działanie prozakrzepowe poprzez upośledzanie wytwarzania tlenku azotu przez komórki śródbłónki, co skutkuje wzrostem wydzielania prostaglandyn, które nasilają agregację płytek krwi. Z drugiej strony oxLDL są także wiązane przez receptor CD36, który, jak już wspomniano, znajduje się na powierzchni trombocytów, co powoduje ich aktywację [56]. Zmodyfikowane oksydacyjnie LDL odgrywają zatem podwójną rolę w tworzeniu blaszki miażdżycowej: są jednocześnie substratem, jak i regulatorem stale wzmacnianego procesu aterogenezy [47].



Rycina 1. Udział oxLDL w rozwoju dysfunkcji śródbłonna (zmodyfikowano na podstawie [56]).



Rycina 2. Udział oxLDL w tworzeniu komórek piankowych (zmodyfikowano na podstawie [56]).



Rycina 3. Udział oxLDL w procesach prozakrzepowych (zmodyfikowano na podstawie [56]).

1.7. Układ antyoksydacyjny

Dla zachowania równowagi oksydacyjnej organizmu i obrony komórek przed szkodliwym działaniem RFT, niezbędny jest układ hamujący nadmierne powstawanie wolnych rodników i neutralizację już powstałych.

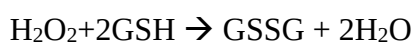
Pierwszą linię obrony antyoksydacyjnej stanowią enzymy, których rolą jest przekształcenie istniejących reaktywnych form tlenu w formy mniej szkodliwe. Należy do nich przede wszystkim rodzina dysmutaz ponadtlenkowych (ang. *superoxide dismutase*, SOD, EC. 1.15.1.1), peroksydazy glutationowe (EC. 1.11.1.9) i katalaza (EC. 1.11.1.6) [62].

Funkcją SOD w obronie antyoksydacyjnej jest katalizowanie reakcji dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego:

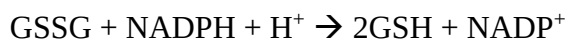


Z dwóch cząsteczek anionorodnika ponadtlenkowego powstaje tlen molekularny i nadtlenek wodoru. Efektem reakcji nie jest zatem całkowita neutralizacja anionorodnika ponadtlenkowego, a jedynie przekształcenie go w mniej reaktywną formę tlenu. Wyróżnia się trzy klasy dysmutaz. Każda z nich pełni podobne funkcje, jednak różnią się one budową cząsteczki, umiejscowieniem w komórce oraz lokalizacją i strukturą kodującego je genu. Enzymy te zawierają w centrach aktywnych jony metali o przejściowej wartościowości. Forma cytoplazmatyczna posiada jony miedzi i cynku (Cu,Zn-SOD), mitochondrialna – jony manganu (Mn-SOD), natomiast stanowiąca trzecią grupę, tzw. pozakomórkowa SOD (ang. *extracellular SOD*, EC-SOD), zawiera jony miedzi i cynku, podobnie jak cytoplazmatyczna SOD [63].

Peroksydazy glutationowe są enzymami antyoksydacyjnymi zlokalizowanymi głównie wewnątrzkomórkowo i odpowiadają za rozkład nadtlenu wodoru:

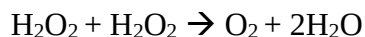


Donorem atomów wodoru w tej reakcji jest glutation (GSH), przekształcany do formy utlenionej, która wykazuje właściwości toksyczne (GSSG). Dzięki współdziałającej reduktazie glutationowej możliwe jest odtworzenie zredukowanej formy glutationu w reakcji z NADPH.



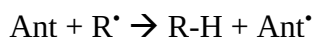
Peroksydazy glutationowe posiadają w centrum aktywnym reszty selenocysteiny, aminokwasu będącego analogiem cysteiny i zawierającego w swojej strukturze atom selenu [64].

Nadtlenek wodoru może być również rozkładany w reakcji katalizowanej przez katalazę, której produktami są tlen cząsteczkowy i woda:

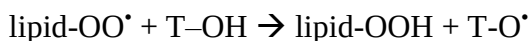


Charakterystyczną cechą budowy podjednostek tego enzymu jest obecność, głęboko osadzonego w każdej z nich, układu hemowego z centralnie zlokalizowanym atomem żelaza [65].

Enzymy antyoksydacyjne poprzez rozkładanie nadtlenu wodoru ograniczają powstawanie silnie reaktywnego rodnika hydroksylowego. Za jego neutralizację odpowiadają natomiast antyoksydanty drobnocząsteczkowe (Ant). Są to witaminy, takie jak: witamina E, A czy C, a także glutation, koenzym Q, bilirubina, kwas moczowy i inne. Ich mechanizm działania zasadniczo polega na przekazaniu jonu wodoru, który „paruje” wolny elektron rodnika tlenowego ($\text{R}^\bullet$), w wyniku czego powstaje neutralny związek (R-H), np. woda oraz rodnik mniej reaktywny ($\text{Ant}^\bullet$). Niesparowany elektron powstałego rodnika ulega delokalizacji, co warunkuje jego względną stabilność [66].



Witamina E jest najważniejszym lipofilnym antyoksydantem drobnocząsteczkowym. Reakcja tokoferolu (T-OH) z organicznym rodnikiem ponadtlenkowym ($\text{lipid-OO}^\bullet$) prowadzi do powstania stabilnego produktu (lipid-OOH) i wolnego rodnika tokoferylowego ($\text{T-O}^\bullet$) [67].



Jest on stosunkowo mało reaktywny i w związku z tym nie wchodzi do dalszej reakcji prolongacji. Może jednak reagować z innym wolnym rodnikiem – jest to równoznaczne z terminacją dwóch ciągów reakcji wolnorodnikowych. Może też ulec redukcji przez inne antyoksydanty, dzięki czemu zostaje odtworzona wyjściowa struktura witaminy E [32].

W obronie antyoksydacyjnej komórek biorą również udział enzymy naprawcze oraz białka wiążące metale, takie jak ceruloplazmina, transferyna czy haptoglobina, a także metalotioneiny [68].

Współdziałanie opisanych elementów obrony antyoksydacyjnej zapewnia skuteczną barierę przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu. Według dostępnych źródeł, procentowy udział poszczególnych składników jest różny i może być zmienny w zależności od trybu życia czy toczącego się w organizmie procesu chorobowego. Przyjmuje się, że udział poszczególnych składników jest następujący: kwas moczowy – 37-60%, grupy tiolowe białek osocza – 10-32%, askorbinian – 2-27%, tokoferol – 2-7%. Różnice w udziale procentowym wymienionych składników wynikają także ze stosowania przez naukowców odmiennych metod analitycznych, gdyż reaktywność tych składników może zależeć od warunków przeprowadzanej reakcji, np. od pH [32,69–72]. Niezależnie od tego, istnieje możliwość określenia tzw. całkowitego statusu antyoksydacyjnego (ang. *total antioxidant status*, TAS), czyli ogólnej zdolności neutralizacji RFT przez antyoksydanty zawarte w osoczu, bez konieczności odrębnego oznaczania poszczególnych składników [73].

2. Cel pracy

Celem pracy jest analiza parametrów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein wraz z potencjalnymi czynnikami modyfikującymi: pro- i antyoksydacyjnymi u pacjentów z nadmierną masą ciała oraz ocena dynamiki zmian tych parametrów pod wpływem zastosowanego bodźca – 75 g glukozy. W szczególności analiza ta obejmuje:

1. Ocenę parametrów stresu oksydacyjnego: TBARS, TAS i oxLDL u pacjentów z nadmierną masą ciała w warunkach podstawowych (we krwi rano, na czczo).
2. Określenie dynamiki zmian TBARS, TAS i oxLDL we krwi pod wpływem zastosowanego bodźca 75 g glukozy w trakcie doustnego testu tolerancji glukozy.
3. Ocenę zależności między badanymi wskaźnikami stresu oksydacyjnego (TBARS, TAS, oxLDL).
4. Ocenę wpływu czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych na badane parametry stresu oksydacyjnego (TBARS, TAS, oxLDL).

3. Materiał i metody

Projekt badawczy uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 502/16 oraz uchwała nr 587/18 jako wyodrębnienie tematu pracy doktorskiej).

Praca została wykonana w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

3.1. Populacja badana

Grupę badaną stanowili pacjenci Oddziału Nadciśnienia Tętniczego i Zaburzeń Metabolicznych, Poradni Zaburzeń Metabolicznych i Poradni Nadciśnienia Tętniczego oraz Oddziału Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej, i Poradni Pulmonologii Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (SKPP-UMP) w trakcie postępowania diagnostycznego.

Do badań kwalifikowano kobiety i mężczyzn powyżej 18 roku życia, z nadmierną masą ciała, tj. z BMI > 25 kg/m². Rekrutowano osoby nie stosujące żadnej specjalnej diety, u których wykluczono schorzenia ostre i przewlekłe, takie jak: zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, choroby układu oddechowego, tj. przewlekłą niewydolność oddechową, zapalenie płuc czy zapalenie oskrzeli, przewlekłe choroby nerek i wątroby, choroby autoimmunologiczne, nadczynności i niedoczynności gruczołów dokrewnych, choroby nowotworowe, niedokrwistość i zaburzenia hemostazy. Kryterium włączenia do grupy badanej był również brak dotychczasowego rozpoznania cukrzycy i aktualna glikemia na czczo < 7,0 mmol/l (< 126 mg/dl) oraz brak przeciwwskazań do przeprowadzenia OGTT [74,75]. Ponadto warunkiem zakwalifikowania do badań było stężenie białka C-reaktywnego (ang. *C-reactive protein*, CRP) < 10 mg/l (wartości powyżej 10 mg/l są uznawane za wykładnik stanu zapalnego) [76], a także brak patologicznych wyników innych rutynowych badań laboratoryjnych, zlecanych w ramach diagnostyki w wymienionych jednostkach SKPP-UMP, m.in. morfologii krwi i podstawowych parametrów biochemicznych. U osób, u których w trakcie badania wykryto czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, m.in.: nadciśnienie tętnicze czy zaburzenia metaboliczne, kontynuowano postępowanie diagnostyczno-terapeutyczne w odpowiednich jednostkach SKPP-UMP.

Ostatecznie do badania zakwalifikowano 120 osób, w tym 46 kobiet i 74 mężczyzn w wieku od 26 do 75 lat. Wszyscy uczestnicy udzielili świadomej, pisemnej zgody na udział w badaniu, w tym zarówno na pobranie krwi i wykorzystanie jej jako materiał badany oraz na przetwarzanie

uzyskanych wyników w celach statystycznych. Wszystkie dane osobowe pacjentów zostały zanonimizowane.

Po uprzednim przeprowadzeniu u pacjentów badania podmiotowego i przedmiotowego, ze szczególnym uwzględnieniem pomiarów antropometrycznych (dane kliniczne uzyskano z wymienionych wyżej jednostek SKPP-UMP), oraz przeanalizowaniu wyników rutynowych badań laboratoryjnych, przystąpiono do wykonania analiz zaplanowanych w projekcie. U każdej z zakwalifikowanych osób wykonano:

1. Doustny test tolerancji glukozy z pobraniem krwi żyłnej na czczo (0. minuta) i po 120. minutach od podania 75 g glukozy i pomiarem glikemii.
2. Oznaczenie stężenia cholesterolu całkowitego (ang. *total cholesterol*, T-C), cholesterolu frakcji HDL (ang. *high density lipoprotein-cholesterol*, HDL-C), cholesterolu frakcji LDL (ang. *low density lipoprotein-cholesterol*, LDL-C), triglicerydów (TG) - na czczo; dodatkowo wyliczono stężenie cholesterolu frakcji nie-HDL (nHDL-C).
3. Oznaczenie stężenia insuliny w osoczu w trakcie OGTT na czczo oraz po 120. minutach.
4. Oznaczenie całkowitego statusu antyoksydacyjny osocza w trakcie OGTT na czczo oraz po 120. minutach.
5. Oznaczenie produktów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein jako substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym w trakcie OGTT na czczo oraz po 120. minutach.
6. Oznaczenie stężenia zmodyfikowanych oksydacyjnie lipoprotein frakcji LDL w trakcie OGTT na czczo oraz po 120. minutach.
7. Wyliczono wskaźnik HOMA-IR oraz wskaźniki: oxLDL-ROGTT, TBARS-ROGTT, TAS-ROGTT.

Krew do określonych w projekcie badań była pobierana zgodnie z obecnie obowiązującymi standardami, zarówno w zakresie przygotowania pacjenta, jak i pobierania próbek. Od pacjentów pobierana była na czczo krew pełna do probówki z aktywatorem krzepnięcia (4,9 ml), w celu uzyskania surowicy oraz do probówki z heparyną (4,9 ml), w celu uzyskania osocza heparynowego (S-Monovette®, Sarstedt, Niemcy). W trakcie doustnego testu tolerancji glukozy, po 120. minutach od podania 75 g glukozy ponownie pobierano krew do probówek z aktywatorem krzepnięcia (2,7 ml) i z heparyną (4,9 ml).

Materiałem badanym była surowica i osocze heparynowe uzyskane z krwi pacjentów. Podstawowe laboratoryjne parametry gospodarki lipidowej i węglowodanowej oznaczane były w świeżych próbkach w dniu pobrania. Pozostałą część materiału przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania pozostałych oznaczeń.

3.2. Metody badawcze

3.2.1. Doustny test tolerancji glukozy

OGTT przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi w czasie prowadzenia badań wytycznymi Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) i Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (ang. *American Diabetes Association*, ADA), po uprzednim rozważeniu wskazań i przeciwwskazań do wykonania testu. Pacjenci przed przystąpieniem do badania zostali poinformowani o konieczności zachowania dotychczasowego trybu życia, niemodyfikowania aktywności fizycznej i nieograniczania celowo spożycia węglowodanów. Krew żylną do oznaczenia glukozy na czczo pobierano standardowo w godzinach porannych, po wypoczynku nocnym. Następnie podano do wypicia roztwór zawierający 75 g glukozy i po upływie dwóch godzin, które pacjenci spędzili w miejscu wykonywania testu, w spoczynku, ponownie pobrano próbki krwi żyłnej.

3.2.2. Metody oznaczania stężenia glukozy, parametrów gospodarki lipidowej i stężenia białka C-reaktywnego

Wszystkie oznaczenia wykonano w Laboratorium nr 2 Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, na bazie którego działa Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej UM w Poznaniu, rutynowo stosowanymi metodami na analizatorze biochemicznym Dimension EXL (Siemens, USA). Materiałem badanym było osocze i surowica uzyskana z krwi żyłnej pobranej od pacjentów w dniu wykonania oznaczeń.

Oznaczane w Laboratorium nr 2 parametry podlegają codziennej kontroli wewnątrzlaboratoryjnej przy użyciu surowic kontrolnych ze znanym stężeniem badanego analitu. Laboratorium uczestniczy w kontroli zewnątrzlaboratoryjnej przeprowadzanej przez Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Laboratoryjnej w Łodzi (COBJwDL) i od wielu lat, co roku, uzyskuje Świadectwa COBJwDL m. in. w zakresie chemii klinicznej, oraz w kontroli RIQAS (*Randox International Quality Assessment Scheme*) realizowanej przez firmę Randox.

3.2.2.1. Metoda oznaczania stężenia glukozy

Stężenie glukozy w osoczu oznaczano metodą heksokinazową. Glukoza w obecności ATP i jonów magnezu ulega fosforylacji do glukozy-6-fosforanu i ADP w reakcji katalizowanej przez heksokinazę. Następnie, w obecności NAD^+ , powstały glukozy-6-fosforan jest utleniany przez dehydrogenazę glukozy-6-fosforanową. Produktem reakcji jest 6-fosfoglukonian oraz NADH. Na każdy mol glukozy obecnej w próbce, jeden mol NAD ulega redukcji do NADH. Absorbancję próbki mierzy się spektrofotometrycznie.

3.2.2.2. Metoda oznaczania cholesterolu całkowitego

Stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy oznaczono metodą enzymatyczną. W pierwszym etapie cholesterol przy udziale esterazy cholesterolowej zostaje uwolniony z połączeń estrowych w lipoproteinach. Następnie wolny cholesterol w próbce jest utleniany przez oksydazę cholesterolową do cholestenonu i nadtlenku wodoru. Wytworzony nadtlenek wodoru jest wykorzystywany w kolejnej reakcji, katalizowanej przez peroksydazę chrzanową, w której powstaje barwny produkt (reakcja Trindera). Absorbancja roztworu zmierzona spektrofotometrycznie jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu w próbce.

3.2.2.3. Metoda oznaczania cholesterolu frakcji LDL

Stężenie cholesterolu frakcji LDL oznaczono bezpośrednią metodą enzymatyczną, bez konieczności wcześniejszej izolacji frakcji LDL. W pierwszym etapie detergent 1 rozpuszcza lipoproteiny inne niż LDL, a uwolniony z nich cholesterol jest rozkładany bez wytworzenia zabarwienia roztworu. Detergent 2 rozpuszcza pozostałe w roztworze cząstki LDL. Pod wpływem esterazy i oksydazy cholesterolowej wolny cholesterol zostaje utleniony do cholestenonu i nadtlenku wodoru. W reakcji Trindera katalizowanej przez peroksydazę chrzanową z powstałego nadtlenku wodoru, pochodnej fenolu i 4-aminoantypiryny powstaje barwny produkt. Absorbancja próbki jest mierzona spektrofotometrycznie. Intensywność zabarwienia roztworu jest wprost proporcjonalna do stężenia LDL-C.

3.2.2.4. Metoda oznaczania cholesterolu frakcji HDL

HDL-C oznaczono bezpośrednią metodą enzymatyczną. W pierwszym etapie lipoproteiny inne niż HDL tworzą z siarczanem dekstranu w obecności siarczanu magnezu rozpuszczalne w wodzie kompleksy. Cholesterol frakcji HDL jest uwalniany z połączeń estrowych przy udziale esterazy cholesterolowej, a następnie utleniany do cholestenonu i nadtlenku wodoru w reakcji katalizowanej przez oksydazę cholesterolową. W następnym etapie z powstałego nadtlenku wodoru, pochodnej fenolu i 4-aminoantypiryny pod wpływem peroksydazy chrzanowej powstaje barwny produkt. Absorbancja roztworu zmierzona spektrofotometrycznie jest wprost proporcjonalna do stężenia HDL-C w próbce.

3.2.2.5. Metoda oznaczania stężenia triglicerydów

Stężenie triglicerydów w surowicy oznaczono metodą enzymatyczną. W pierwszym etapie, pod wpływem lipazy lipoproteinowej, triglicerydy zawarte w próbce są rozkładane do wolnych kwasów tłuszczowych i glicerolu. W kolejnych reakcjach enzymatycznych przemianom ulega glicerol, z którego ostatecznie powstaje fosforan dihydroksyacetonu i nadtlenek wodoru. Ostatnim etapem jest reakcja Trindera. Pod wpływem peroksydazy chrzanowej z nadtlenku wodoru, pochodnej fenolu i 4-aminoantypiryny powstaje barwny produkt, którego ilość jest proporcjonalna do stężenia triglicerydów w badanej próbce. Absorbancja roztworu jest mierzona spektrofotometrycznie.

3.2.2.6. Metoda obliczania stężenia cholesterolu frakcji nie-HDL

Stężenie nie-HDL-C jest wskaźnikiem łącznej ilości aterogennych lipoprotein we krwi, czyli VLDL, remnantów VLDL, IDL, LDL oraz Lp (a). Stężenie nHDL-C wyliczono ze wzoru:

$$\text{nHDL-C} = \text{T-C} - \text{HDL-C}$$

3.2.2.7. Metoda oznaczania stężenia białka C-reaktywnego

Stężenie CRP w surowicy oznaczano wysokoczułą metodą immunologiczną. Syntetyczne cząsteczki opłaszczane są przeciwciałami skierowanymi przeciwko CRP, które w jego obecności w próbce ulegają agregacji. Zmętnienie powstające w wyniku łączenia się cząsteczek jest mierzone techniką turbidymetryczną.

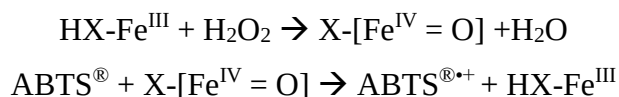
3.2.3. Metody oznaczania wykładników stresu oksydacyjnego

3.2.3.1. Metoda oznaczania całkowitego statusu antyoksydacyjnego

Oznaczenia wykonano w osoczu heparynowym metodą kolorymetryczną przy użyciu zestawu odczynników Randox Total Antioxidant Status (Randox Laboratories Ltd., Wielka Brytania) i spektrofotometru StatfaxTM 1904 Plus (Awareness Technology, Inc., USA) w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej UMP.

Zasada metody

Metoda opiera się na reakcji ABTS[®] [2,2'-Azyno-di-(3-etylobenzotiazoliny siarczan)] z peroksydazą (metmioglobina) i nadtlenkiem wodoru, w której dochodzi do wytwarzania kationorodnika ABTS^{®•+}, czego efektem jest powstawanie zielono-niebieskiego zabarwienia roztworu. Antyoksydanty zawarte w dodanym do mieszaniny reakcyjnej osoczu blokują powstawanie ABTS^{®•+}, a tym samym osłabiają reakcję barwną. Stopień zahamowania reakcji barwnej jest proporcjonalny do zawartości przeciwutleniaczy w badanej próbce. Absorbancja roztworu jest mierzona spektrofotometrycznie.



HX-Fe^{III} – metmioglobina

X-[Fe^{IV} = O] – ferryloboglobina

ABTS[®] – 2,2'-Azyno-di-(3-etylobenzotiazoliny siarczan)

Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 1,6%, a zmienności międzyseryjnej 3,5%.

3.2.3.2. Metoda oznaczania stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym

Oznaczenia TBARS w osoczu heparynowym wykonano metodą spektrofotometryczną w Zakładzie Biochemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej UMP przy użyciu odczynników firmy Sigma (Niemcy) i spektrofotometru Specord M40 (Niemcy).

Zasada metody

Metoda oznaczania TBARS w osoczu oparta jest na reakcji produktów peroksydacji lipidów, głównie dialdehydu malonowego, z kwasem tiobarbiturowym (ang. *thiobarbituric acid*, TBA) z wytworzeniem czerwonego zabarwienia roztworu. W skład mieszaniny reakcyjnej wchodzi TBA, laurylosiarczan sodu oraz kwas octowy o pH 3,5. Po dodaniu osocza badanego próbka jest ogrzewana w łaźni wodnej w temp. 95°C przez 60 min. W kolejnym etapie do ochłodzonej mieszaniny dodawany jest alkohol butylowy i pirydyna, aby po jej wymieszaniu i odwirowaniu otrzymać ekstrakt zawierający barwny produkt reakcji. Następnie absorbancja oddzielonego ekstraktu jest mierzona spektrofotometrycznie. Stężenie produktów peroksydacji lipidów jest wyrażone w $\mu\text{mol/l}$, jako ekwiwalent MDA (wzorzec do krzywej kalibracyjnej). Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 2,0%, a zmienności międzyseryjnej 3,6%.

3.2.4. Metody oznaczania stężenia insuliny oraz zmodyfikowanych oksydacyjnie lipoprotein frakcji LDL

Oznaczenia wykonano w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej UMP metodą immunoenzymatyczną ELISA z zastosowaniem odpowiednich zestawów odczynników, spektrofotometru z czytnikiem mikropłytek SunriseTM oraz automatycznej płuczki do mikropłytek Hydroflex firmy TECAN (Tecan Group Ltd., Männedorf, Szwajcaria).

3.2.4.1. Metoda oznaczania stężenia insuliny

Stężenie insuliny w osoczu heparynowym oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu odczynników firmy DRG (DRG International, Inc., USA).

Zasada metody

W teście immunoenzymatycznym ELISA do oznaczania stężenia insuliny fazę stałą stanowią dołki mikropłytki pokryte przeciwciałami monoklonalnymi skierowanymi przeciwko ludzkiej insulinie. Cząsteczka insuliny znajdująca się w próbce łączy się z tym przeciwciałem, a następnie do powstałego kompleksu dołączane jest kolejne przeciwciało znakowane biotyną tworząc tzw. „kanapkę”. W kolejnym etapie z przeciwciałem znakowanym biotyną wiąże się kompleks streptawidyna-peroksydaza. Po dodaniu substratu (3,3',5,5'-tetrametylobenzidyna), w wyniku reakcji enzymatycznej katalizowanej przez peroksydazę następuje zmiana zabarwienia roztworu, którego intensywność jest mierzona spektrofotometrycznie. Zależność absorbancji od stężenia

insuliny w próbce jest wprost proporcjonalna. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 2,2%, a zmienności międzyseryjnej 4,5%.

3.2.4.2. Metoda oznaczania stężenia zmodyfikowanych oksydacyjnie LDL

Stężenie oxLDL w surowicy oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA przy użyciu zestawu odczynników firmy Mercodia (Mercodia AB, Szwecja).

Zasada metody:

Test immunoenzymatyczny ELISA do oznaczania oxLDL to bezpośredni test kanapkowy z dwoma monoklonalnymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko determinantom na zmodyfikowanej oksydacyjnie apoproteinie B (apo B). Fazę stałą stanowią dołki mikropłytki. OxLDL zawarte w próbce łączą się z przeciwciałami związanymi z fazą stałą. Następnie do cząsteczek apo B związanych w kompleksie przyłączają się mysie przeciwciała znakowane peroksydazą. W wyniku reakcji enzymatycznej następującej po podaniu substratu (3,3',5,5'-tetrametylobenzydyna) następuje zmiana zabarwienia roztworu, którego intensywność jest mierzona spektrofotometrycznie. Zależność absorbancji od stężenia oxLDL w próbce jest wprost proporcjonalna. Współczynnik zmienności wewnątrzseryjnej metody wyniósł 6,4%, a zmienności międzyseryjnej 7,9%.

3.2.5. Metoda oceny insulinooporności

Do oceny stopnia insulinooporności wykorzystano wskaźnik HOMA-IR (*ang. homeostasis model assessment of insulin resistance*), który wyliczono według poniższego wzoru:

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{G \text{ 0' [mmol/l]} \times \text{Ins 0' [mU/l]}}{22,5} \text{ [mU} \times \text{mmol} \times \text{l}^{-2}\text{]}$$

G 0' [mmol/l] – stężenie glukozy w osoczu na czczo

Ins 0' [mU/l] – stężenie insuliny w osoczu na czczo

3.2.6 Ocena zmian parametrów stresu oksydacyjnego w trakcie OGTT

W celu zbadania wpływu 75 g glukozy na zmiany wykładników stresu oksydacyjnego wykorzystano wskaźnik R_{OGTT} , wyliczany jako stosunek wartości danego parametru w 120. minucie OGTT do wartości uzyskanej na czczo (0. minuta). Dla oznaczanych parametrów wyznaczono odpowiednie wskaźniki:

$$\text{oxLDL-R} = \frac{\text{oxLDL } 120'}{\text{oxLDL } 0'}$$

$$\text{TBARS-R} = \frac{\text{TBARS } 120'}{\text{TBARS } 0'}$$

$$\text{TAS-R} = \frac{\text{TAS } 120'}{\text{TAS } 0'}$$

3.2.7 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica v. 13.3 (StatSoft Inc., USA) w całej badanej populacji oraz w grupach badanych. Testem Shapiro-Wilka weryfikowano czy wyniki badanych zmiennych prezentują rozkład normalny. Wobec stwierdzonego braku normalności, w dalszej analizie stosowano testy nieparametryczne. Wyniki statystyki opisowej w całej badanej populacji i w podgrupach przedstawiono w postaci mediany oraz dolnego i górnego kwartyła. Podgrupy, w których prowadzono analizy statystyczne, wyróżniono poprzez wyznaczenie kwartyli wybranych zmiennych w całej populacji. Dla zbadania istotności różnic między dwiema grupami wykorzystano test U Manna-Whitneya, natomiast porównania wielu grup przeprowadzono testem Kruskala-Wallisa z analizą *post hoc* porównań wielokrotnych. Korelacje między badanymi zmiennymi oceniano za pomocą współczynnika R Spearmana. Siłę związku klasyfikowano jako nikłą ($0 < R < 0,1$), słabą ($0,1 \leq R < 0,3$), przeciętną ($0,3 \leq R < 0,5$), wysoką ($0,5 \leq R < 0,7$), bardzo wysoką ($0,7 \leq R < 0,9$) i prawie pełną ($0,9 \leq R < 1$) [77]. Przeprowadzono analizę regresji wielokrotnej. Za istotne statystycznie uznano wyniki, gdy $p < 0,05$.

4. Wyniki

Analizę statystyczną przeprowadzono w całej badanej populacji (n=120), w grupie kobiet (n=46) i mężczyzn (n=74) oraz w dwóch grupach wyróżnionych na podstawie wyniku OGTT: normoglikemicznej (NGT, n=73) i dysglikemicznej (PRE, n=47). Do grupy normoglikemicznej włączono osoby z prawidłową glikemią w 0. i w 120. minucie OGTT (ang. *normal glucose tolerance*, NGT). Grupę dysglikemiczną stanowiły osoby, u których wynik OGTT wskazywał na stan przedcukrzycowy (*prediabetes*), tj. nieprawidłową glikemię na czczo (ang. *impaired fasting glucose*, IFG) i/lub nieprawidłową tolerancję glukozy (ang. *impaired glucose tolerance*, IGT) – według kryteriów zawartych w tabeli 4 [74,75].

Tabela 4. Zasady interpretacji wyników doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT).

	G 0' (mmol/l)	G 120' (mmol/l)
NGT	< 5,6	< 7,8
IFG	5,6-6,9	< 7,8
IGT	< 7,0	7,8-11,0
DM	< 7,0	≥ 11,1

Objaśnienia: G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; NGT – prawidłowa tolerancja glukozy; IFG – nieprawidłowa glikemia na czczo; IGT – nieprawidłowa tolerancja glukozy; DM – cukrzyca.

4.1. Analiza populacji badanej z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT

4.1.1. Charakterystyka opisowa badanej populacji z uwzględnieniem płci

W tabeli 5. przedstawiono charakterystykę opisową całej badanej populacji (n=120) oraz, oddzielnie kobiet (n=46) i mężczyzn (n=74), w zakresie podstawowych parametrów antropometrycznych i parametrów laboratoryjnych oceniających m. in. gospodarkę lipidową i węglowodanową organizmu. Stwierdzono, wynikające z fizjologicznej odmienności między płciami, różnice w obwodzie talii i stężeniu cholesterolu frakcji HDL, a także wyższe stężenia triglicerydów u mężczyzn, co może korespondować z wymienionymi parametrami w badanej populacji. Ponadto u kobiet zaobserwowano wyższe stężenia CRP (w zakresie wartości opisujących ryzyko sercowo-naczyniowe) i insuliny w 120. minucie OGTT (brak jest danych literaturowych w pełni interpretujących insulinemię w 120. minucie OGTT). W tabeli 6. zestawiono wyniki parametrów stresu oksydacyjnego w całej populacji i analogicznie porównano grupy kobiet i mężczyzn. Zaobserwowano różnice jedynie w przypadku stężenia TBARS 120'.

Tabela 5. Charakterystyka opisowa całej badanej populacji oraz porównanie grup kobiet i mężczyzn.

	Populacja badana n=120	Kobiety n=46	Mężczyźni n=74	p
Wiek	53,00 (45,50-61,50)	53,00 (48,00-60,00)	54,00 (44,00-63,00)	ns
BMI [kg/m ²]	33,00 (29,60-36,10)	34,10 (30,86-36,80)	32,12 (28,71-35,35)	ns
Obwód talii [cm]	105,00 (97,00-113,00)	100,00 (95,00-111,00)	106,50 (100,00-117,00)	0,0229
SBP [mmHg]	131,50 (120,00-145,00)	130,00 (120,00-150,00)	133,00 (125,00-145,00)	ns
DBP [mmHg]	86,50 (80,00-90,50)	84,50 (80,00-90,00)	90,00 (80,00-95,00)	ns
WBC [x10 ⁹ /l]	6,54 (5,66-7,41)	6,65 (5,66-7,91)	6,50 (5,64-7,15)	ns
CRP [mg/l]	2,22 (1,37-4,36)	3,88 (2,10-5,19)	1,85 (1,20-3,30)	0,0005
T-C [mmol/l]	5,33 (4,73-6,19)	5,35 (4,73-6,21)	5,32 (4,73-6,16)	ns
HDL-C [mmol/l]	1,32 (1,11-1,57)	1,45 (1,24-1,82)	1,26 (1,05-1,49)	0,0020
LDL-C [mmol/l]	3,26 (2,75-4,04)	3,25 (2,74-4,19)	3,30 (2,77-4,03)	ns
nHDL-C [mmol/l]	3,85 (3,41-4,68)	3,84 (3,16-4,97)	3,86 (3,50-4,57)	ns
TG [mmol/l]	1,51 (1,08-2,12)	1,28 (0,90-1,98)	1,61 (1,23-2,34)	0,0262
G 0' [mmol/l]	5,25 (4,91-5,64)	5,30 (4,92-5,67)	5,22 (4,88-5,64)	ns
G 120' [mmol/l]	6,38 (4,94-7,93)	6,82 (5,33-7,98)	6,17 (4,89-7,78)	ns
Ins 0' [mU/l]	18,13 (13,39-25,42)	20,72 (14,64-33,13)	16,75 (13,18-23,79)	ns
Ins 120' [mU/l]	72,50 (34,65-122,17)	100,24 (45,63-151,72)	60,39 (30,28-100,90)	0,0088
HOMA-IR	4,28 (3,00-6,24)	4,96 (3,02-7,67)	3,83 (2,98-5,82)	ns

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [mU x mmol x l⁻²]; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

Tabela 6. Parametry stresu oksydacyjnego w całej badanej populacji oraz porównanie grup kobiet i mężczyzn.

	Populacja badana n=120	Kobiety n=46	Mężczyźni n=74	p
oxLDL 0' [U/l]	67,00 (53,15-89,12)	78,91 (54,04-98,00)	64,26 (50,69-77,66)	ns
oxLDL 120' [U/l]	62,11 (48,80-85,16)	65,60 (49,20-86,40)	60,90 (48,66-78,70)	ns
oxLDL-ROGTT	0,92 (0,84-1,03)	0,88 (0,82-1,03)	0,94 (0,85-1,05)	ns
TBARS 0' [μmol/l]	5,70 (4,85-7,14)	6,00 (5,27-7,32)	5,57 (4,62-6,70)	ns
TBARS 120' [μmol/l]	6,04 (5,00-7,28)	6,57 (5,30-7,58)	5,56 (4,91-6,96)	0,0207
TBARS-ROGTT	1,04 (0,94-1,15)	1,05 (0,98-1,16)	1,03 (0,93-1,14)	ns
TAS 0' [mmol/l]	1,30 (1,19-1,42)	1,30 (1,20-1,37)	1,32 (1,19-1,43)	ns
TAS 120' [mmol/l]	1,39 (1,23-1,52)	1,36 (1,22-1,50)	1,39 (1,24-1,54)	ns
TAS-ROGTT	1,03 (0,98-1,11)	1,04 (0,98-1,12)	1,03 (1,00-1,11)	ns

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

4.1.2. Charakterystyka opisowa badanej populacji z uwzględnieniem wyniku OGTT

Charakterystykę opisową badanych grup, wyróżnionych na podstawie wyniku OGTT (NGT i PRE), w zakresie parametrów kliniczno-laboratoryjnych i stresu oksydacyjnego przedstawiono w tabeli 7. i 8. Wykazano spodziewane różnice w stężeniach glukozy i insuliny w 0. i 120. minucie OGTT oraz wartościach wskaźnika HOMA-IR. Nie zaobserwowano różnic w obrębie parametrów stresu oksydacyjnego.

Tabela 7. Porównanie wyników parametrów antropometrycznych i analiz laboratoryjnych krwi w grupie NGT i PRE.

	NGT n=73 (K=26, M=47)	PRE n=47 (K=20, M=27)	p
Wiek	53,00 (45,00-59,00)	54,00 (48,00-63,00)	ns
BMI [kg/m ²]	32,53 (28,71-35,26)	33,90 (30,10-37,70)	ns
Obwód talii [cm]	105,00 (97,00-111,00)	109,00 (97,00-121,00)	ns
SBP [mmHg]	132,00 (123,00-145,00)	130,00 (120,00-150,00)	ns
DBP [mmHg]	87,00 (80,00-92,00)	85,00 (80,00-90,00)	ns
WBC [$\times 10^9/l$]	6,52 (5,50-7,22)	6,59 (5,82-7,95)	ns
CRP [mg/l]	2,00 (1,30-4,01)	3,01 (1,58-4,52)	ns
T-C [mmol/l]	5,35 (4,81-6,21)	5,29 (4,58-6,13)	ns
HDL-C [mmol/l]	1,35 (1,18-1,61)	1,24 (1,06-1,52)	ns
LDL-C [mmol/l]	3,37 (2,79-4,06)	3,21 (2,74-4,01)	ns
nHDL-C [mmol/l]	3,88 (3,46-4,66)	3,83 (3,21-4,81)	ns
TG [mmol/l]	1,34 (1,06-2,06)	1,62 (1,29-2,30)	ns
G 0' [mmol/l]	5,04 (4,75-5,28)	5,76 (5,44-5,91)	< 0,0001
G 120' [mmol/l]	5,44 (4,51-6,42)	8,23 (7,23-9,45)	< 0,0001
Ins 0' [mU/l]	16,60 (11,36-23,13)	21,02 (14,74-36,37)	0,0162
Ins 120' [mU/l]	49,38 (27,96-95,26)	109,19 (69,07-153,66)	<0,0001
HOMA-IR	3,70 (2,61-5,29)	5,33 (3,77-9,08)	0,0005

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [$mU \times mmol \times l^{-2}$]; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

Tabela 8. Porównanie wyników parametrów stresu oksydacyjnego w grupie NGT i PRE.

	NGT n=73 (K=26, M=47)	PRE n=47 (K=20, M=27)	p
oxLDL 0' [U/l]	66,29 (53,20-85,22)	68,83 (50,69-110,90)	ns
oxLDL 120' [U/l]	64,31 (49,20-78,70)	60,90 (48,33-92,68)	ns
oxLDL-ROGTT	0,92 (0,85-1,07)	0,90 (0,82-1,01)	ns
TBARS 0' [μmol/l]	5,57 (4,66-6,57)	6,05 (5,46-7,47)	ns
TBARS 120' [μmol/l]	5,65 (4,92-6,99)	6,59 (5,14-7,58)	ns
TBARS-ROGTT	1,03 (0,93-1,15)	1,04 (0,95-1,14)	ns
TAS 0' [mmol/l]	1,30 (1,21-1,43)	1,31 (1,19-1,39)	ns
TAS 120' [mmol/l]	1,41 (1,23-1,54)	1,34 (1,22-1,43)	ns
TAS-ROGTT	1,04 (0,99-1,12)	1,02 (0,98-1,10)	ns

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

4.1.3. Analiza korelacji w całej badanej populacji z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT

W tabeli 9. przedstawiono wyniki analizy korelacji pomiędzy badanymi markerami stresu oksydacyjnego a wykładnikami kliniczno-laboratoryjnymi w całej populacji badanej, w grupie kobiet i mężczyzn oraz w grupach wyróżnionych na podstawie wyniku OGTT. Analizie poddano wszystkie oznaczane parametry, a w tabeli zamieszczono tylko korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$). W poszczególnych grupach zaobserwowano wiele dodatnich i ujemnych korelacji o różnym nasileniu, od słabych do bardzo wysokich.

Tabela 9. Korelacje wykładników stresu oksydacyjnego z parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w populacji badanej z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT.

W tabeli przedstawiono wyniki istotnych korelacji przy $p < 0,05$. W nawiasie podano wartość współczynnika R Spearmana (R).

	Populacja badana n=120 (K=46, M=74)	Kobiety n=46	Mężczyźni n=74	NGT n=73 (K=26, M=47)	PRE n=47 (K=20, M=27)
oxLDL 0'	BMI (0,20) Obwód talii (0,20) DBP (0,18) WBC (0,21) CRP (0,43) HDL-C (-0,31) nHDL-C (0,27) TG (0,21) Ins 0' (0,43) Ins 120' (0,32) HOMA-IR (0,43) oxLDL 120' (0,82) oxLDL-R _{OGTT} w g(-0,36) TBARS 0' (0,32) TBARS 120' (0,36)	BMI (0,30) Obwód talii (0,35) WBC (0,32) HDL-C (-0,52) Ins 0' (0,57) Ins 120' (0,38) HOMA-IR (0,57) oxLDL 120' (0,80) oxLDL-R _{OGTT} (-0,43) TBARS 0' (0,42) TBARS 120' (0,36)	CRP (0,45) T-C (0,30) HDL-C (-0,26) LDL-C (0,23) nHDL-C (0,38) TG (0,23) Ins 0' (0,33) HOMA-IR (0,31) oxLDL 120' (0,83) oxLDL-R _{OGTT} (-0,28) TBARS 120' (0,30)	Obwód talii (0,32) CRP (0,30) HDL-C (-0,32) nHDL-C (0,27) TG (0,23) Ins 0' (0,43) Ins 120' (0,31) HOMA-IR (0,42) oxLDL 120' (0,78) oxLDL-R _{OGTT} (-0,29)	CRP (0,58) Ins 0' (0,45) Ins 120' (0,36) HOMA-IR (0,48) oxLDL 120' (0,88) oxLDL-R _{OGTT} (-0,42) TBARS 0' (0,53) TBARS 120' (0,64)
oxLDL 120'	Wiek (-0,22) BMI (0,22) Obwód talii (0,19) DBP (0,19) WBC (0,22) CRP (0,32) T-C (0,28) HDL-C (-0,29) LDL-C (0,27) nHDL-C (0,40) TG (0,20) Ins 0' (0,38) Ins 120' (0,22) HOMA-IR (0,38) oxLDL 0' (0,82) TBARS 0' (0,24) TBARS 120' (0,24)	WBC (0,38) HDL-C (-0,52) nHDL-C (0,42) Ins 0' (0,39) HOMA-IR (0,42) oxLDL 0' (0,80)	CRP (0,33) T-C (0,29) LDL-C (0,27) nHDL-C (0,38) Ins 0' (0,36) HOMA-IR (0,34) oxLDL 0' (0,83) TBARS 120' (0,27) TAS 120' (0,25)	Wiek (-0,29) BMI (0,32) Obwód talii (0,33) HDL-C (-0,35) LDL-C (0,26) nHDL-C (0,39) TG (0,25) Ins 0' (0,46) Ins 120' (0,23) HOMA-IR (0,48) oxLDL 0' (0,78) oxLDL-R _{OGTT} (0,32)	CRP (0,44) T-C (0,29) nHDL-C (0,35) HOMA-IR (0,31) oxLDL 0' (0,88) TBARS 0' (0,41) TBARS 120' (0,51)
oxLDL-R _{OGTT}	CRP (-0,26) T-C (0,21) LDL-C (0,24) nHDL-C (0,20) Ins 0' (-0,20) Ins 120' (-0,20) HOMA-IR (-0,19) oxLDL 0' (-0,36) TBARS 0' (-0,19) TBARS 120' (-0,26) TAS-R _{OGTT} (0,19)	T-C (0,44) LDL-C (0,53) nHDL-C (0,43) G 0' (0,30) Ins 0' (-0,34) HOMA-IR (-0,31) oxLDL 0' (-0,43) TBARS 0' (-0,31) TBARS 120' (-0,39) TAS-R _{OGTT} (0,40)	CRP (-0,25) oxLDL 0' (-0,28)	Wiek (-0,31) G 0' (0,27) oxLDL 0' (-0,29) oxLDL 120' (0,32) TAS-R _{OGTT} (0,24)	CRP (-0,31) T-C (0,30) LDL-C (0,32) Ins 0' (-0,49) HOMA-IR (-0,47) oxLDL 0' (-0,42) TBARS 0' (-0,31) TBARS 120' (-0,34)
TBARS 0'	BMI (0,23) WBC (0,20) HDL-C (-0,20) TG (0,27) G 120' (0,23) Ins 0' (0,50) Ins 120' (0,39) HOMA-IR (0,53) oxLDL 0' (0,32) oxLDL 120' (0,24) oxLDL-R _{OGTT} (-0,19) TBARS 120' (0,79) TBARS-R_{OGTT} (-0,23)	Obwód talii (0,32) HDL-C (-0,32) TG (0,33) Ins 0' (0,53) Ins 120' (0,37) HOMA-IR (0,55) oxLDL 0' (0,42) oxLDL-R _{OGTT} (-0,31) TBARS 120' (0,84)	TG (0,27) Ins 0' (0,46) Ins 120' (0,36) HOMA-IR (0,50) TBARS 120' (0,76) TBARS-R_{OGTT} (-0,31)	Ins 0' (0,42) Ins 120' (0,36) HOMA-IR (0,43) TBARS 120' (0,73) TBARS-R_{OGTT} (-0,30) TAS 0' (0,26)	BMI (0,39) Obwód talii (0,42) WBC (0,32) CRP (0,34) HDL-C (-0,45) TG (0,36) Ins 0' (0,57) Ins 120' (0,48) HOMA-IR (0,61) oxLDL 0' (0,53) oxLDL 120' (0,41) oxLDL-R _{OGTT} (-0,31) TBARS 120' (0,81)
TBARS 120'	BMI (0,23) CRP (0,24) TG (0,19) G 120' (0,18) Ins 0' (0,35) Ins 120' (0,36)	Obwód talii (0,33) SBP (0,32) TG (0,39) Ins 0' (0,37) Ins 120' (0,31)	CRP (0,24) Ins 0' (0,32) Ins 120' (0,34) HOMA-IR (0,36) oxLDL 0' (0,30)	Ins 120' (0,27) HOMA-IR (0,23) TBARS 0' (0,73) TBARS-R_{OGTT} (0,37) TAS 0' (0,28)	BMI (0,40) Obwód talii (0,32) CRP (0,45) HDL-C (-0,35) TG (0,31)

	HOMA-IR (0,38) oxLDL 0' (0,36) oxLDL 120' (0,24) oxLDL-R _{OGTT} (-0,26) TBARS 0' (0,79) TBARS-R_{OGTT} (0,34) TAS 0' (0,18) TAS-R _{OGTT} (-0,21)	HOMA-IR (0,40) oxLDL 0' (0,36) oxLDL-R _{OGTT} (-0,39) TBARS 0' (0,84) TBARS-R_{OGTT} (0,36)	oxLDL 120' (0,27) TBARS 0' (0,76) TBARS-R_{OGTT} (0,31) TAS 0' (0,26)	TAS-R _{OGTT} (-0,39)	Ins 0' (0,51) Ins 120' (0,54) HOMA-IR (0,54) oxLDL 0' (0,64) oxLDL 120' (0,51) oxLDL-R _{OGTT} (-0,34) TBARS 0' (0,81)
TBARS-R _{OGTT}	T-C (0,19) TBARS 0' (-0,23) TBARS 120' (0,34)	TBARS 120' (0,36) TAS 120' (-0,31)	T-C (0,26) nHDL-C (0,26) TBARS 0' (-0,31) TBARS 120' (0,31)	TBARS 0' (-0,30) TBARS 120' (0,37) TAS-R _{OGTT} (-0,29)	-
TAS 0'	Ins 0' (0,28) HOMA-IR (0,28) TBARS 120' (0,18) TAS 120' (0,68) TAS-R _{OGTT} (-0,24)	TAS 120' (0,58)	Ins 0' (0,36) HOMA-IR (0,35) oxLDL 120' (0,25) TBARS 120' (0,26) TAS 120' (0,73) TAS-R _{OGTT} (-0,26)	DBP (0,26) TG (0,31) Ins 0' (0,30) HOMA-IR (0,32) TBARS 0' (0,26) TBARS 120' (0,28) TAS 120' (0,66)	TG (-0,29) Ins 0' (0,30) TAS 120' (0,67) TAS-R _{OGTT} (-0,32)
TAS 120'	Wiek (-0,18) Ins 0' (0,23) HOMA-IR (0,21) TAS 0' (0,68) TAS-R _{OGTT} (0,47)	LDL-C (0,31) TBARS-R_{OGTT} (-0,31) TAS 0' (0,58) TAS-R _{OGTT} (0,58)	Wiek (-0,24) TG (0,27) Ins 0' (0,32) HOMA-IR (0,30) TAS 0' (0,73) TAS-R _{OGTT} (0,38)	nHDL-C (0,26) TG (0,31) Ins 0' (0,32) HOMA-IR (0,33) TAS 0' (0,66) TAS-R _{OGTT} (0,51)	TAS 0' (0,67) TAS-R _{OGTT} (0,40)
TAS-R _{OGTT}	Wiek (-0,18) oxLDL-R _{OGTT} (0,19) TBARS 120' (-0,21) TAS 0' (-0,24) TAS 120' (0,47)	oxLDL-R _{OGTT} (0,40) TAS 120' (0,58)	TAS 0' (-0,26) TAS 120' (0,38)	oxLDL-R _{OGTT} (0,24) TBARS 120' (-0,39) TBARS-R_{OGTT} (-0,29) TAS 120' (0,51)	Wiek (-0,32) TG (0,41) TAS 0' (-0,32) TAS 120' (0,40)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [$\text{mU} \times \text{mmol} \times \text{l}^{-2}$]; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-R_{OGTT} – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-R_{OGTT} – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-R_{OGTT} – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy; powtarzające się korelacje wybranych parametrów oznaczono graficznie za pomocą pogrubienia tekstu, zmiany koloru czcionki i wyróżnienia tekstu kolorem, dla lepszej czytelności danych zawartych w tabeli.

Spośród czynników ryzyka chorób sercowo naczyniowych najczęściej z badanymi markerami oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein korelowały parametry profilu lipidowego, głównie stężenie cholesterolu frakcji HDL (ujemnie) i nie-HDL (dodatnio). Uwagę zwracają powtarzające się korelacje wszystkich parametrów stresu oksydacyjnego i wyznaczonych wskaźników, oprócz TAS-R_{OGTT}, z insulinemią w 0. i 120. minucie OGTT, i wskaźnikiem HOMA-IR. Zaobserwowano również korelacje z BMI, jednak nie tak częste i nie we wszystkich grupach.

Stężenia poszczególnych parametrów stresu oksydacyjnego oznaczone w 0 i 120. minucie OGTT wykazały wysokie i bardzo wysokie wzajemne korelacje zarówno w całej populacji, jak i w podgrupach. Ponadto w większości grup zaobserwowano korelacje między stężeniem oxLDL 0' i oxLDL 120' a stężeniem TBARS 0' i/lub TBARS 120', silniejsze w grupie dysglikemicznej. Żaden z markerów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein nie wykazał silnej, powtarzającej się

korelacji z TAS osocza. Stwierdzono słabą korelację między TAS 0' a stężeniem TBARS 120', potwierdzoną w grupie mężczyzn, oraz między TAS 0' a TBARS 0' i TBARS 120' u osób z prawidłową tolerancją glukozy. Wskaźnik TAS korelował ujemnie z TBARS w 120. minucie OGTT w całej badanej populacji.

Z powodu zaobserwowanych u kobiet wyższych stężeń CRP i insuliny w 120. minucie OGTT przeprowadzono analizę korelacji tych parametrów z pozostałymi wykładnikami kliniczno-laboratoryjnymi. Stwierdzono dodatni związek CRP z BMI i obwodem talii w całej badanej populacji ($R=0,52$ i $R=0,30$) oraz oddzielnie u kobiet ($R=0,55$ i $R=0,44$) i mężczyzn ($R=0,45$ i $R=0,38$). Zaobserwowano dodatnią korelację stężenia CRP z Ins 0' i HOMA-IR w całej badanej populacji ($R=0,42$ i $R=0,40$) oraz oddzielnie u kobiet ($R=0,39$ i $R=0,36$) i mężczyzn ($R=0,39$ i $R=0,37$).

Podobnie, w całej badanej populacji oraz oddzielnie u kobiet i mężczyzn, stężenie insuliny w 120. minucie OGTT korelowało dodatnio z BMI ($R=0,56$, $R=0,49$, $R=0,57$), obwodem talii ($R=0,37$, $R=0,39$, $R=0,50$), G 120' ($R=0,62$, $R=0,68$, $R=0,56$), Ins 0' ($R=0,60$, $R=0,51$, $R=0,65$), wskaźnikiem HOMA-IR ($R=0,61$, $R=0,53$, $R=0,66$), stężeniem TBARS 0' ($R=0,39$, $R=0,37$, $R=0,36$) i TBARS 120' ($R=0,36$, $R=0,31$, $R=0,34$) oraz ujemnie ze stężeniem cholesterolu frakcji HDL ($R=-0,32$, $R=-0,43$, $R=-0,39$).

Porównanie kobiet i mężczyzn oraz grup NGT i PRE dostarczyło spodziewanych różnic w zakresie tradycyjnych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (78). Pozostałe parametry, które różnicowały kobiety i mężczyzn poddano analizie korelacji, uzyskując porównywalne związki w całej badanej populacji, u kobiet i mężczyzn. Wobec powyższego zdecydowano o przeprowadzeniu dalszej analizy statystycznej w całej populacji. Zaobserwowane, powtarzające się, korelacje markerów stresu oksydacyjnego z insulinemią w trakcie OGTT i wskaźnikiem HOMA-IR stanowiły inspirację do przeprowadzenia analiz w podgrupach wyróżnionych poprzez wyznaczenie kwartyli HOMA-IR. Całą badaną populację podzielono również na grupy ze względu na kwartyli BMI, jako uznanego wskaźnika klasyfikacji osób z nadmierną masą ciała. Wyróżniono następujące grupy:

1. Podział ze względu na kwartyli BMI:

B1 ($n=30$) – BMI w zakresie 25,18-29,60 (kg/m^2)

B2 ($n=30$) – BMI w zakresie 29,61-32,99 (kg/m^2)

B3 ($n=30$) – BMI w zakresie 33,00-36,10 (kg/m^2)

B4 ($n=30$) – BMI w zakresie 36,11-49,40 (kg/m^2)

2. Podział ze względu na kwartyle HOMA-IR:

H1 (n=30) – HOMA-IR w zakresie 1,02-3,00

H2 (n=30) – HOMA-IR w zakresie 3,01-4,28

H3 (n=30) – HOMA-IR w zakresie 4,29-6,24

H4 (n=30) – HOMA-IR w zakresie 6,25-21,68

4.2. Analiza badanej populacji z uwzględnieniem kwartyli BMI (B1-B4)

4.2.1. Charakterystyka opisowa i porównanie grup badanych B1-B4

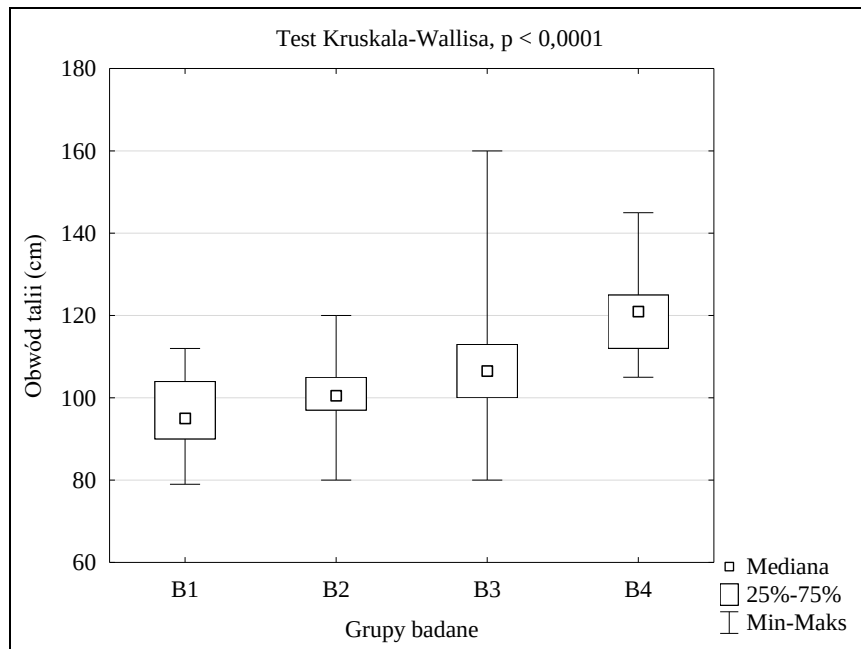
Wyniki parametrów klinicznych i laboratoryjnych w grupach badanych B1-B4 przedstawiono w tabeli 10., a wskaźników stresu oksydacyjnego – w tabeli 11. Za pomocą testu Kruskala-Wallisa sprawdzono, czy grupy różnią się między sobą w obrębie ocenianych parametrów. Na rycinach 4-13 przedstawiono wyniki tych porównań w formie wykresu i analizy *post hoc* porównań wielokrotnych (w tabeli pod wykresem) dla różnic istotnych statystycznie.

Badane grupy nie różniły się wiekiem, wartościami ciśnienia skurczowego, liczbą leukocytów, stężeniem cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL i nie-HDL, stężeniem triglicerydów i stężeniem glukozy na czczo. Grupy różniły się między sobą obwodem talii, co wynika bezpośrednio z założenia o podziale populacji ze względu na BMI oraz wartościami ciśnienia rozkurczowego, które w grupie B4 było istotnie wyższe niż w grupie B1. Zaobserwowane różnice w stężeniach CRP, wzrastających w kolejnych grupach, potwierdzają udział stanu zapalnego w rozwoju zaburzeń metabolicznych zwiększających ryzyko sercowo-naczyniowe u osób z nadmierną masą ciała. Wykazano również spodziewane różnice w stężeniach HDL-C, istotnie niższych w grupie B4 w porównaniu z B1. W zakresie parametrów ocenianych w trakcie OGTT, zaobserwowano wzrastające stężenia glukozy w 120. minucie OGTT, istotnie wyższe w grupie B4 w porównaniu z grupą B1. Również insulinemia w trakcie OGTT wzrastała w kolejnych grupach, podobnie jak wskaźnik HOMA-IR. W obrębie parametrów stresu oksydacyjnego grupy różniły się tylko stężeniem TBARS na czczo i w 120. minucie OGTT, wzrastającym od grupy B2 do B4.

Tabela 10. Porównanie wyników parametrów antropometrycznych i analiz laboratoryjnych krwi w grupach badanych B1-B4.

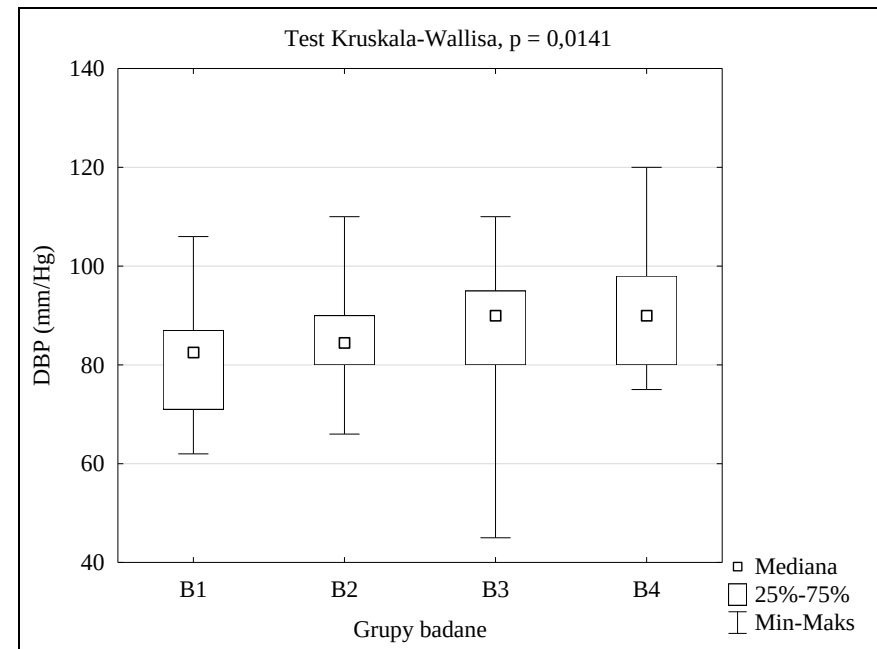
	B1 n=30 (K=8, M=22)	B2 n=30 (K=10, M=20)	B3 n=30 (K=14, M=16)	B4 n=30 (K=14, M=16)	p
Wiek	58,50 (44,00-65,00)	56,00 (46,00-60,00)	50,00 (43,00-59,00)	52,50 (49,00-57,00)	ns
BMI [kg/m ²]	26,74 (26,15-28,12)	31,25 (30,48-32,19)	34,55 (33,39-35,26)	38,66 (37,50-40,80)	wg definicji
Obwód talii [cm]	95,00 (90,00-104,00)	100,50 (97,00-105,00)	106,50 (100,00-113,00)	121,00 (112,00-125,00)	< 0,0001
SBP [mmHg]	129,50 (120,00-140,00)	132,00 (120,00-145,00)	137,50 (124,00-145,00)	140,00 (123,00-150,00)	ns
DBP [mmHg]	82,50 (71,00-87,00)	84,50 (80,00-90,00)	90,00 (80,00-95,00)	90,00 (80,00-98,00)	0,0141
WBC [x10 ⁹ /l]	6,17 (4,98-7,22)	6,22 (5,71-7,29)	6,47 (5,87-7,35)	6,91 (5,96-8,09)	ns
CRP [mg/l]	1,35 (0,80-2,10)	1,85 (1,30-4,00)	2,69 (1,85-4,52)	4,21 (2,94-6,48)	< 0,0001
T-C [mmol/l]	5,54 (5,00-6,32)	5,09 (4,53-5,62)	5,35 (4,76-6,16)	5,46 (4,52-6,13)	ns
HDL-C [mmol/l]	1,54 (1,24-1,82)	1,32 (1,17-1,53)	1,33 (1,08-1,55)	1,23 (1,03-1,48)	0,0105
LDL-C [mmol/l]	3,52 (2,99-4,25)	3,19 (2,78-3,80)	3,31 (2,51-4,03)	3,25 (2,59-4,03)	ns
nHDL-C [mmol/l]	3,95 (3,46-4,75)	3,80 (3,16-4,35)	3,90 (3,45-4,57)	3,84 (3,49-5,09)	ns
TG [mmol/l]	1,26 (1,07-1,73)	1,50 (1,06-1,86)	1,82 (0,97-2,39)	1,64 (1,19-2,36)	ns
G 0' [mmol/l]	5,21 (4,81-5,49)	5,19 (4,85-5,64)	5,30 (4,91-5,52)	5,36 (5,01-5,78)	ns
G 120' [mmol/l]	5,51 (4,58-7,27)	6,15 (5,34-6,95)	6,57 (5,44-7,98)	7,71 (5,61-8,67)	0,0289
Ins 0' [mU/l]	13,62 (10,35-15,33)	16,50 (14,44-21,88)	20,21 (16,90-26,72)	25,71 (20,73-44,80)	< 0,0001
Ins 120' [mU/l]	37,93 (23,66-60,74)	54,41 (32,24-83,95)	103,67 (60,04-138,06)	130,34 (85,63-331,47)	< 0,0001
HOMA-IR	3,04 (2,28-3,77)	3,70 (3,02-5,06)	4,87 (3,84-6,13)	6,38 (5,20-11,51)	< 0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [mU x mmol x l⁻²]; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.



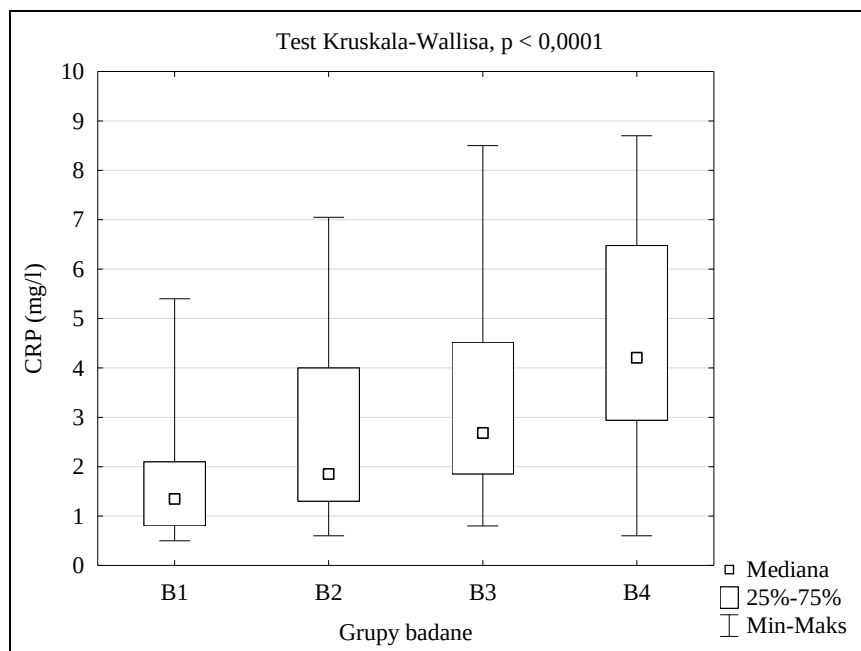
Grupa	OBWÓD TALII			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,4400	0,0021	0,0000
B2	0,4400		0,4509	0,0000
B3	0,0021	0,4509		0,0023
B4	0,0000	0,0000	0,0023	

Rycina 4. Porównanie obwodu talii między badanymi grupami B1-B4.



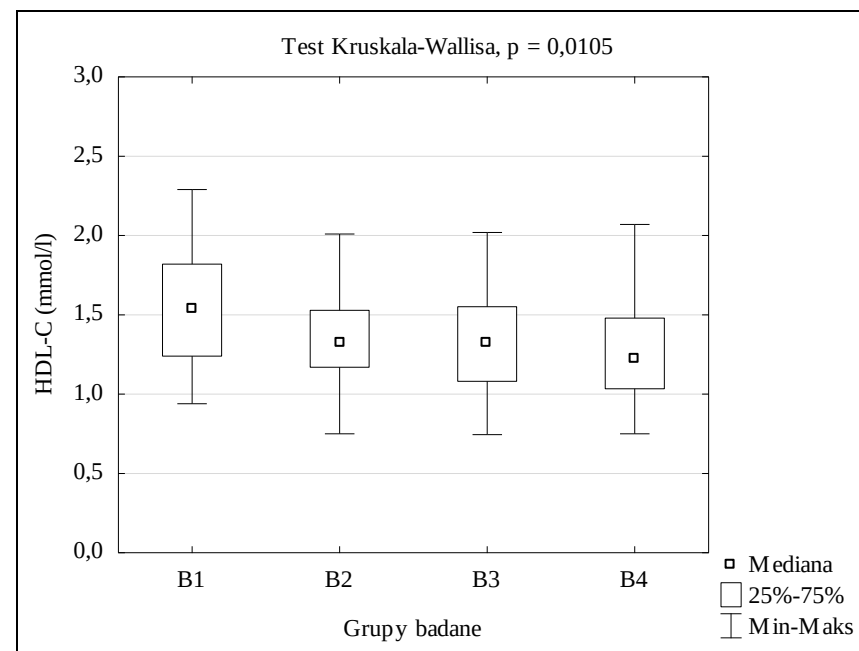
Grupa	DBP			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,8260	0,0588	0,0207
B2	0,8260		1,0000	0,8992
B3	0,0588	1,0000		1,0000
B4	0,0207	0,8992	1,0000	

Rycina 5. Porównanie DBP między badanymi grupami B1-B4.



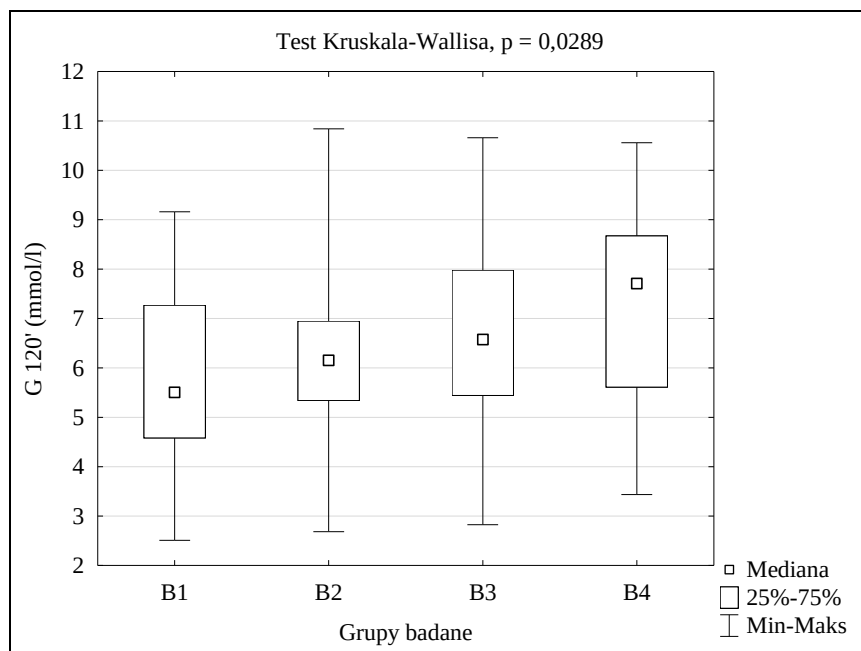
Grupa	CRP			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,1558	0,0014	0,0000
B2	0,1558		0,8743	0,0060
B3	0,0014	0,8743		0,4005
B4	0,0000	0,0060	0,4005	

Rycina 6. Porównanie stężenia CRP między badanymi grupami B1-B4.



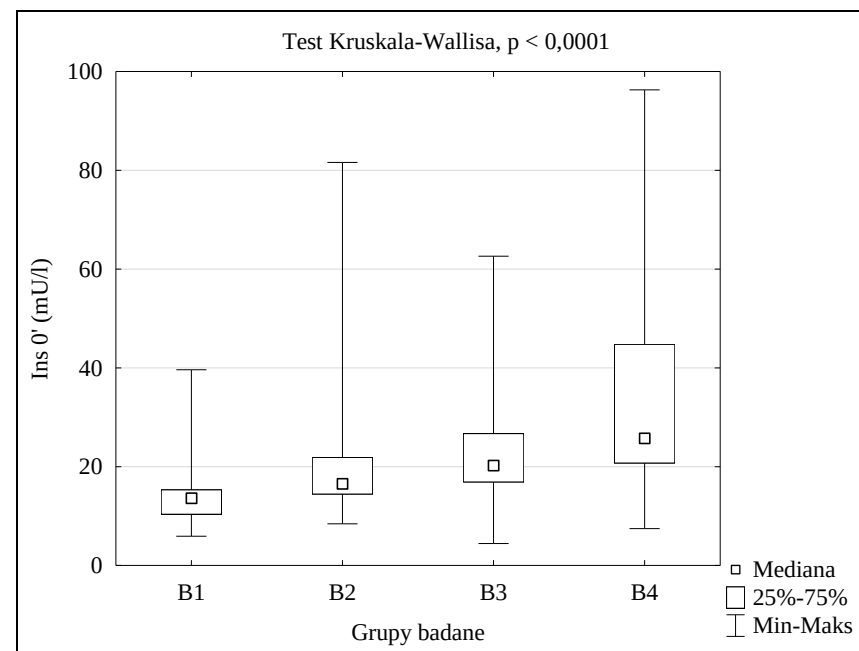
Grupa	HDL-C			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,2271	0,1881	0,0062
B2	0,2271		1,0000	1,0000
B3	0,1881	1,0000		1,0000
B4	0,0062	1,0000	1,0000	

Rycina 7. Porównanie stężenia HDL-C między badanymi grupami B1-B4.



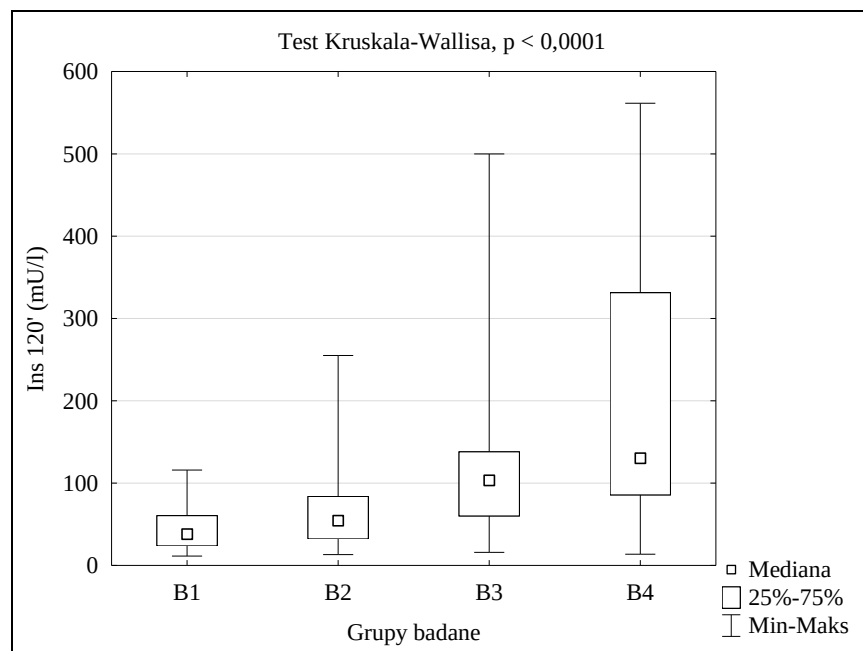
Grupa	G 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,2271	0,1881	0,0062
B2	0,2271		1,0000	1,0000
B3	0,1881	1,0000		1,0000
B4	0,0062	1,0000	1,0000	

Rycina 8. Porównanie glikemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.



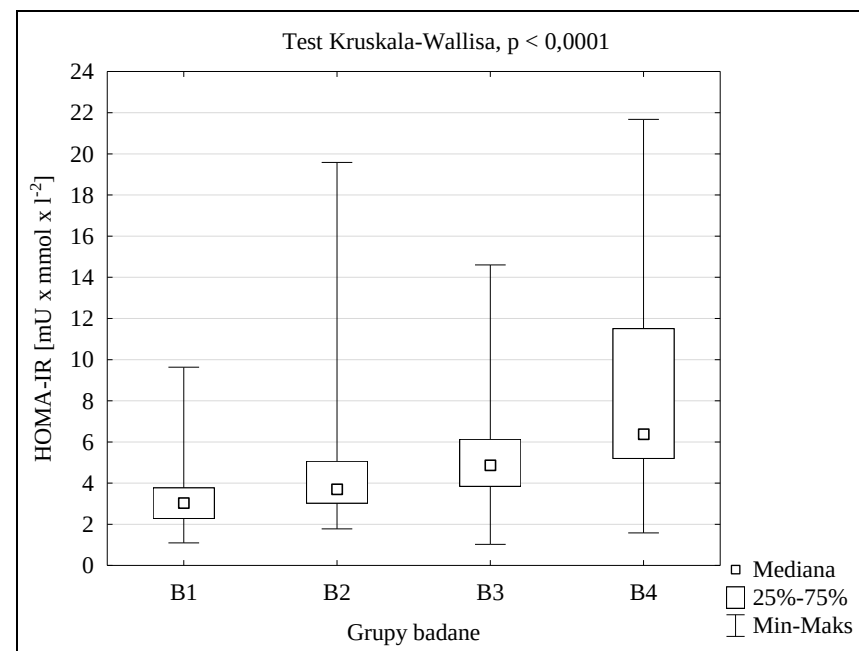
Grupa	Ins 0'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,1335	0,0007	0,0000
B2	0,1335		0,7223	0,0043
B3	0,0007	0,7223		0,4038
B4	0,0000	0,0043	0,4038	

Rycina 9. Porównanie insulinemii w 0. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.



Grupa	Ins 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,4139	0,0002	0,0000
B2	0,4139		0,1252	0,0013
B3	0,0002	0,1252		0,9975
B4	0,0000	0,0013	0,9975	

Rycina 10. Porównanie insulinemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.



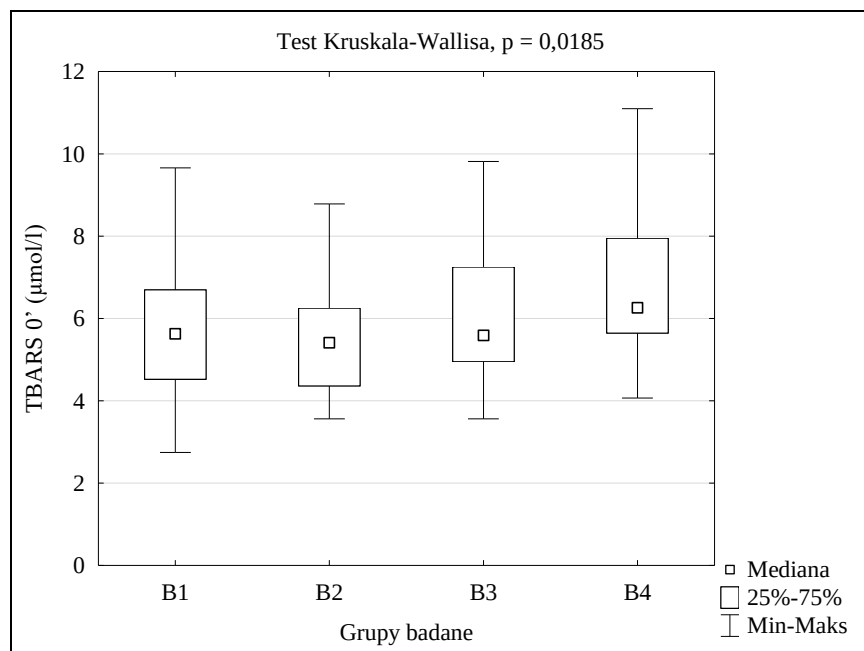
Grupa	HOMA-IR			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		0,2633	0,0022	0,0000
B2	0,2633		0,7303	0,0019
B3	0,0022	0,7303		0,2408
B4	0,0000	0,0019	0,2408	

Rycina 11. Porównanie HOMA-IR między badanymi grupami B1-B4.

Tabela 11. Porównanie wyników parametrów stresu oksydacyjnego w grupach badanych B1-B4.

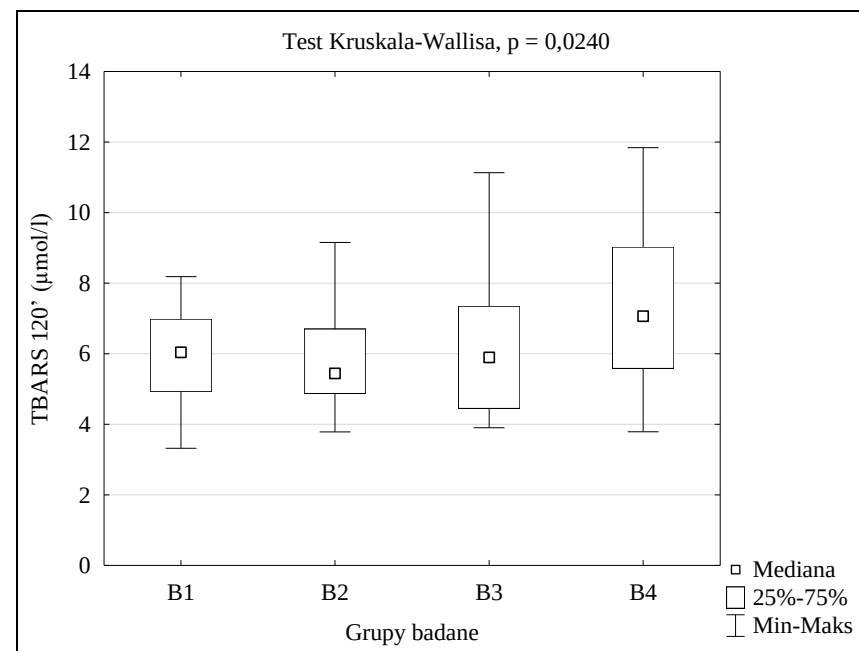
	B1 n=30 (K=8, M=22)	B2 n=30 (K=10, M=20)	B3 n=30 (K=14, M=16)	B4 n=30 (K=14, M=16)	p
oxLDL 0' [U/l]	61,75 (50,69-74,94)	68,24 (54,04-85,30)	63,15 (54,53-97,10)	85,81 (50,44-110,90)	ns
oxLDL 120' [U/l]	56,70 (45,14-64,29)	61,62 (49,57-85,47)	64,98 (52,43-92,68)	72,50 (47,90-103,20)	ns
oxLDL-ROGTT	0,91 (0,82-1,01)	0,91 (0,86-1,01)	0,94 (0,86-1,11)	0,89 (0,84-1,01)	ns
TBARS 0' [μ mol/l]	5,63 (4,52-6,70)	5,41 (4,36-6,25)	5,60 (4,95-7,25)	6,26 (5,64-7,95)	0,0185
TBARS 120' [μ mol/l]	6,04 (4,92-6,99)	5,44 (4,87-6,70)	5,90 (4,45-7,35)	7,07 (5,58-9,03)	0,0240
TBARS-ROGTT	1,04 (0,90-1,16)	1,04 (0,95-1,15)	1,03 (0,92-1,12)	1,04 (0,98-1,15)	ns
TAS 0' [mmol/l]	1,32 (1,21-1,42)	1,29 (1,19-1,37)	1,31 (1,22-1,45)	1,31 (1,19-1,39)	ns
TAS 120' [mmol/l]	1,33 (1,23-1,53)	1,31 (1,20-1,50)	1,46 (1,22-1,59)	1,39 (1,25-1,44)	ns
TAS-ROGTT	1,02 (0,98-1,11)	1,02 (0,98-1,11)	1,07 (1,01-1,14)	1,03 (0,97-1,10)	ns

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.



Grupa	TBARS 0'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		1,0000	1,0000	0,2261
B2	1,0000		1,0000	0,0114
B3	1,0000	1,0000		0,4436
B4	0,2261	0,0114	0,4436	

Rycina 12. Porównanie stężenia TBARS w 0. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.



Grupa	TBARS 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	B1	B2	B3	B4
B1		1,0000	1,0000	0,1283
B2	1,0000		1,0000	0,0253
B3	1,0000	1,0000		0,2045
B4	0,1283	0,0253	0,2045	

Rycina 13. Porównanie stężenia TBARS w 120. minucie OGTT między badanymi grupami B1-B4.

4.2.2. Analiza korelacji w grupach badanych B1-B4

Wyniki analizy korelacji markerów stresu oksydacyjnego i wykładników kliniczno-laboratoryjnych w badanych grupach przedstawiono w tabeli 12. Analizie poddano wszystkie oznaczane parametry, a w tabeli zamieszczono tylko korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$). Spośród czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych zaobserwowano korelacje między stężeniem oxLDL na czczo i w 120. minucie OGTT a parametrami profilu lipidowego, zwłaszcza cholesterolu frakcji nie-HDL i LDL. Podobnie jak w całej badanej populacji, również podział na grupy kwantylowe BMI ujawnił powtarzające się korelacje parametrów stresu oksydacyjnego z insulinemią w trakcie OGTT i wskaźnikiem HOMA-IR, najsilniejsze w przypadku oxLDL 0', TBARS 0' i TBARS 120' w grupie B4. Wykazano wysokie i bardzo wysokie dodatnie korelacje między stężeniami badanych markerów stresu oksydacyjnego w 0. i 120. minucie OGTT we wszystkich grupach badanych. Stężenie oksydowanych LDL w 0. i 120. minucie korelowało dodatnio z TBARS 0' i TBARS 120' wyłącznie w grupie B4 i siła korelacji była większa w przypadku oxLDL 0'. Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy TAS osocza i markerami oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein.

Tabela 12. Korelacje wykładników stresu oksydacyjnego z parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w grupach badanych B1-B4.

W tabeli przedstawiono wyniki istotnych korelacji przy $p < 0,05$. W nawiasie podano wartość współczynnika R Spearmana (R).

	Populacja badana n=120 (K=46, M=74)	B1 n=30 (K=8, M=22)	B2 n=30 (K=10, M=20)	B3 n=30 (K=14, M=16)	B4 n=30 (K=14, M=16)
oxLDL 0'	BMI (0,20) Obwód talii (0,20) WBC (0,21) CRP (0,43) HDL-C (-0,31) nHDL-C (0,27) TG (0,21) Ins 0' (0,43) Ins 120' (0,32) HOMA-IR (0,43) oxLDL 120' (0,82) oxLDL-R _{OGTT} (-0,36) TBARS 0' (0,32) TBARS 120' (0,36)	LDL-C (0,41) nHDL-C (0,36) oxLDL 120' (0,75)	CRP (0,70) nHDL-C (0,37) Ins 0' (0,46) Ins 120' (0,46) HOMA-IR (0,47) oxLDL 120' (0,84) oxLDL-R _{OGTT} (-0,41)	CRP (0,52) HDL-C (-0,37) Ins 0' (0,41) oxLDL 120' (0,79) oxLDL-R _{OGTT} (-0,36)	Ins 0' (0,51) Ins 120' (0,49) HOMA-IR (0,52) oxLDL 120' (0,87) oxLDL-R _{OGTT} (-0,42) TBARS 0' (0,61) TBARS 120' (0,75)
oxLDL 120'	Wiek (-0,22) BMI (0,22) Obwód talii (0,19) WBC (0,22) CRP (0,32) T-C (0,28) HDL-C (-0,29) LDL-C (0,27) nHDL-C (0,40) TG (0,20) Ins 0' (0,38) Ins 120' (0,22) HOMA-IR (0,38) oxLDL 0' (0,82) TBARS 0' (0,24) TBARS 120' (0,24)	T-C (0,51) LDL-C (0,61) nHDL-C (0,59) TG (0,49) Ins 0' (0,45) HOMA-IR (0,44) oxLDL 0' (0,75) oxLDL-R _{OGTT} (0,51)	CRP (0,53) nHDL-C (0,37) Ins 0' (0,41) Ins 120' (0,42) HOMA-IR (0,45) oxLDL 0' (0,84)	TG (0,37) oxLDL 0' (0,79)	nHDL-C (0,37) oxLDL 0' (0,87) TBARS 0' (0,46) TBARS 120' (0,58)

oxLDL-R _{OGTT}	CRP (-0,26) T-C (0,21) LDL-C (0,24) nHDL-C (0,20) Ins 0' (-0,20) Ins 120' (-0,20) HOMA-IR (-0,19) oxLDL 0' (-0,36) TBARS 0' (-0,19) TBARS 120' (-0,26) TAS-R _{OGTT} (0,19)	LDL-C (0,43) nHDL-C (0,40) oxLDL 120' (0,51)	CRP (-0,36) Ins 0' (-0,39) HOMA-IR (-0,39) oxLDL (-0,41)	Wiek (-0,39) CRP (-0,58) Ins120' (-0,42) oxLDL 0' (-0,36) TAS 120' (0-40)	Ins0' (-0,52) Ins120' (-0,50) HOMA-IR (-0,51) oxLDL 0' (-0,42) TBARS 0' (-0,38) TBARS 120' (-0,48)
TBARS 0'	BMI (0,23) WBC (0,20) HDL-C (-0,20) TG (0,27) G 120' (0,23) Ins 0' (0,50) Ins 120' (0,39) HOMA-IR (0,53) oxLDL 0' (0,32) oxLDL 120' (0,24) oxLDL-R _{OGTT} (-0,19) TBARS 120' (0,79) TBARS-R _{OGTT} (-0,23)	Ins 0' (0,47) HOMA-IR (0,45) TBARS 120' (0,76) TBARS-R _{OGTT} (-0,43)	Ins 0' (0,37) HOMA-IR (0,37) TBARS 120' (0,82)	Ins0' (0,46) HOMA-IR (0,49) TBARS 120' (0,63)	Ins0' (0,64) Ins120' (0,54) HOMA-IR (0,65) oxLDL 0' (0,61) oxLDL 120' (0,46) oxLDL-R _{OGTT} (-0,38) TBARS 120' (0,82)
TBARS 120'	BMI (0,23) CRP (0,24) TG (0,19) G 120' (0,18) Ins 0' (0,35) Ins 120' (0,36) HOMA-IR (0,38) oxLDL 0' (0,36) oxLDL 120' (0,24) oxLDL-R _{OGTT} (-0,26) TBARS 0' (0,79) TBARS-R _{OGTT} (0,34) TAS 0' (0,18) TAS-R _{OGTT} (-0,21)	TBARS 0' (0,76)	TBARS 0' (0,82) TBARS-R _{OGTT} (0,39) TAS 0' (0,42)	G 0' (0,45) G 120' (0,37) TBARS 0' (0,63) TBARS-R _{OGTT} (0,50)	Ins0' (0,62) Ins120' (0,53) HOMA-IR (0,63) oxLDL 0' (0,75) oxLDL 120' (0,58) oxLDL-R _{OGTT} (-0,48) TBARS 0' (0,82)
TBARS-R _{OGTT}	T-C (0,19) TBARS 0' (-0,23) TBARS 120' (0,34)	T-C (0,63) LDL-C (0,55) nHDL-C (0,53) TBARS 0' (-0,43)	G 120' (-0,45) TBARS 120' (0,39)	TBARS 120' (0,50)	WBC (-0,37)
TAS 0'	Ins 0' (0,28) HOMA-IR (0,28) TBARS 120' (0,18) TAS 120' (0,68) TAS-R _{OGTT} (-0,24)	DBP (0,36) CRP (-0,48) TAS 120' (0,82)	Ins 0' (0,53) HOMA-IR (0,57) TBARS 120' (0,42) TAS 120' (0,58)	TAS 120' (0,68)	TAS 120' (0,70) TAS-R _{OGTT} (-0,57)
TAS 120'	Wiek (-0,18) Ins 0' (0,23) HOMA-IR (0,21) TAS 0' (0,68) TAS-R _{OGTT} (0,47)	DBP (0,49) CRP (-0,61) G 120' (-0,37) Ins 120' (-0,39) TAS 0' (0,82) TAS-R _{OGTT} (0,42)	TG (0,38) HOMA-IR (0,36) TAS 0' (0,58) TAS-R _{OGTT} (0,56)	oxLDL-R _{OGTT} (0,40) TAS 0' (0,68) TAS-R _{OGTT} (0,57)	TAS 0' (0,70)
TAS-R _{OGTT}	Wiek (-0,18) oxLDL-R _{OGTT} (0,19) TBARS 120' (-0,21) TAS 0' (-0,24) TAS 120' (0,47)	G 120' (-0,39) Ins 120' (-0,43) TAS 120' (0,42)	BMI (0,44) Obwód talii (0,38) nHDL-C (0,38) TAS 120' (0,56)	TAS 120' (0,57)	SBP (-0,39) TAS 0' (-0,57)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [mU x mmol x l⁻²]; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-R_{OGTT} – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-R_{OGTT} – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-R_{OGTT} – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy; powtarzające się korelacje wybranych parametrów oznaczono graficznie za pomocą pogrubienia tekstu, zmiany koloru czcionki i wyróżnienia tekstu kolorem, dla lepszej czytelności danych zawartych w tabeli.

4.2.3. Analiza regresji wielokrotnej w grupach badanych B1-B4

W tabeli 13. przedstawiono wyniki analizy regresji wielokrotnej w zakresie korelacji między markerami stresu oksydacyjnego a parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w grupach badanych B1-B4. W grupie B1, niezależnie od innych czynników, stężenie cholesterolu całkowitego dodatnio korelowało ze wskaźnikiem TBARS-ROGTT odpowiadając w 37% za liniową zmienność tego parametru. Z kolei stężenie CRP korelowało ujemnie z TAS osocza w 120. minucie OGTT wyjaśniając jego zmienność w 51%. W grupie B2 zaobserwowano niezależne dodatnie korelacje między stężeniem CRP i wskaźnikiem HOMA-IR a stężeniem oxLDL zarówno w 0. (90% zmienności), jak i w 120. minucie OGTT (73% zmienności). W grupie B3 liniowa zmiana stężenia CRP i Ins 0' wyjaśniła zmienność oxLDL 0' w 47%. Ponadto ze wskaźnikiem oxLDL-ROGTT ujemnie korelował wiek osób badanych i stężenie CRP, odpowiadając w 50% za liniową zmienność tego wskaźnika. W grupie B4 zaobserwowano dodatni związek Ins 120' ze stężeniem oxLDL 0', wyjaśniający w 54% jego zmienność. Z kolei za zmienność wskaźnika oxLDL-ROGTT w 34% odpowiada insulinemia w trakcie OGTT. Ins 120' tłumaczy również w 60% zmienność stężenia TBARS 120' w tej grupie. Pozostały procent zmienności każdego z ocenianych parametrów może być spowodowany innymi czynnikami lub nieliniowymi zależnościami.

Tabela 13. Wyniki analizy regresji wielokrotnej w zakresie korelacji między badanymi parametrami w grupach B1-B4. Wytłuszczono zmienne korelujące niezależnie. W nawiasie podano wartość β i R^2 (β ; R^2) przy $p < 0,05$.

	B1 n=30 (K=8, M=22)	B2 n=30 (K=10, M=20)	B3 n=30 (K=14, M=16)	B4 n=30 (K=14, M=16)
oxLDL 0'	LDL-C nHDL-C	CRP (0,41; 0,90) nHDL-C Ins 0' Ins 120' HOMA-IR (1,47; 0,90)	CRP (0,39; 0,47) HDL-C Ins 0' (0,36; 0,47)	Ins 0' Ins 120' (0,45; 0,54) HOMA-IR
oxLDL 120'	T-C LDL-C nHDL-C TG Ins 0' HOMA-IR	CRP (0,34; 0,73) nHDL-C Ins 0' Ins 120' HOMA-IR (1,94; 0,73)	TG	nHDL-C
oxLDL-ROGTT	LDL-C nHDL-C	CRP Ins 0' HOMA-IR	Wiek (-0,34; 0,50) CRP (-0,41; 0,50) Ins120'	Ins 0' (-2,6; 0,34) Ins 120' (-0,52; 0,34) HOMA-IR
TBARS 0'	Ins 0' HOMA-IR	Ins 0' HOMA-IR	Ins0' HOMA-IR	Ins0' Ins120' HOMA-IR
TBARS 120'			G 0' G 120'	Ins0' Ins 120' (0,41; 0,60) HOMA-IR
TBARS-ROGTT	T-C (1,04; 0,37) LDL-C nHDL-C	G 120'		WBC
TAS 0'	DBP CRP	Ins 0' HOMA-IR		
TAS 120'	DBP CRP (-0,37; 0,51) G 120' Ins 120'	TG HOMA-IR		
TAS-ROGTT	G 120' Ins 120'	BMI Obwód talii nHDL-C		SBP (-0,39)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; K – kobiety; M – mężczyźni; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [$\text{mU} \times \text{mmol} \times \text{l}^{-2}$]; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

4.3. Analiza badanej populacji z uwzględnieniem kwartyli HOMA-IR (H1-H4)

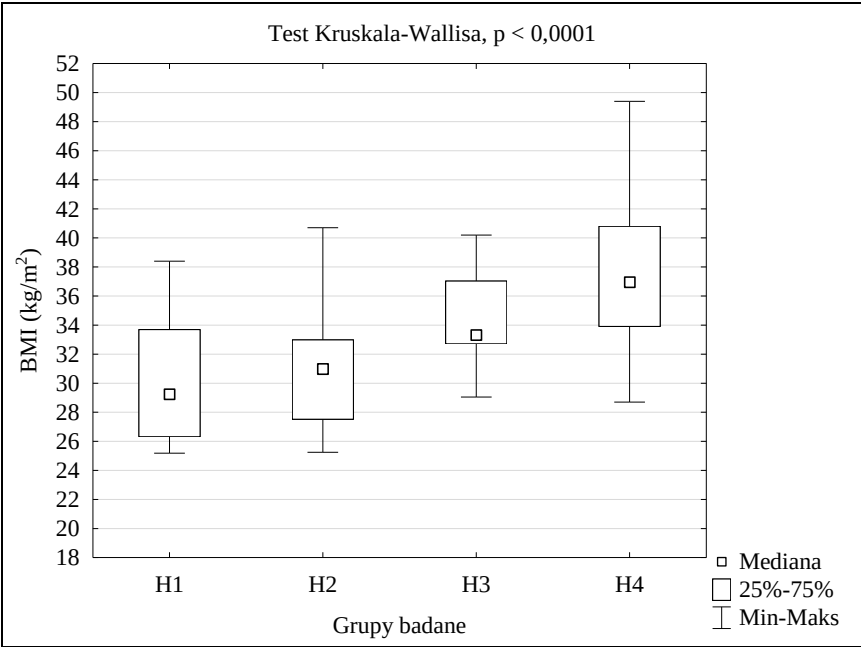
4.3.1. Charakterystyka opisowa i porównanie grup badanych H1-H4

W tabeli 14. i 15. przedstawiono wyniki pomiarów parametrów antropometrycznych i laboratoryjnych oraz markerów stresu oksydacyjnego w grupach badanych H1-H4. Testem Kruskala-Wallisa zbadano, czy istnieją istotne statystycznie różnice między grupami, a wyniki zaprezentowano na rycinach 14-31. Analiza *post hoc* porównań wielokrotnych została zamieszczona pod wykresami. Badane grupy nie różniły się między sobą wiekiem, wartościami ciśnienia tętniczego, stężeniem T-C, LDL-C i nHDL-C. Wykazano natomiast zwiększające się w kolejnych grupach wartości wskaźnika BMI i obwodu talii. Liczba leukocytów wzrastała w grupach od H1 do H4, a stężenie CRP od grupy H2 do H4. Spośród parametrów profilu lipidowego wykazano różnice w stężeniach HDL-C, zmniejszających się w kolejnych grupach oraz w stężeniach TG, gdzie grupy H3 i H4 prezentowały wyższe wartości niż H1 i H2. W przypadku glikemii na czczo test Kruskala-Wallisa pokazał, że wyniki w poszczególnych grupach są zróżnicowane, ale analiza *post hoc* porównań wielokrotnych nie wykazała jednoznacznie wyższych lub niższych stężeń w konkretnej grupie badanej. Natomiast stężenie glukozy w 120. minucie OGTT zwiększało się, osiągając istotnie wyższe wartości w grupie H4 w porównaniu z H1. Spodziewane różnice wykazano także w stężeniach insuliny w trakcie OGTT, rosnących w kolejnych grupach. W zakresie badanych wskaźników stresu oksydacyjnego wykazano różnice dla każdego parametru, oprócz TBARS-RO_{OGTT}. Stężenie oxLDL zarówno na czczo, jak i w 120. minucie OGTT zwiększało się, osiągając znacznie wyższe wartości w grupie H4 w porównaniu z pozostałymi, przy jednoczesnym spadku wskaźnika oxLDL-RO_{OGTT} od grupy H2 do H4. Stężenie TBARS również zwiększało się, jednak nie towarzyszyły temu zmiany wskaźnika TBARS-RO_{OGTT}. W przypadku TAS także zaobserwowano wzrost stężenia w kolejnych grupach, natomiast wskaźnik TAS-RO_{OGTT} zwiększał się w grupach od H1 do H3, po czym istotnie malał w grupie H4.

Tabela 14. Porównanie wyników parametrów antropometrycznych i analiz laboratoryjnych krwi w grupach badanych H1-H4.

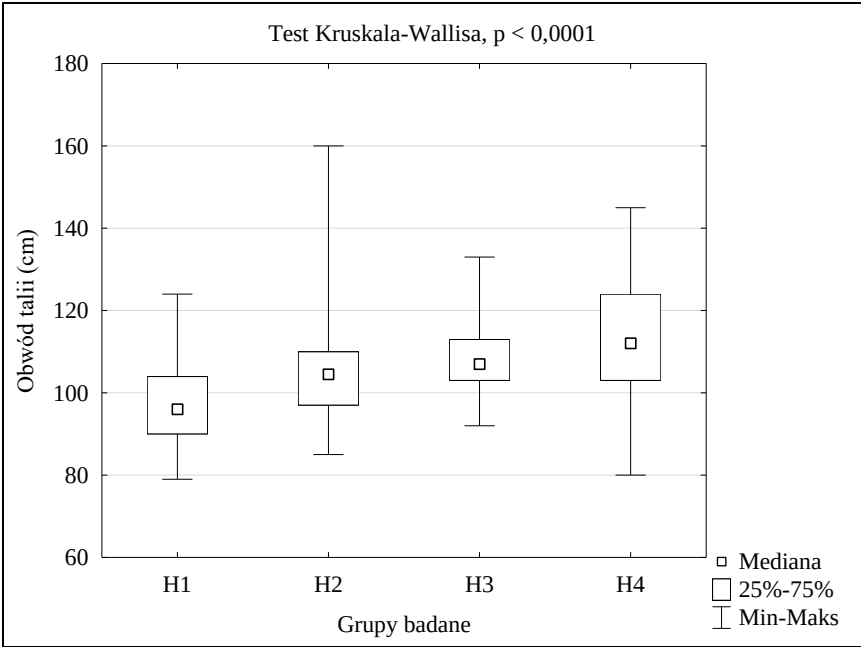
	H1 n=30 (K=11, M=19)	H2 n=30 (K=8, M=22)	H3 n=30 (K=11, M=19)	H4 n=30 (K=16, M=14)	p
Wiek	56,50 (50,00-64,00)	53,50 (44,00-60,00)	51,00 (44,00-61,00)	53,00 (40,00-59,00)	ns
BMI [kg/m ²]	29,23 (26,32-33,70)	30,97 (27,51-32,99)	33,31 (32,70-37,04)	36,95 (33,90-40,80)	< 0,0001
Obwód talii [cm]	96,00 (90,00-104,00)	104,50 (97,00-110,00)	107,00 (103,00-113,00)	112,00 (103,00-124,00)	< 0,0001
SBP [mmHg]	135,50 (120,00-148,00)	130,00 (117,00-142,00)	130,00 (128,00-141,00)	140,00 (125,00-150,00)	ns
DBP [mmHg]	84,00 (71,00-90,00)	83,00 (80,00-90,00)	86,50 (80,00-95,00)	90,00 (80,00-95,00)	ns
WBC [x10 ⁹ /l]	5,91 (5,34-6,91)	6,04 (5,34-6,70)	6,62 (6,01-7,00)	7,93 (6,55-8,32)	0,0008
CRP [mg/l]	1,85 (1,20-4,12)	1,50 (0,90-2,50)	2,43 (1,60-3,75)	4,91 (2,94-5,96)	< 0,0001
T-C [mmol/l]	5,42 (4,90-6,21)	5,34 (4,87-6,32)	5,37 (4,80-6,34)	4,98 (4,52-6,03)	ns
HDL-C [mmol/l]	1,54 (1,33-1,81)	1,36 (1,17-1,60)	1,21 (1,03-1,48)	1,23 (1,04-1,38)	0,0004
LDL-C [mmol/l]	3,31 (2,93-4,04)	3,49 (3,13-4,12)	3,55 (2,94-4,06)	2,94 (2,56-3,98)	ns
nHDL-C [mmol/l]	3,73 (3,19-4,55)	3,96 (3,62-4,69)	4,31 (3,45-5,12)	3,77 (3,21-4,57)	ns
TG [mmol/l]	1,12 (0,87-1,53)	1,46 (1,08-2,10)	1,74 (1,35-2,40)	1,72 (1,28-2,36)	0,0007
G 0' [mmol/l]	5,18 (4,65-5,49)	5,12 (4,85-5,46)	5,43 (5,12-5,78)	5,37 (5,02-5,84)	0,0180
G 120' [mmol/l]	5,29 (4,58-6,80)	6,00 (5,33-7,01)	7,06 (5,28-8,12)	7,81 (5,62-8,95)	0,0042
Ins 0' [mU/l]	10,10 (8,36-11,36)	15,38 (14,74-16,90)	21,11 (19,71-23,79)	39,09 (32,97-66,55)	< 0,0001
Ins 120' [mU/l]	33,13 (23,69-46,75)	60,02 (38,10-80,84)	88,83 (29,38-123,36)	137,60 (109,34-335,38)	< 0,0001
HOMA-IR	2,27 (1,78-2,61)	3,68 (3,27-3,84)	5,10 (4,75-5,62)	9,44 (7,67-14,83)	wg definicji

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; BMI – wskaźnik masy ciała; SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [mU x mmol x l⁻²]; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.



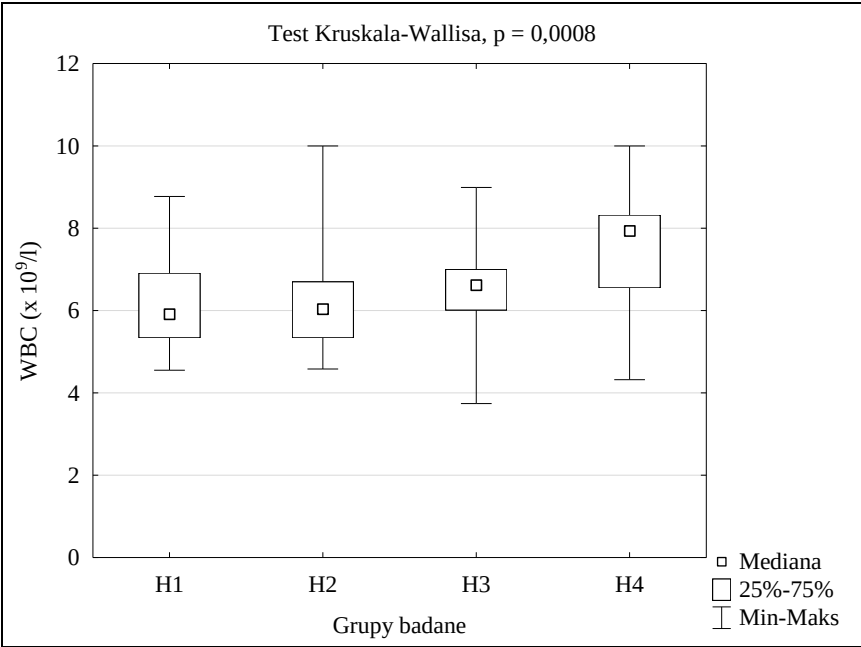
Grupa	BMI			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	0,0031	0,0000
H2	1,0000		0,0284	0,0000
H3	0,0031	0,0284		0,5124
H4	0,0000	0,0000	0,5124	

Rycina 14. Porównanie BMI między badanymi grupami H1-H4.



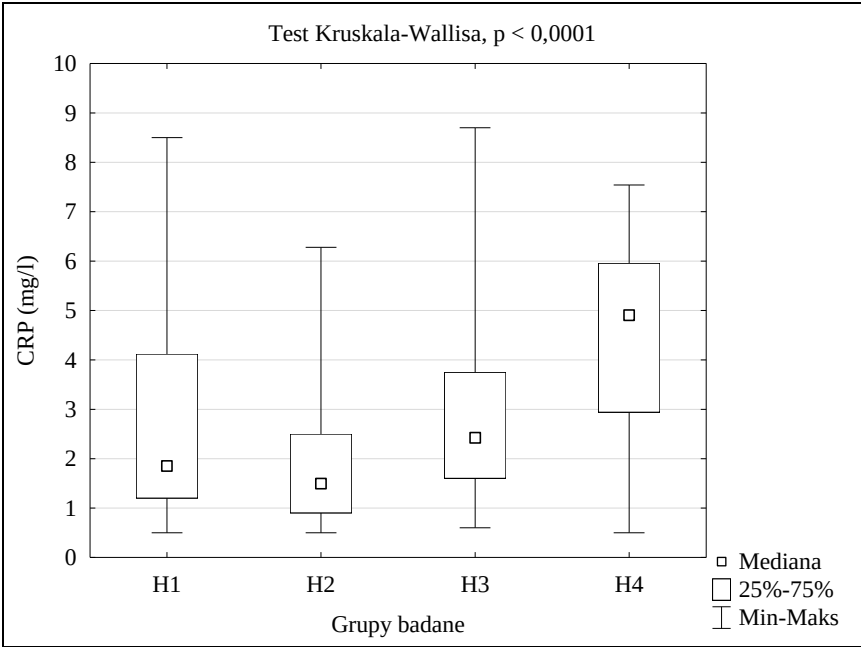
Grupa	OBWÓD TALII			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,1290	0,0016	0,0000
H2	0,1290		1,0000	0,1079
H3	0,0016	1,0000		1,0000
H4	0,0000	0,1079	1,0000	

Rycina 15. Porównanie obwodu talii między badanymi grupami H1-H4.



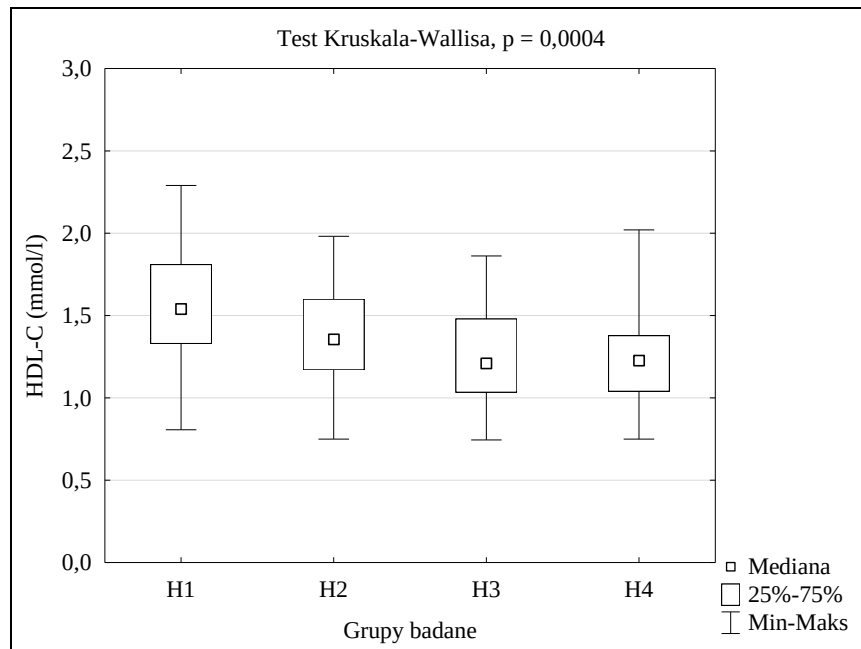
Grupa	WBC			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	0,4984	0,0011
H2	1,0000		1,0000	0,0075
H3	0,4984	1,0000		0,2644
H4	0,0011	0,0075	0,2644	

Rycina 16. Porównanie liczby leukocytów między badanymi grupami H1-H4.



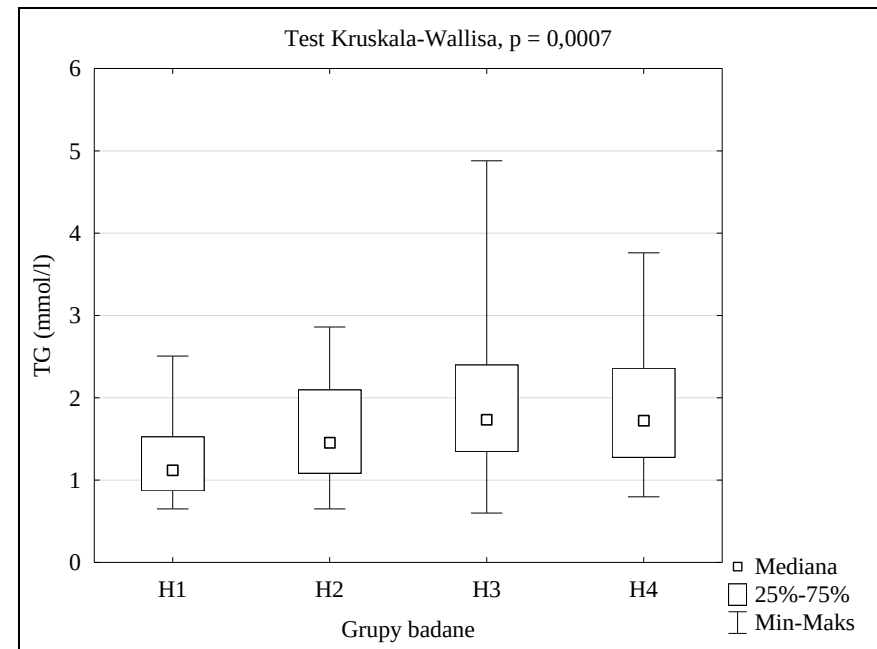
Grupa	CRP			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,8836	1,0000	0,0046
H2	0,8836		0,1980	0,0000
H3	1,0000	0,1980		0,0440
H4	0,0046	0,0000	0,0440	

Rycina 17. Porównanie stężenia CRP między badanymi grupami H1-H4.



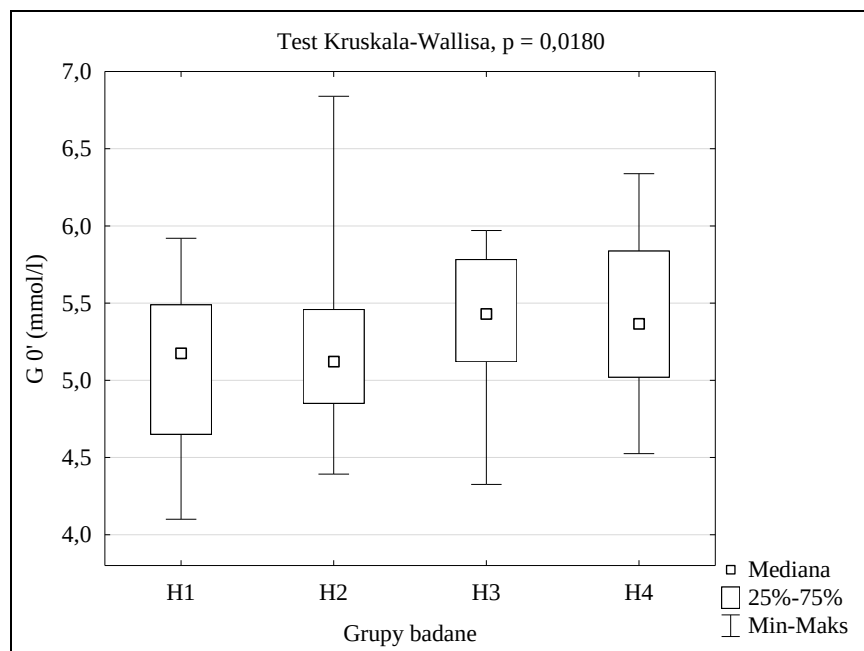
Grupa	HDL-C			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,4005	0,0022	0,0011
H2	0,4005		0,4964	0,3315
H3	0,0022	0,4964		1,0000
H4	0,0011	0,3315	1,0000	

Rycina 18. Porównanie stężenia HDL-C między badanymi grupami H1-H4.



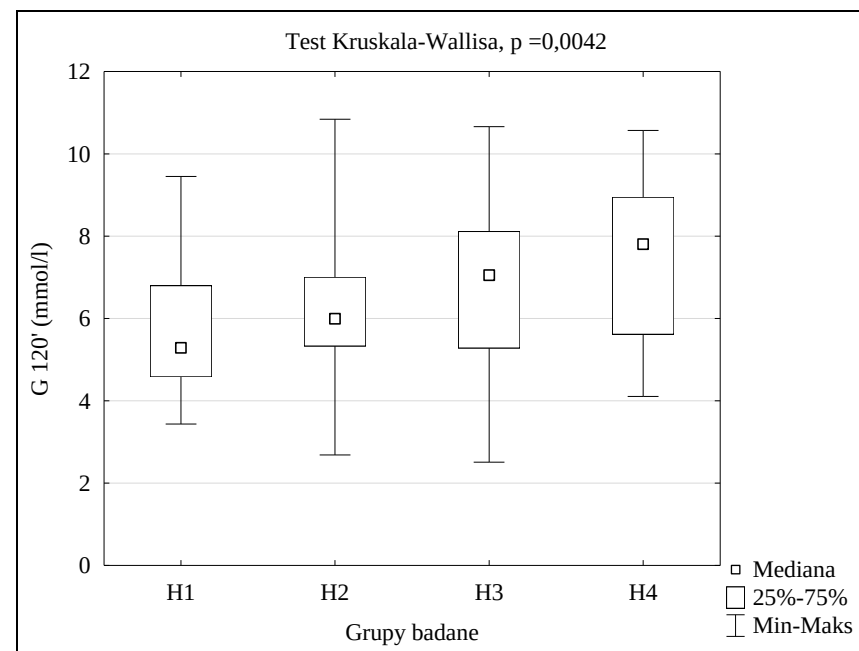
Grupa	TG			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,1415	0,0016	0,0032
H2	0,1415		0,9907	1,0000
H3	0,0016	0,9907		1,0000
H4	0,0032	1,0000	1,0000	

Rycina 19. Porównanie stężenia TG między badanymi grupami H1-H4.



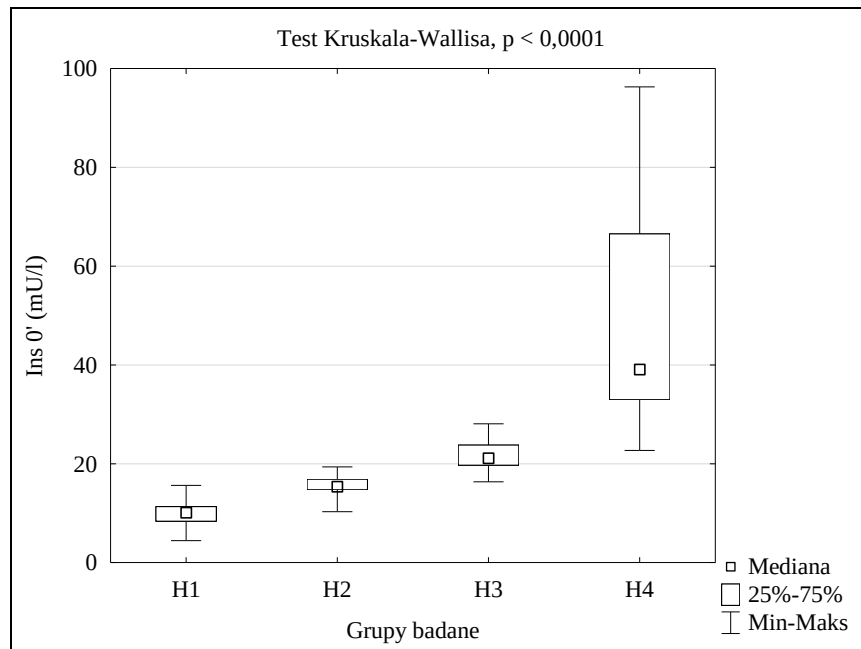
Grupa	G 0'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	0,0758	0,0686
H2	1,0000		0,3700	0,3415
H3	0,0758	0,3700		1,0000
H4	0,0686	0,3415	1,0000	

Rycina 20. Porównanie glikemii w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



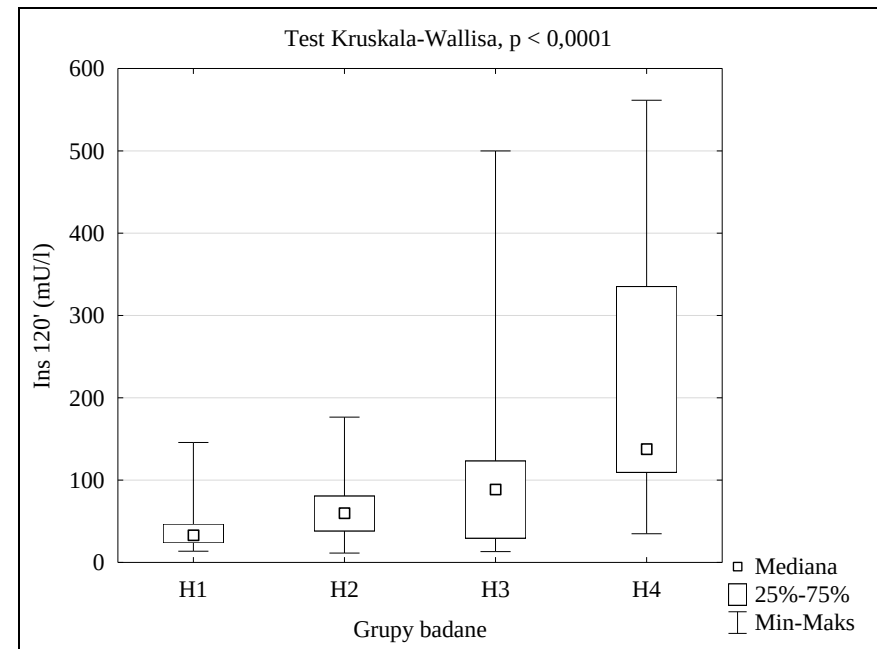
Grupa	G 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	0,2344	0,0043
H2	1,0000		1,0000	0,0563
H3	0,2344	1,0000		1,0000
H4	0,0043	0,0563	1,0000	

Rycina 21. Porównanie glikemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



Grupa	Ins 0'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,0084	0,0000	0,0000
H2	0,0084		0,0045	0,0000
H3	0,0000	0,0045		0,0078
H4	0,0000	0,0000	0,0078	

Rycina 22. Porównanie insulinemii w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



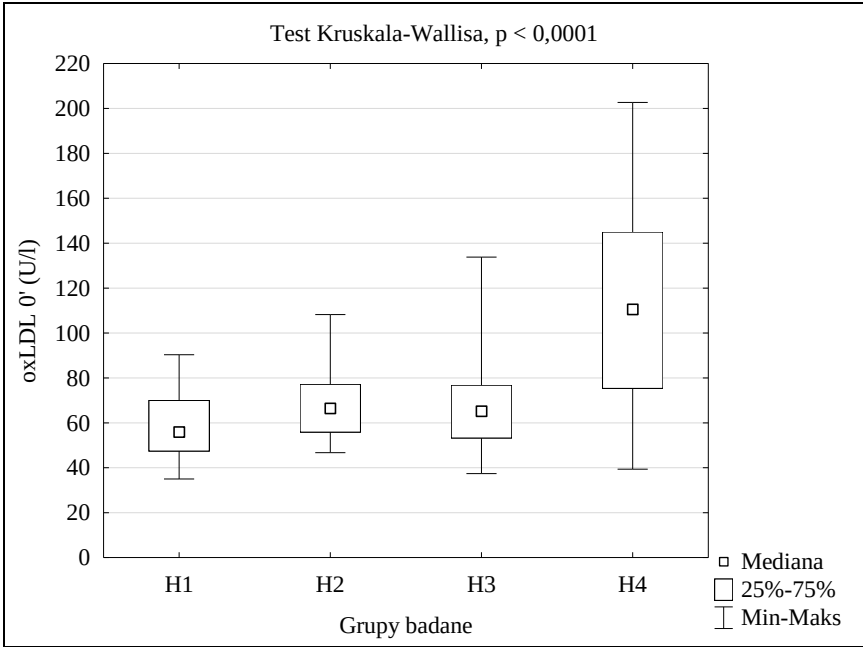
Grupa	Ins 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych :			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,4713	0,0050	0,0000
H2	0,4713		0,6832	0,0000
H3	0,0050	0,6832		0,0144
H4	0,0000	0,0000	0,0144	

Rycina 23. Porównanie insulinemii w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.

Tabela 15. Porównanie wyników parametrów stresu oksydacyjnego w grupach badanych H1-H4.

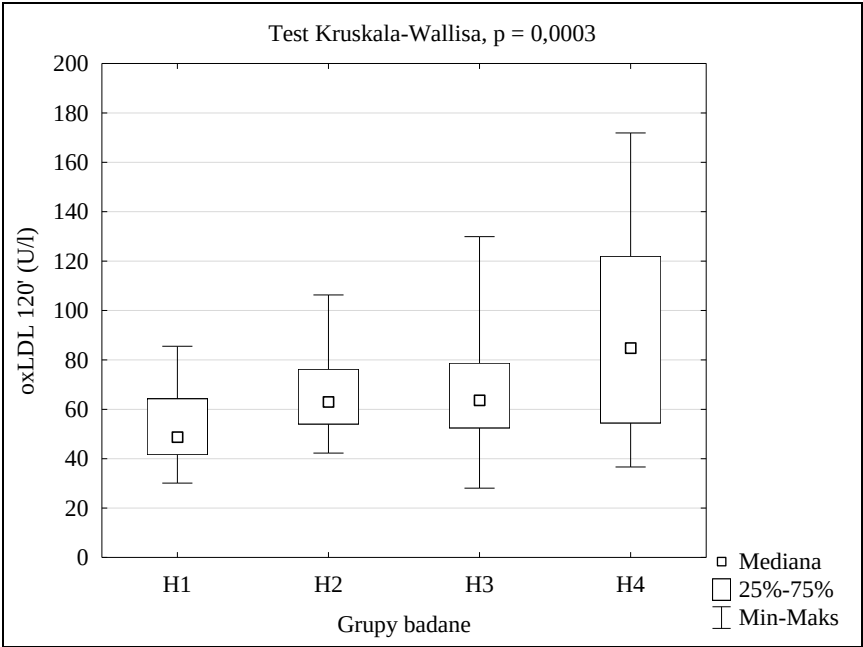
	H1 n=30 (K=11, M=19)	H2 n=30 (K=8, M=22)	H3 n=30 (K=11, M=19)	H4 n=30 (K=16, M=14)	p
oxLDL 0' [U/l]	55,87 (47,40-70,00)	66,40 (55,80-77,21)	65,15 (53,20-76,80)	110,45 (75,31-145,00)	< 0,0001
oxLDL 120' [U/l]	48,80 (41,55-64,31)	63,08 (53,99-76,26)	63,59 (52,43-78,70)	84,72 (54,40-122,00)	0,0003
oxLDL-ROGTT	0,93 (0,82-1,03)	0,98 (0,90-1,12)	0,96 (0,87-1,11)	0,85 (0,76-0,90)	0,0002
TBARS 0' [μ mol/l]	5,12 (4,20-5,79)	5,57 (4,62-6,57)	5,65 (5,14-6,57)	7,21 (6,47-9,19)	< 0,0001
TBARS 120' [μ mol/l]	5,49 (4,45-6,85)	5,53 (5,12-6,90)	5,72 (4,59-6,70)	7,57 (6,36-9,16)	0,0001
TBARS-ROGTT	1,06 (0,92-1,25)	1,04 (0,98-1,18)	1,02 (0,93-1,13)	1,01 (0,94-1,06)	ns
TAS 0' [mmol/l]	1,26 (1,19-1,33)	1,29 (1,19-1,37)	1,31 (1,18-1,39)	1,38 (1,26-1,55)	0,0150
TAS 120' [mmol/l]	1,27 (1,20-1,41)	1,39 (1,26-1,52)	1,48 (1,34-1,60)	1,40 (1,23-1,52)	0,0038
TAS-ROGTT	1,01 (0,98-1,06)	1,05 (1,00-1,11)	1,12 (1,02-1,16)	1,02 (0,93-1,07)	0,0001

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.



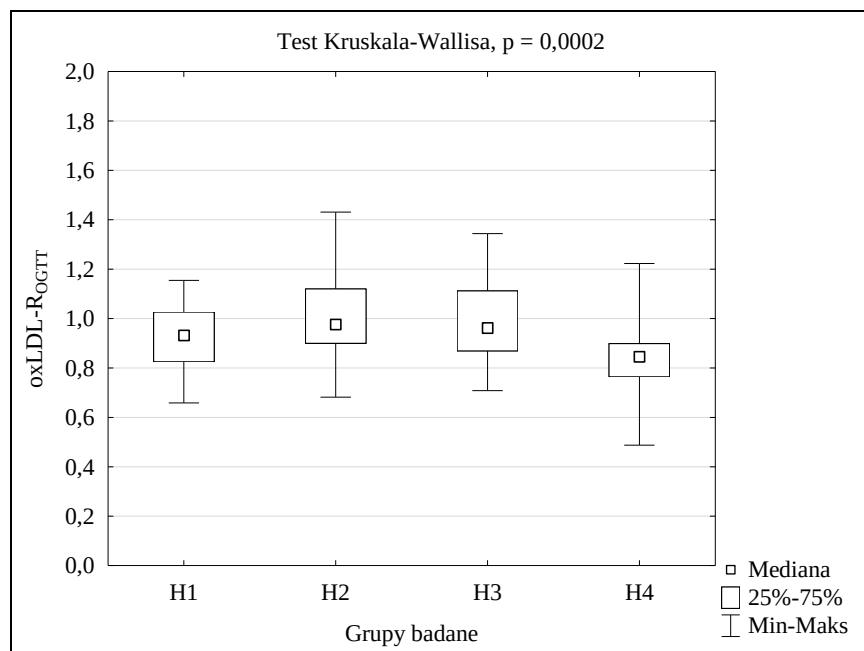
Grupa	oxLDL 0'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,3810	0,9975	0,0000
H2	0,3810		1,0000	0,0063
H3	0,9975	1,0000		0,0011
H4	0,0000	0,0063	0,0011	

Rycina 24. Porównanie stężenia oksydowanych LDL w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



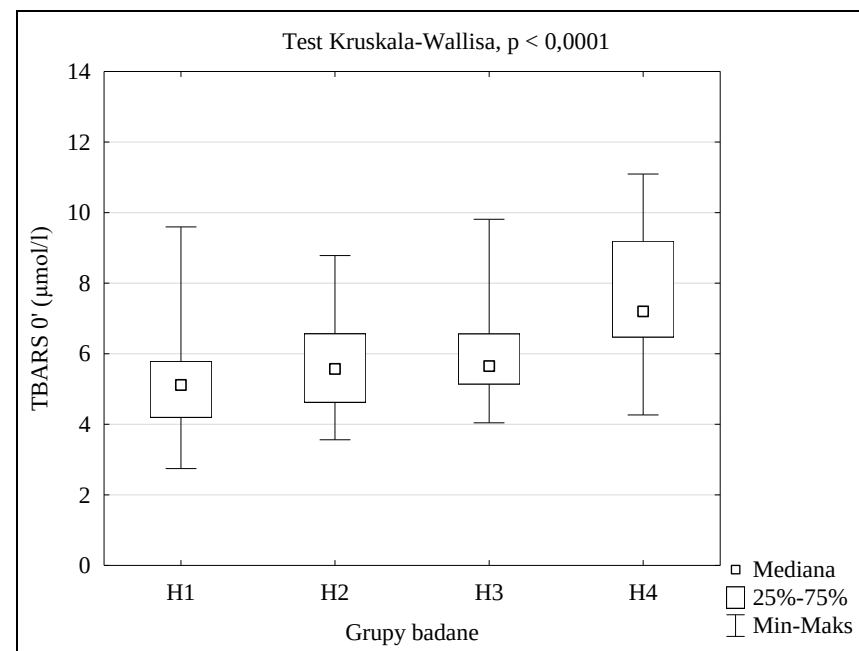
Grupa	oxLDL 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,0391	0,0956	0,0001
H2	0,0391		1,0000	0,6909
H3	0,0956	1,0000		0,3563
H4	0,0001	0,6909	0,3563	

Rycina 25. Porównanie stężenia oksydowanych LDL w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



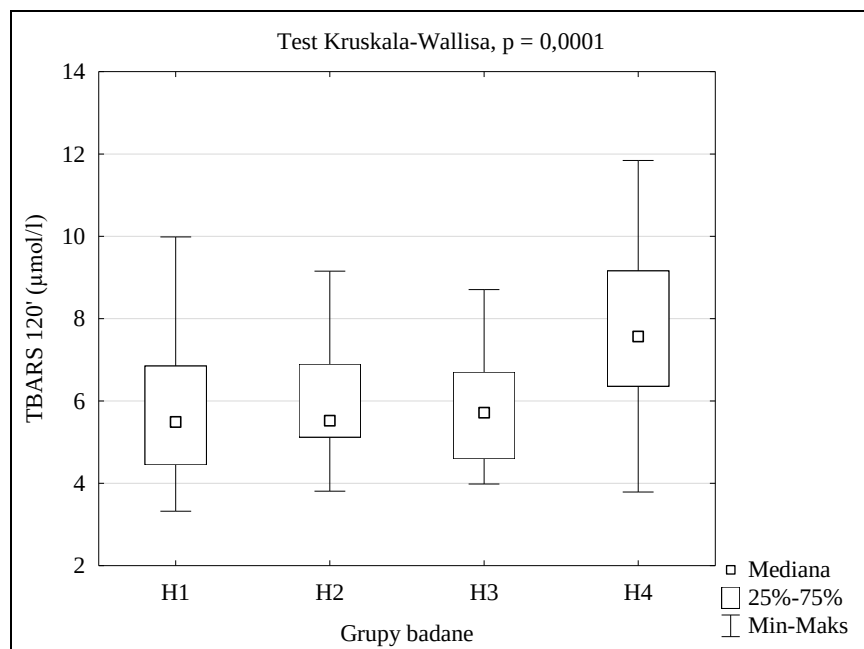
Grupa	oxLDL-R _{OGTT} wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,6883	1,0000	0,0815
H2	0,6883		1,0000	0,0003
H3	1,0000	1,0000		0,0014
H4	0,0815	0,0003	0,0014	

Rycina 26. Porównanie wskaźnika oxLDL-R_{OGTT} między badanymi grupami H1-H4.



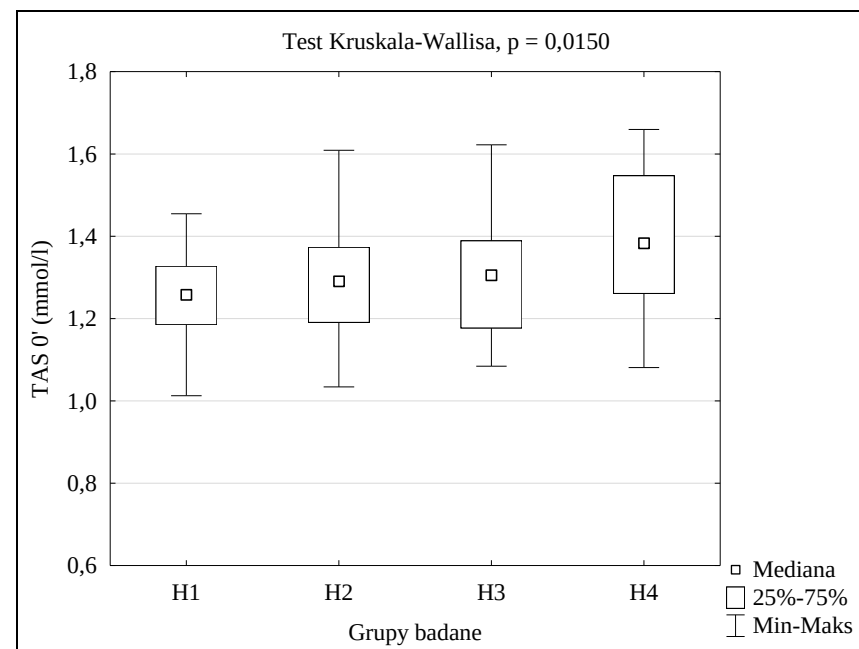
Grupa	TBARS 0' wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	0,3548	0,0000
H2	1,0000		1,0000	0,0003
H3	0,3548	1,0000		0,0044
H4	0,0000	0,0003	0,0044	

Rycina 27. Porównanie stężenia TBARS w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



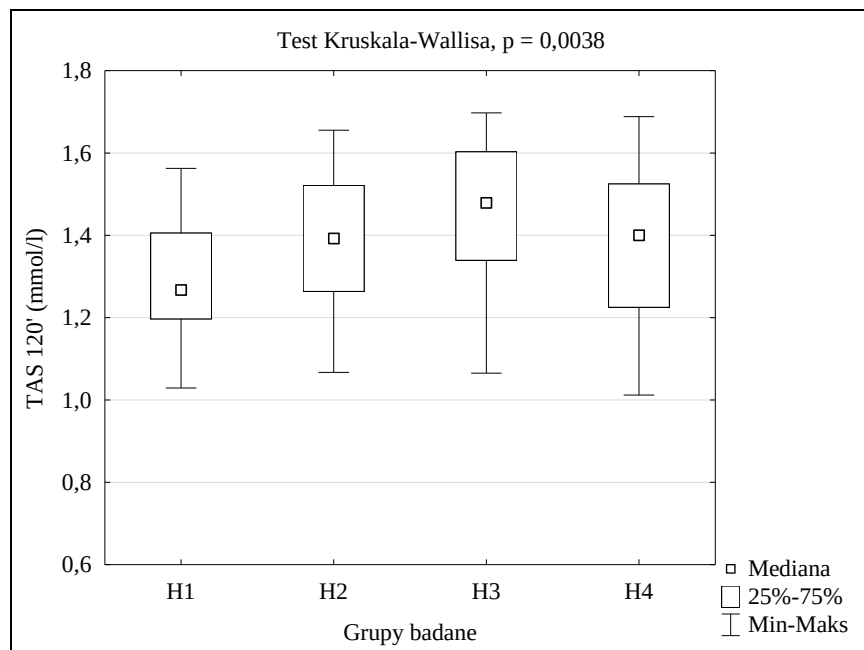
Grupa	TBARS 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	1,0000	0,0003
H2	1,0000		1,0000	0,0030
H3	1,0000	1,0000		0,0011
H4	0,0003	0,0030	0,0011	

Rycina 28. Porównanie stężenia TBARS w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



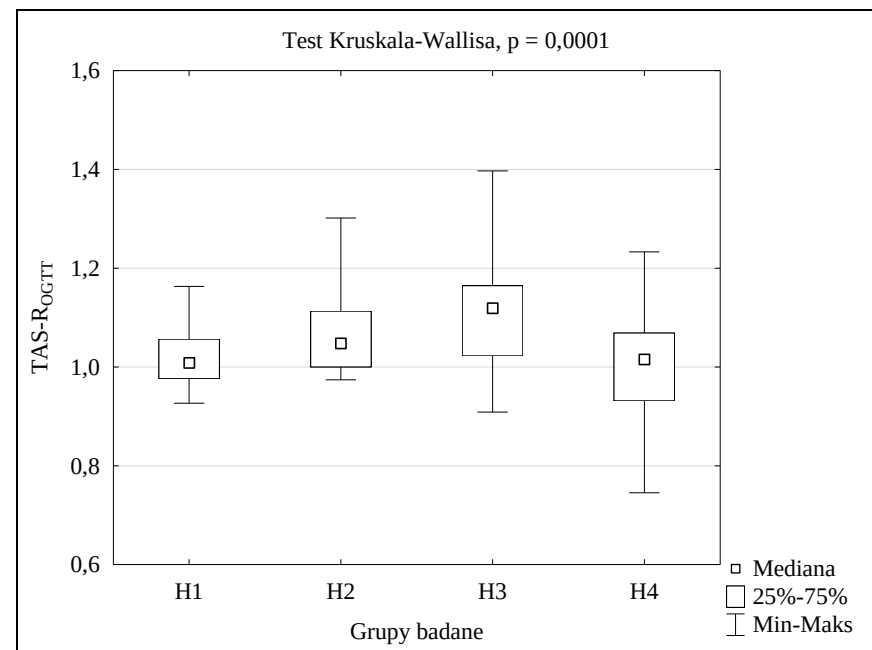
Grupa	TAS 0'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		1,0000	1,0000	0,0119
H2	1,0000		1,0000	0,1112
H3	1,0000	1,0000		0,3217
H4	0,0119	0,1112	0,3217	

Rycina 29. Porównanie TAS w 0. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



Grupa	TAS 120'			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,3955	0,0015	0,2644
H2	0,3955		0,4122	1,0000
H3	0,0015	0,4122		0,5986
H4	0,2644	1,0000	0,5986	

Rycina 30. Porównanie TAS w 120. minucie OGTT między badanymi grupami H1-H4.



Grupa	TAS-ROGTT			
	wartość p dla porównań wielokrotnych:			
	H1	H2	H3	H4
H1		0,2633	0,0014	1,0000
H2	0,2633		0,5850	0,1123
H3	0,0014	0,5850		0,0004
H4	1,0000	0,1123	0,0004	

Rycina 31. Porównanie wskaźnika TAS-ROGTT między badanymi grupami H1-H4.

4.3.2. Analiza korelacji w grupach badanych H1-H4

W tabeli 16. zaprezentowano wyniki analizy korelacji pomiędzy parametrami kliniczno-laboratoryjnymi i stresu oksydacyjnego w grupach badanych H1-H4. Analizie poddano wszystkie oznaczane parametry, a w tabeli zamieszczono tylko korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$). Zaobserwowano, podobnie jak we wcześniejszych analizach, korelacje oxLDL 0' i oxLDL 120' z parametrami profilu lipidowego: przeważnie przeciętne, dodatnie korelacje ze stężeniem cholesterolu frakcji nie-HDL. W całej badanej populacji oraz w grupie H4 stężenia oxLDL 0' i oxLDL 120' korelowały z TBARS 0' i TBARS 120', przy czym siła związku była wyższa w grupie H4. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku korelacji stężenia TBARS z glikemią w trakcie OGTT. W grupie H2 stężenia TBARS 0' i TBARS 120' korelowały z G120', a w grupie H3 – z glikemią na czczo, przy czym siła korelacji również była wyższa niż w całej populacji. W grupach H1 i H4 stężenia TBARS korelowały dodatnio z insulinemią w trakcie OGTT i wskaźnikiem HOMA-IR z podobną siłą jak w całej badanej populacji. Stężenia wszystkich badanych parametrów stresu oksydacyjnego w 0. i 120. minucie OGTT korelowały ze sobą wzajemnie. Zaobserwowano bardzo wysokie dodatnie korelacje między TAS 0' i TAS 120' w grupach H1-H3 i dodatnią wysoką korelację w grupie H4, gdzie TAS 0' korelował również ujemnie ze wskaźnikiem TAS-RO_{OGTT}. Może to stanowić dowód na załamywanie się mobilizacji obrony antyoksydacyjnej w grupie H4, co zaobserwowano już w trakcie analizy grup badanych testem Kruskala-Wallisa. Z kolei wskaźnik TAS-RO_{OGTT} korelował ujemnie ze wskaźnikiem TBARS-RO_{OGTT} wyłącznie w grupie H1, co pozwala przypuszczać, że tylko przy słabo nasilonej insulinooporności przyrost TAS zabezpiecza przed wzrostem produktów peroksydacji lipidów.

Tabela 16. Korelacje wykładników stresu oksydacyjnego z parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w grupach badanych H1-H4.

W tabeli przedstawiono wyniki istotnych korelacji przy $p < 0,05$. W nawiasie podano wartość współczynnika R Spearmana (R).

	Populacja badana n=120 (K=46, M=74)	H1 n=30 (K=11, M=19)	H2 n=30 (K=8, M=22)	H3 n=30 (K=11, M=19)	H4 n=30 (K=16, M=14)
oxLDL 0'	BMI (0,20) Obwód talii (0,20) WBC (0,21) CRP (0,43) HDL-C (-0,31) nHDL-C (0,27) TG (0,21) Ins 0' (0,43) Ins 120' (0,32) HOMA-IR (0,43) oxLDL 120' (0,82) oxLDL-ROGTT (-0,36) TBARS 0' (0,32) TBARS 120' (0,36)	T-C (0,42) nHDL-C (0,47) oxLDL 120' (0,88)	CRP (0,37) oxLDL 120' (0,73)	oxLDL 120' (0,75)	CRP (0,42) nHDL-C (0,40) oxLDL 120' (0,94) oxLDL-ROGTT (-0,40) TBARS 0' (0,63) TBARS 120' (0,69)
oxLDL 120'	Wiek (-0,22) BMI (0,22) Obwód talii (0,19) WBC (0,22) CRP (0,32) T-C (0,28) HDL-C (-0,29) LDL-C (0,27) nHDL-C (0,40) TG (0,20) Ins 0' (0,38) Ins 120' (0,22) HOMA-IR (0,38) oxLDL 0' (0,82) TBARS 0' (0,24) TBARS 120' (0,24)	T-C (0,41) LDL-C (0,40) nHDL-C (0,46) oxLDL 0' (0,88) oxLDL-ROGTT (0,50)	Wiek (-0,43) G 120' (-0,37) Ins 0' (-0,37) oxLDL 0' (0,73) oxLDL-ROGTT (0,52)	Wiek (-0,38) T-C (0,43) nHDL-C (0,40) oxLDL 0' (0,75)	CRP (0,38) LDL-C (0,44) nHDL-C (0,46) oxLDL 0' (0,94) TBARS 0' (0,55) TBARS 120' (0,55)
oxLDL-ROGTT	CRP (-0,26) T-C (0,21) LDL-C (0,24) nHDL-C (0,20) Ins 0' (-0,20) Ins 120' (-0,20) HOMA-IR (-0,19) oxLDL 0' (-0,36) TBARS 0' (-0,19) TBARS 120' (-0,26) TAS-ROGTT (0,19)	BMI (0,43) oxLDL 120' (0,50)	HOMA-IR (0,40) oxLDL 120' (0,52)		Ins 120' (-0,37) oxLDL 0' (-0,40) TBARS 120' (-0,45) TBARS-ROGTT (-0,51) TAS 120' (0,39)
TBARS 0'	BMI (0,23) WBC (0,20) HDL-C (-0,20) TG (0,27) G 120' (0,23) Ins 0' (0,50) Ins 120' (0,39) HOMA-IR (0,53) oxLDL 0' (0,32) oxLDL 120' (0,24) oxLDL-ROGTT (-0,19) TBARS 120' (0,79) TBARS-ROGTT (-0,23)	Ins 0' (0,54) HOMA-IR (0,56) TBARS 120' (0,74)	G 120' (0,52) TBARS 120' (0,81)	Wiek (-0,43) G 0' (0,40) TBARS 120' (0,51)	Ins 0' (0,57) HOMA-IR (0,57) oxLDL 0' (0,63) oxLDL 120' (0,55) TBARS 120' (0,86)

TBARS 120'	BMI (0,23) CRP (0,24) TG (0,19) G 120' (0,18) Ins 0' (0,35) Ins 120' (0,36) HOMA-IR (0,38) oxLDL 0' (0,36) oxLDL 120' (0,24) oxLDL-ROGTT (-0,26) TBARS 0' (0,79) TBARS-ROGTT (0,34) TAS 0' (0,18) TAS-ROGTT (-0,21)	Ins 0' (0,46) HOMA-IR (0,37) TBARS 0' (0,74)	G 120' (0,44) TBARS 0' (0,81)	G 0' (0,59) TBARS 0' (0,51) TBARS-ROGTT (0,60)	Ins 0' (0,49) Ins 120' (0,44) HOMA-IR (0,50) oxLDL 0' (0,69) oxLDL 120' (0,55) oxLDL-ROGTT (-0,45) TBARS 0' (0,86) TBARS-ROGTT (0,42)
TBARS-ROGTT	T-C (0,19) TBARS 0' (-0,23) TBARS 120' (0,34)	BMI (0,37) TAS-ROGTT (-0,37)	T-C (0,41) LDL-C (0,39) nHDL-C (0,45)	TBARS 120' (0,60)	WBC (-0,38) oxLDL-ROGTT (-0,51) TBARS 120' (0,42)
TAS 0'	Ins 0' (0,28) HOMA-IR (0,28) TBARS 120' (0,18) TAS 120' (0,68) TAS-ROGTT (-0,24)	Obwód talii (-0,43) TAS 120' (0,79)	BMI (-0,38) TAS 120' (0,77)	TAS 120' (0,71)	BMI (-0,47) TAS 120' (0,52) TAS-ROGTT (-0,52)
TAS 120'	Wiek (-0,18) Ins 0' (0,23) HOMA-IR (0,21) TAS 0' (0,68) TAS-ROGTT (0,47)	WBC (-0,46) CRP (-0,38) TAS 0' (0,79)	TAS 0' (0,77)	TAS 0' (0,71) TAS-ROGTT (0,55)	Wiek (-0,37) WBC (0,46) oxLDL-ROGTT (0,39) TAS 0' (0,52)
TAS-ROGTT	Wiek (-0,18) oxLDL-ROGTT (0,19) TBARS 120' (-0,21) TAS 0' (-0,24) TAS 120' (0,47)	DBP (0,39) TBARS-ROGTT (-0,37)	G 120' (-0,39)	TAS 120' (0,55)	G 0' (0,38) Ins 0' (-0,37) TAS 0' (-0,52)

Objaśnienia: n – liczebność grupy; K – kobiety; M – mężczyźni; BMI – wskaźnik masy ciała; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; HDL-C – cholesterol frakcji HDL; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; TG – triglicerydy; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [mU x mmol x l⁻²]; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy; powtarzające się korelacje wybranych parametrów oznaczono graficznie za pomocą pogrubienia tekstu, zmiany koloru czcionki i wyróżnienia tekstu kolorem, dla lepszej czytelności danych zawartych w tabeli.

4.3.3. Analiza regresji wielokrotnej w grupach H1-H4

Wyniki analizy regresji wielokrotnej w zakresie zaobserwowanych korelacji między markerami stresu oksydacyjnego a parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w grupach badanych zaprezentowano w tabeli 17. W grupie H1 niezależnie od innych czynników liczba leukocytów korelowała ujemnie z TAS 120' odpowiadając w 24% za liniową zmienność tego parametru. W grupie H3 ze stężeniem TBARS 0' korelowały niezależnie: wiek osób badanych i glikemia na czczo, tłumacząc jego zmienność w 27%. W grupie H4 zaobserwowano dodatnie korelacje

stężenia CRP z oxLDL 0' i oxLDL 120', wyjaśniające zmienność odpowiednio w 31% i 28%. Ponadto ze stężeniem TBARS 120' korelowała insulinemia w 120. minucie OGTT (46% zmienności), a z TAS 120' korelowała liczba leukocytów (29% zmienności). W przypadku stężenia oxLDL zaobserwowano w grupie 4. dodatnią liniową zależność ze stężeniem CRP, którego zmienność w 31% tłumaczy liniową zmienność oxLDL 0' i w 28% – oxLDL 120'. Insulinemia w 120. minucie OGTT korelowała dodatnio ze stężeniem TBARS 120' wyjaśniając jego zmienność w 46%. Z kolei liczba leukocytów korelowała dodatnio z TAS 120', odpowiadając za 29% zmienności tego parametru. Pozostały procent zmienności każdego z ocenianych markerów stresu oksydacyjnego może być spowodowany innymi czynnikami lub nieliniowymi zależnościami.

Tabela 17. Wyniki analizy regresji wielokrotnej w zakresie korelacji między badanymi parametrami w grupach H1-H4. Wytluszczone zmienne korelujące niezależnie. W nawiasie podano wartość β i R^2 (β ; R^2) przy $p < 0,05$.

	H1 n=30 (K=11, M=19)	H2 n=30 (K=8, M=22)	H3 n=30 (K=11, M=19)	H4 n=30 (K=16, M=14)
oxLDL 0'	T-C nHDL-C	CRP		CRP (0,44; 0,31) nHDL-C
oxLDL 120'	T-C LDL-C nHDL-C	Wiek G 120' Ins 0'	Wiek T-C nHDL-C	CRP (0,37; 0,28) LDL-C nHDL-C
oxLDL-ROGTT	BMI	HOMA-IR		Ins 120'
TBARS 0'	Ins 0' HOMA-IR	G 120'	Wiek (-0,35; 0,27) G 0' (0,35; 0,27)	Ins 0' HOMA-IR
TBARS 120'	Ins 0' HOMA-IR	G 120'	G 0'	Ins 0' Ins 120' (0,44; 0,46) HOMA-IR
TBARS-ROGTT	BMI	T-C LDL-C nHDL-C		WBC
TAS 0'	Obwód talii	BMI		BMI
TAS 120'	WBC (-0,39; 0,24) CRP			Wiek WBC (0,43; 0,29)
TAS-ROGTT	DBP	G 120'		G 0' Ins 0'

Objaśnienia: n – liczebność grupy; K – kobiety; M – mężczyźni; BMI – wskaźnik masy ciała; DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze; WBC – białe krwinki; CRP – białko C-reaktywne; T-C – cholesterol całkowity; LDL-C – cholesterol frakcji LDL; nHDL-C – cholesterol frakcji nie-HDL; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności [$\text{mU} \times \text{mmol} \times \text{l}^{-2}$]; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; oxLDL-ROGTT – wskaźnik oxLDL 120'/oxLDL 0'; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TBARS-ROGTT – wskaźnik TBARS 120'/TBARS 0'; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; TAS-ROGTT – wskaźnik TAS 120'/TAS 0'; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

4.4. Porównanie badanych parametrów w trakcie OGTT

Uzyskane wyniki badanych zmiennych w 0. i 120. minucie OGTT poddano analizie porównawczej przy użyciu testu Wilcozona w całej badanej populacji i w poszczególnych grupach badanych – wyniki przedstawiono w tabelach 18-20. Wykazano różnice pomiędzy wszystkimi parami zmiennych w całej populacji.

Stężenia glukozy i insuliny w trakcie OGTT (0' i 120') różniły się między sobą w każdej grupie badanej. W zakresie parametrów stresu oksydacyjnego w całej badanej populacji, u kobiet i mężczyzn oraz w grupie NGT i PRE, utrzymały się różnice między stężeniami oxLDL (0' i 120') i TAS osocza (0' i 120'), natomiast stężenia TBARS (0' i 120') nie różniły się między sobą u mężczyzn i w grupie normoglikemicznej (tabela 18). W grupach wyróżnionych na podstawie kwartyli BMI nie wykazano różnic między stężeniami oxLDL w grupie B3 oraz między stężeniami TBARS w grupach B1 i B3 (tabela 19). W przypadku podziału populacji z uwzględnieniem HOMA-IR, stężenia oxLDL w trakcie OGTT nie różniły się między sobą w grupach H2 i H3, stężenia TBARS w grupach H1, H3 i H4, a TAS osocza w grupach H1 i H4 (tabela 20).

Tabela 18. Porównanie parametrów badanych w trakcie OGTT (0' i 120') w całej badanej populacji i w grupach: kobiet, mężczyzn, NGT i PRE.

Para zmiennych	Populacja badana n=120 (K=46, M=74)	Kobiety n=46	Mężczyźni n=74	NGT n=73 (K=26, M=47)	PRE n=47 (K=20, M=27)
G 0' & G 120'	< 0,0001	< 0,0001	<0,0001	0,0037	< 0,0001
Ins 0' & Ins 120'	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
oxLDL 0' & oxLDL 120'	< 0,0001	0,0003	0,0059	0,0213	0,0001
TBARS 0' & TBARS 120'	0,0127	0,0191	ns	ns	0,0490
TAS 0' & TAS 120'	< 0,0001	0,0086	< 0,0001	< 0,0001	0,0064

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

Tabela 19. Porównanie parametrów badanych w trakcie OGTT (0' i 120') w grupach B1-B4.

Para zmiennych	B1 n=30 (K=8, M=22)	B2 n=30 (K=10, M=20)	B3 n=30 (K=14, M=16)	B4 n=30 (K=14, M=16)
G 0' & G 120'	0,0472	0,0023	0,0010	<0,0001
Ins 0' & Ins 120'	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
oxLDL 0' & oxLDL 120'	0,0132	0,0185	ns	0,0060
TBARS 0' & TBARS 120'	ns	0,0472	ns	0,0495
TAS 0' & TAS 120'	0,0460	0,0479	0,0007	0,0270

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

Tabela 20. Porównanie parametrów badanych w trakcie OGTT (0' i 120') w grupach H1-H4.

Para zmiennych	H1 n=30 (K=11, M=19)	H2 n=30 (K=8, M=22)	H3 n=30 (K=11, M=19)	H4 n=30 (K=16, M=14)
G 0' & G 120'	0,0125	0,0036	0,0039	< 0,0001
Ins 0' & Ins 120'	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
oxLDL 0' & oxLDL 120'	0,0166	ns	ns	< 0,0001
TBARS 0' & TBARS 120'	ns	0,0387	ns	ns
TAS 0' & TAS 120'	ns	0,0002	< 0,0001	ns

Objaśnienia: n – liczebność grupy; ns – nieistotne statystycznie; G 0' – glikemia w 0. minucie OGTT; G 120' – glikemia w 120. minucie OGTT; Ins 0' – insulinemia w 0. minucie OGTT; Ins 120' – insulinemia w 120. minucie OGTT; oxLDL 0' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 0. minucie OGTT; oxLDL 120' – oksydowane lipoproteiny o niskiej gęstości w 120. minucie OGTT; TBARS 0' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 0. minucie OGTT; TBARS 120' – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym w 120. minucie OGTT; TAS 0' – całkowity status antyoksydacyjny w 0. minucie OGTT; TAS 120' – całkowity status antyoksydacyjny w 120. minucie OGTT; OGTT – doustny test tolerancji glukozy.

4.5. Podsumowanie wyników

1. W zakresie oznaczanych parametrów stresu oksydacyjnego u osób z nadmierną masą ciała w warunkach podstawowych (rano, na czczo) w grupach kwartylowych BMI (B1-B4) zaobserwowano różnice jedynie w przypadku TBARS, gdzie stężenie było istotnie wyższe w grupie B4 w porównaniu z grupą B2. Podział populacji na podstawie kwartyli HOMA-IR (H1-H4) wykazał różnice w zakresie wszystkich ocenianych markerów. W kolejnych grupach obserwowano wzrost stężeń TBARS, oxLDL i TAS.
2. Podanie 75 g glukozy spowodowało zmiany TBARS, oxLDL i TAS we krwi w całej badanej populacji i w części grup badanych. W grupach B1-B4 nie zaobserwowano różnic w zakresie wskaźników: oxLDL-ROGTT, TBARS-ROGTT, TAS-ROGTT. W grupach H1-H4 wskaźnik oxLDL-ROGTT obniżał się od grupy H2 do H4, natomiast wskaźnik TAS-ROGTT zwiększał się w grupach od H1 do H3, po czym istotnie malał w grupie H4.
3. Wykazano liczne wzajemne korelacje między oznaczanymi markerami stresu oksydacyjnego w 0. i 120. minucie OGTT, w całej badanej populacji i we wszystkich podgrupach. Dodatnie korelacje między oxLDL 0' i oxLDL 120' a TBARS 0' i TBARS 120' zaobserwowano w grupie B4 i H4. Wykazano także bardzo wysokie dodatnie korelacje między TAS 0' i TAS 120' w grupach H1-H3 i dodatnią wysoką korelację w grupie H4, gdzie TAS 0' korelował również ujemnie ze wskaźnikiem TAS-ROGTT. Z kolei wskaźnik TAS-ROGTT korelował ujemnie ze wskaźnikiem TBARS-ROGTT wyłącznie w grupie H1.
4. Spośród czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych najczęściej z badanymi markerami oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein korelowały parametry profilu lipidowego, insulinemia w 0. i 120. minucie OGTT oraz wskaźnik HOMA-IR – zarówno w całej badanej populacji, jak i w poszczególnych podgrupach. W grupach B1-B4 wykazano korelacje zwłaszcza między oxLDL 0' i oxLDL 120' a cholesterolem frakcji nie-HDL i LDL. Korelacje parametrów stresu oksydacyjnego z insulinemią w trakcie OGTT i HOMA-IR były najsilniejsze w przypadku oxLDL 0', TBARS 0' i TBARS 120' w grupie B4. W grupach H1-H4 obserwowano podobne związki, przy czym oxLDL (0' i 120') korelowały także ze stężeniem cholesterolu całkowitego. Ponadto w grupie H2 stężenia TBARS 0' i TBARS 120' korelowały dodatnio z G120', a w grupie H3 – z G 0', przy czym siła korelacji była wyższa niż w całej populacji. Zaobserwowano bardzo wysokie dodatnie korelacje między TAS 0' i TAS 120' w grupach H1-H3 oraz dodatnią wysoką korelację w grupie H4, gdzie TAS 0' korelował również ujemnie ze wskaźnikiem TAS-ROGTT.

5. Dyskusja

Procesy oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein stanowią jeden z najwcześniejszych elementów niezwykle złożonego patomechanizmu chorób sercowo-naczyniowych. Szkodliwe działanie wolnych rodników zarówno na część lipidową, jak i białkową lipoprotein prowadzi do zmiany ich struktury i funkcji, przez co nie spełniają one swojej roli w metabolizmie lipidów. Są natomiast pobierane przez komórki posiadające receptor *scavenger*, co może doprowadzić do powstania blaszki miażdżycowej [79]. Wpływ czynników modyfikujących na równowagę oksydacyjną organizmu, takich jak otyłość, hiperglikemia, insulinooporność może mieć istotne znaczenie w rozwoju i progresji zaburzeń metabolicznych i jest wciąż aktualnym tematem badań naukowych.

Wskaźnik masy ciała BMI, opracowany w 1832 roku [80], jest uznanym, najpowszechniej stosowanym narzędziem służącym do kategoryzowania osób z nadmierną masą ciała. Nie uwzględnia on jednak zmienności międzyosobniczej w zawartości tkanki tłuszczowej, jej rozmieszczenia w organizmie czy struktury. Ogranicza to jego przydatność, np. u sportowców, gdzie osoby z dużą masą mięśniową mogą być klasyfikowane jako otyłe. Z drugiej strony, osoby z prawidłowym BMI mogą mieć wysoki odsetek tkanki tłuszczowej predysponujący do rozwoju zaburzeń metabolicznych [81,82]. Już wiele lat temu Gallagher i wsp. w swojej pracy wykazali, że BMI jest zależny od płci i wieku [83]. Kategorie BMI nie mogą być również stosowane dla wszystkich grup etnicznych jednakowo [84]. W związku z tym opracowywano inne miary otyłości, m.in. wskaźnik talia-biodra (ang. *waist-to-hip ratio*, WHR), wskaźnik talia-wzrost (ang. *waist-to-height ratio*, WHtR), czy zaproponowany w 2011 roku przez Bergman'a i wsp. wskaźnik otluszczenia ciała (ang. *body adiposity index*, BAI) i badano ich związek ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym w różnych populacjach [85,86].

W badaniach własnych podstawowym kryterium włączenia do grupy badanej była nadmierna masa ciała. Zdecydowano o kwalifikacji pacjentów na podstawie BMI, jako najpowszechniejszego, tradycyjnego wskaźnika, mając świadomość jego ograniczeń. Badaniem objęto 120 osób obojga płci z nadmierną masą ciała, zarówno z nadwagą, jak i otyłością (BMI od 25,18 do 49,40 kg/m²). Warunkiem włączenia do grupy badanej był również brak rozpoznanej cukrzycy oraz stężenie glukozy w osoczu na czczo < 7,0 mmol/l i brak innych przeciwwskazań do wykonania OGTT. W celu ograniczenia innych niż glikemia czynników mogących modyfikować stan równowagi oksydacyjnej organizmu, do badanych grup kwalifikowano osoby bez chorób ostrych i przewlekłych, ze szczególnym uwzględnieniem zawału mięśnia sercowego, udaru mózgu, chorób układu oddechowego, chorób nerek i wątroby, chorób autoimmunologicznych, chorób endokrynologicznych, chorób nowotworowych i chorób układu krwiotwórczego.

Ponadto kryterium stanowiło także stężenie CRP < 10 mg/l, gdyż wartość wyższa uznawana jest za wykładnik stanu zapalnego [76].

Oporność na insulinę jest bardzo istotnym patofizjologicznym czynnikiem rozwoju i progresji cukrzycy typu 2, stąd wczesne jej wykrycie może być kluczowe w prewencji tej choroby [87]. Spośród dostępnych metod oceny insulinooporności, najczęściej wykorzystywany jest wskaźnik HOMA-IR, gdyż wymaga oznaczenia jedynie stężenia glukozy i insuliny na czczo. Jednakże jego przydatność w praktyce klinicznej jest ograniczona ze względu na brak precyzyjnie określonych wartości odcięcia pozwalających na rozpoznanie insulinooporności. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne nie uwzględnia w aktualnych zaleceniach wskaźnika HOMA-IR, ani nie podaje wartości odcięcia w populacji Polski [75]. W literaturze można natomiast znaleźć wiele przykładów badań, w których autorzy z całego świata podejmują próbę określenia wartości odcinającej HOMA-IR podając wartości od 1,56 do 3,8 [17,87]. Najbliższe naszej populacji wydają się opublikowane w ubiegłym roku wyniki badań, w których badacze podjęli próbę wyznaczenia punktu odcięcia HOMA-IR w populacji Czech, analizując dane uzyskane od 3539 otyłych osób w średnim wieku. Autorzy wyróżnili trzy grupy badane: pacjentów z normoglikemią, w stanie przedcukrzycowym i z cukrzycą typu 2. Wartość HOMA-IR różnicującą dwie pierwsze grupy określili oni na poziomie 1,82, przy czym czułość diagnostyczna wynosiła 60%, a swoistość 66%. Z kolei wartość różnicująca osoby bez cukrzycy i z cukrzycą to 3,63, przy czułości i swoistości diagnostycznej odpowiednio 56% i 86% [88]. Naukowcy zajmują się również oceną użyteczności HOMA-IR w innych jednostkach chorobowych. Wykazano na przykład, że wskaźnik ten może być niezależnym czynnikiem predykcyjnym zaawansowanego zwłóknienia wątroby u pacjentów z niealkoholowym stłuszczeniem wątroby (ang. *non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD) bez cukrzycy [89].

W toku analizy korelacji między badanymi markerami stresu oksydacyjnego a parametrami kliniczno-laboratoryjnymi, w populacji badanej z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT, zaobserwowano powtarzające się korelacje z insulinemią w 0. i 120. minucie OGTT oraz wskaźnikiem HOMA-IR, co z kolei było inspiracją do przeprowadzenia analizy dodatkowo w grupach wyróżnionych na podstawie kwartyli HOMA-IR, a nie, jak początkowo założono, wyłącznie w grupach kwartylowych BMI. W grupach B1-B4 również zaobserwowano częste dodatnie korelacje markerów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein z insulinemią w trakcie OGTT i wskaźnikiem HOMA-IR. Wyniki tych analiz sugerują, że wskaźnik HOMA-IR może być użyteczny w kategoryzowaniu osób z nadmierną masą ciała w kontekście ryzyka sercowo-naczyniowego.

Stres oksydacyjny jest przedmiotem badań naukowych w różnych dziedzinach medycyny. Oprócz chorób metabolicznych wykazano związek między zaburzeniem równowagi oksydacyjnej organizmu a chorobami płuc, chorobami układu nerwowego, chorobami nowotworowymi [90]. W warunkach laboratoryjnych bezpośredni pomiar reaktywnych form tlenu, zwłaszcza rodnika hydroksylowego, jest bardzo trudny ze względu na ich niestabilność. Możliwe jest jednak oznaczanie różnych produktów reakcji peroksydacji lipidów, białek czy kwasów nukleinowych. Odzwierciedleniem działania RFT na cząstki lipidowe może być, oznaczane metodą kolorymetryczną, stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym TBARS [60]. Z kolei stężenie oksydowanych lipoprotein LDL w surowicy lub osoczu można oznaczyć metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko zmodyfikowanej oksydacyjnie apoproteinie B [91]. Można przypuszczać, że część lipidowa i białkowa LDL ulegają w podobnym stopniu modyfikacji oksydacyjnej. Potwierdzają to zaobserwowane wzajemne korelacje między stężeniem oxLDL 0' i TBARS 0' w całej badanej populacji, a także, silniejsze w grupie osób z najwyższymi wartościami BMI i HOMA-IR, tj. B4 i H4. Inni autorzy w swoich pracach także zwracali uwagę na nadmierną masę ciała i wykładniki insulinooporności w ocenie markerów stresu oksydacyjnego. Couillard i wsp. wykazali korelację między stężeniem oxLDL a BMI i ilością trzewnej tkanki tłuszczowej u mężczyzn [92]. Fayez i wsp. również u otyłych mężczyzn zaobserwowali istotnie wyższe stężenia produktów peroksydacji lipidów we krwi, dodatkowo skorelowane z HOMA-IR [93]. Dodatkowo, dla oceny osoczowego zasobu zewnątrzkomórkowego antyoksydantów, możliwe jest oznaczenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS). Reprezentuje on zdolność do unieczynniania wolnych rodników przez wszystkie przeciwutleniacze znajdujące się w osoczu [32].

W celu oceny wpływu wzrostu glikemii na zmiany markerów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein i TAS osocza wykorzystano doustny test tolerancji glukozy, gdzie jako bodziec zastosowano 75 g glukozy. Parametry stresu oksydacyjnego, tj. stężenie oxLDL, TBARS i TAS oznaczano u osób badanych na czczo oraz po 120. minutach od podania 75 g glukozy w OGTT.

Analizę statystyczną przeprowadzono również w grupach wyróżnionych na podstawie wyniku OGTT. Ze względu na zbyt małą liczbę pacjentów, która pozwoliłaby na utworzenie reprezentatywnych grup osób z IGT i IFG, utworzono jedną grupę PRE obejmującą wszystkie osoby z dysglikemią. Nie stwierdzono różnic między grupami w zakresie badanych parametrów stresu oksydacyjnego, natomiast inni badacze obserwowali zwiększenie stężeń markerów stresu oksydacyjnego u pacjentów z dysglikemią [94-96]. Analiza uzyskanych wyników wykazała natomiast, że w całej badanej populacji bodziec 75 g glukozy powoduje zmiany wszystkich ocenianych parametrów stresu oksydacyjnego. Stężenie oxLDL zarówno w całej populacji,

jak i w poszczególnych grupach badanych w 120. minucie OGTT było niższe niż na czczo. Natomiast stężenia TBARS i TAS osocza w odpowiedzi na bodziec 75g glukozy uległy zwiększeniu, co sugeruje nasilenie procesów oksydacji lipidów pod wpływem glukozy i jednocześnie uruchomienie mechanizmów antyoksydacyjnych. Niektórzy badacze, oceniając zmiany stężenia oxLDL i innych markerów stresu oksydacyjnego, uzyskiwali odmienne wyniki.

Yildirim i wsp. badali zmiany całkowitego statusu oksydacyjnego (ang. *total oxidant status*, TOS), całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS), aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i stężenia wodoronadtlenków lipidów (LOOH) w próbkach pobranych w 0., 60. i 120. minucie OGTT u pacjentów z prawidłowym i zaburzonym metabolizmem glukozy. Autorzy nie podali informacji o BMI osób badanych. Wyniki badań wykazały wzrost TOS i LOOH po podaniu 75 g glukozy w OGTT, przy czym po 60 minutach stężenia oznaczanych parametrów były istotnie wyższe niż po 120. minutach. Z kolei TAS i aktywność SOD obniżyły się po podaniu 75 g glukozy osiągając najniższe wartości po 60. minutach [97].

Montes-Nieto i wsp. u 38 osób (17 kobiet i 19 mężczyzn, z czego 8 kobiet i 9 mężczyzn miało otyłość) oceniali stężenie TBARS na czczo oraz po podaniu doustnym: glukozy (po 1. i 2. godzinach), białek/protein (po 1. i 2. godzinach) i tłuszczów (po 2. i 4. godzinach) w ilościach odpowiadających wartości 300 kcal, w przypadku glukozy było to 75 g. Autorzy zaobserwowali wyższe stężenia TBARS na czczo u otyłych mężczyzn oraz istotne zwiększenie stężenia tego parametru tylko po spożyciu glukozy, ale nie tłuszczów i białek. Przy czym, podobnie jak w badaniach Yildirim i wsp., stężenie TBARS po 60. minutach od spożycia 75 g glukozy było wyższe niż po 120. minutach [98]. Można zatem przypuszczać, że to wydzielanie insuliny w mechanizmie regulacyjnym, po spożyciu glukozy, jest czynnikiem nasilającym stres oksydacyjny. W badaniach własnych, w kolejnych grupach od H1 do H4, w których z definicji stężenie insuliny wzrastało, również zaobserwowano zwiększające się stężenia TBARS 0' i TBARS 120'. W całej badanej populacji znaleziono dodatnie, wysokie korelacje między TBARS 0' a Ins 0' i HOMA-IR oraz dodatnie, przeciętne między TBARS 120' a Ins 0' i HOMA-IR, które potwierdzono w grupie H1 i H4. Ponadto Ins 120' korelowała, niezależnie od innych czynników, z TBARS 120' w grupie H4.

Serin i wsp. badali wpływ 75 g glukozy w trakcie OGTT na m.in. stężenie oksydowanych LDL i stężenie TBARS u osób z prawidłową tolerancją glukozy, nieprawidłową tolerancją glukozy i z cukrzycą. Średnia wartość wskaźnika BMI $\pm$ odchylenie standardowe (SD) w kolejnych grupach badanych wynosiła: $27,8 \pm 5,3$, $27,1 \pm 5,5$ i $28,1 \pm 5,4$. U osób z nieprawidłową tolerancją glukozy i z cukrzycą autorzy zaobserwowali wyższe stężenia oxLDL i TBARS po 120. minutach w trakcie OGTT w porównaniu ze stężeniami tych parametrów na czczo [99]. Autorzy nie podali pełnych

zakresów BMI w grupach badanych (min-max), posługiwali się tylko wartościami średnimi $\pm$ SD, co utrudnia pełne porównanie ich wyników z wynikami niniejszej pracy. Powyższe wyniki potwierdzają, że stan poposiłkowy, odpowiadający w modelu badawczym 75 g glukozy, ma bezpośredni wpływ na stan oksydacyjny osocza.

Zainteresowanie badaczy budzi również wpływ zwiększonego stężenia triglicerydów na skutek spożycia posiłku bogatotłuszczowego na parametry stresu oksydacyjnego. Tinahones i wsp. przeprowadzili taką analizę w populacji osób skrajnie otyłych, z BMI w zakresie od 43,3 do 74 kg/m², podzielonych na dwie grupy na podstawie HOMA-IR, gdzie jako wartość odcinającą przyjęto 50 percentyl tego wskaźnika. Autorzy oceniali we krwi osób badanych całkowity status antyoksydacyjny, aktywności enzymów antyoksydacyjnych, m.in.: dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy glutationowej oraz stężenie TBARS na czczo i 3 godziny po podaniu preparatu zawierającego 60 g tłuszczów. Badacze zaobserwowali, że spożycie posiłku bogatotłuszczowego spowodowało obniżenie aktywności SOD i zwiększenie stężenia TBARS w każdej z grup, a u pacjentów z nasiloną insulinoopornością doszło również do istotnego zmniejszenia całkowitego statusu antyoksydacyjnego. Autorzy potwierdzają w ten sposób wpływ hipertriglicydemii poposiłkowej na zaburzenia równowagi oksydacyjnej, zwłaszcza u osób z bardziej nasiloną insulinoopornością [100].

Giuseppe i wsp. zaobserwowali zwiększone stężenia oxLDL w surowicy na czczo u osób z nadwagą i otyłością w porównaniu z osobami z prawidłowym BMI. Badacze podjęli się oznaczenia tego markera również w ślinie pacjentów i wykazali, że stężenia korelują ze sobą, sugerując możliwość wykorzystania oznaczania oxLDL w ślinie, jako nieinwazyjnego badania pomocnego w monitorowaniu ryzyka sercowo-naczyniowego u osób z nadmierną masą ciała [101].

Powyższe wyniki badań pozwalają zauważyć, że procesy peroksydacji lipidów *in vivo* ulegają nasileniu u osób z chorobami metabolicznymi, jak cukrzyca i otyłość. Regnstrom i wsp. oraz Babiy i wsp. wykazali, że lipoproteiny frakcji LDL wyizolowane z osocza osób po przebytym zawale serca oraz z cukrzycą były bardziej podatne na utlenianie *in vitro* niż LDL wyizolowane z osocza osób zdrowych [102,103]. Podobne obserwacje poczynili Myara i wsp., którzy oceniali podatność LDL na utlenianie oraz stężenie witaminy E w osoczu u osób z otyłością, bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej i bez nadciśnienia tętniczego. Autorzy stwierdzili, że wzrost BMI wiąże się z niższym stężeniem witaminy E, co przekłada się na osłabienie zdolności antyoksydacyjnej osocza oraz zwiększoną podatnością LDL na utlenianie [104]. Przytoczne wyniki badań świadczą o istotnym znaczeniu czynników modyfikujących w procesach utleniania lipidów, ale również białek i kwasów nukleinowych, narażonych w podobnym stopniu na modyfikacje oksydacyjne.

Kopprasch i wsp. także wykazali zwiększone stężenia oxLDL u osób z nieprawidłową tolerancją glukozy. Zaobserwowali oni ponadto ścisłą zależność między stężeniem oxLDL a stężeniem cholesterolu frakcji LDL i stężeniem TG [94]. Wyniki niniejszej pracy również prezentują związek między stężeniem oxLDL a parametrami profilu lipidowego. Analizowane grupy, wyróżnione zarówno ze względu na płeć, jak i wynik OGTT, prezentowały w pewnym stopniu podobieństwo metaboliczne w zakresie parametrów profilu lipidowego. Kobiety i mężczyźni różnili się jednak stężeniem cholesterolu frakcji HDL, co wynika z fizjologicznych różnic między płciami. Zaobserwowano też wyższe stężenia TG u mężczyzn. Grupy B1-B4 nie różniły się między sobą w zakresie parametrów gospodarki lipidowej poza stężeniem cholesterolu frakcji HDL, które zmniejszało się w kolejnych grupach. Podobnie grupy H1-H4 nie różniły się stężeniem T-C, LDL-C, nHDL-C, natomiast stężenie HDL-C zmniejszało się w kolejnych grupach, a dodatkowo w grupach H3 i H4 stężenie TG było wyższe niż w grupie H1. Zaobserwowano korelacje między stężeniem oxLDL w 0. i 120. minucie OGTT a parametrami profilu lipidowego w całej badanej populacji oraz w poszczególnych grupach badanych, najczęściej ujemne z HDL-C i dodatnie z T-C, LDL-C i nHDL-C i TG. Nie zaobserwowano natomiast, aby którykolwiek z parametrów profilu lipidowego korelował niezależnie od innych czynników z oznaczanymi parametrami stresu oksydacyjnego w 0. lub 120. minucie OGTT.

W toku analiz statystycznych wykazano, że stężenie CRP korelowało dodatnio, niezależnie od innych czynników, ze stężeniem oxLDL 0' w grupie B2 i B3 i ze stężeniem oxLDL 120' w grupie B2. Podobny związek zaobserwowano w grupie H4, gdzie stężenie CRP korelowało niezależnie od innych czynników ze stężeniem oxLDL zarówno w 0., jak i w 120. minucie OGTT. Wiadomym jest, że zaburzenia metaboliczne, insulinooporność, otyłość oraz stres oksydacyjny wiążą się z przewlekłą reakcją zapalną o niskiej aktywności [5]. Badaniem tych zależności zajęli się m. in. Hulthe i Björn, którzy oceniali związek między stężeniem oxLDL, markerami stanu zapalnego i nasileniem zmian miażdżycowych w tętnicach. Autorzy zaobserwowali korelacje między badanymi parametrami, przy czym związek między oxLDL a występowaniem blaszki miażdżycowej był niezależny od innych czynników. W ich badaniach stężenie oxLDL dodatnio korelowało również ze stężeniem CRP i TNF- α , natomiast nie korelowało z interleukiną 6 (IL-6). Według badaczy wyniki te sugerują, że wysokie stężenia oxLDL mogą oddziaływać z odpowiedzią zapalną organizmu [105].

Analiza statystyczna grup badanych B1-B4 w obrębie ocenianych parametrów stresu oksydacyjnego wykazała różnice jedynie w przypadku stężenia TBARS. W grupie B4 w porównaniu z grupą B2, zaobserwowano wyższe stężenie TBARS 0' i TBARS 120'. Natomiast

grupy wyodrębnione ze względu na HOMA-IR prezentowały różnice w przypadku każdego z ocenianych wskaźników.

W kolejnych grupach, od H1 do H4, zaobserwowano wzrastające stężenia oxLDL zarówno na czczo, jak i w 120. minucie OGTT. Natomiast wskaźnik oxLDL-ROGTT zmniejszał się od grupy H2 do H4, co świadczy o obniżaniu się stężenia oxLDL w 120. minucie OGTT w porównaniu do wartości na czczo. Nasuwa to przypuszczenie o zwiększeniu pobierania tych lipoprotein przez komórki posiadające receptor *scavenger* lub zwiększonej migracji do ścian naczyń krwionośnych. Przeprowadzone analizy są jednak niewystarczające, aby stwierdzić jednoznacznie jaka jest przyczyna zmniejszania się stężenia oxLDL we krwi pod wpływem zastosowanego bodźca glukozy. Z pewnością nie bez znaczenia jest stopień insulinooporności prezentowany przez grupę H4, w której stężenie oxLDL było najwyższe, a wskaźnik oxLDL-ROGTT był najniższy w porównaniu z pozostałymi grupami.

Podobnie jak stężenie oxLDL, stężenie TBARS w 0 i 120. minucie OGTT zwiększało się w kolejnych grupach, ze znacznym wzrostem w grupie H4, jednak w tym przypadku nie zaobserwowano zmian wskaźnika TBARS-ROGTT. Można na tej podstawie stwierdzić, że nasilenie insulinooporności u osób z nadmierną masą ciała może być czynnikiem predysponującym do wzmożonej oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein. Z kolei TAS osocza w trakcie OGTT wzrastało w kolejnych grupach. Wskaźnik TAS-ROGTT także zwiększał się, jednak tylko w grupach H1-H3, ulegając znacznemu obniżeniu w grupie H4, co może świadczyć o załamaniu się odpowiedzi antyoksydacyjnej w nasilonej insulinooporności.

W literaturze dostępnych jest wiele prac prezentujących wyniki badań dotyczących analiz markerów stresu oksydacyjnego w warunkach podstawowych (rano, na czczo) w różnych jednostkach chorobowych, ze szczególnym uwzględnieniem zaburzeń metabolicznych. W przypadku badań u osób z nadmierną masą ciała wiele z nich przemawia za nasileniem stresu oksydacyjnego i jednoczesnym zmniejszeniem obrony antyoksydacyjnej organizmu [106]. Są również takie, które nie wskazują jednoznacznie na zaburzenie w układzie antyoksydantów.

Badania dotyczące parametrów stresu oksydacyjnego, w tym oznaczenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego u otyłych kobiet w podeszłym wieku przeprowadzili Karolkiewicz i wsp. Spośród parametrów obrony antyoksydacyjnej, oprócz TAS osocza, oznaczali oni również stężenie zredukowanego glutationu i aktywność peroksydazy glutationowej. Ponadto zakres oznaczeń obejmował m.in. stężenie TBARS i HOMA-IR. W badaniu wyróżniono 3 grupy kobiet: z prawidłową masą ciała (n=10), z nadwagą (n=14) i otyłością (n=10). Wykazano spodziewane znamienne wyższe wartości HOMA-IR u kobiet otyłych w porównaniu z pozostałymi grupami. W przypadku zarówno TAS osocza, jak i aktywności peroksydazy glutationowej autorzy

zaobserwowali wzrost wartości wraz ze wzrostem BMI, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Stwierdzili oni na tej podstawie, że otyłość nie nasilała osłabienia obrony antyoksydacyjnej organizmu w badanej przez nich populacji. Autorzy nie stwierdzili także różnic w stężeniu TBARS [107]. Natomiast Olusi wykazał znaczący wzrost produktów peroksydacji lipidów (MDA) dopiero u osób skrajnie otyłych, z BMI > 40 kg/m². Zaobserwował jednocześnie istotnie wyższe wartości markerów obrony antyoksydacyjnej, tj. cytoplazmatycznej dysmutazy ponadtlenkowej (Cu,Zn-SOD) i peroksydazy glutationowej u osób z prawidłowym BMI [108]. Karolkiewicz i wsp., podobnie jak Serin i wsp., przedstawili wyniki wyłącznie jako średnie ± SD masy ciała i wzrostu osób badanych, bez określenia zakresów min-max BMI w poszczególnych grupach. Obserwacje poczynione przez Olusi'ego wydają się nieco bliższe wynikom prezentowanym w niniejszej pracy. W grupie B4 obejmującej zakres BMI od 36,11-49,40 kg/m², 12 osób miało BMI > 40 kg/m², natomiast w grupie H4 – 10 osób. W tych grupach zaobserwowano najwyższe stężenia TBARS w porównaniu z pozostałymi zarówno na czczo, jaki i w 120. minucie OGTT.

W populacji badanej stwierdzono słabą, dodatnią korelację między TAS 0' a stężeniem TBARS 120', potwierdzoną w grupie mężczyzn, oraz między TAS 0' a TBARS 0' i TBARS 120' u osób z normoglikemią. Natomiast wskaźnik TAS-RO_{OGTT} korelował ujemnie z TBARS w 120. minucie OGTT w całej badanej populacji. Zaobserwowane korelacje sugerują, że wzrost stężenia produktów peroksydacji lipidów w osoczu, zwłaszcza w 120. minucie OGTT może być sygnałem mobilizującym mechanizmy antyoksydacyjne osocza w kolejnych kilkunastu godzinach, przekładając się na wzrost TAS rano, na czczo. Zależność ta może charakteryzować osoby z prawidłową tolerancją glukozy, zwłaszcza mężczyzn. Wzrost TBARS w 120. minucie testu może jednocześnie przyczyniać się do obniżenia TAS-RO_{OGTT}, czyli wyczerpywania potencjału antyoksydacyjnego, w ciągu dwóch godzin OGTT. Znaczna większość badaczy obserwuje osłabienie układu antyoksydacyjnego u osób ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Jednymi z nielicznych, którzy podobnie, jak w prezentowanych badaniach, wykazali mobilizację antyoksydantów osocza, byli Jung-Hee i wsp. Oceniali oni TAS osocza, a także składowe obrony antyoksydacyjnej, tj. stężenie kwasu moczowego, α-tokoferolu, β-karotenu i kwasu askorbinowego oraz stężenie TBARS u osób starszych z nadciśnieniem tętniczym i w grupie kontrolnej, tj. u osób w podobnym wieku, ale bez nadciśnienia. Grupa badana charakteryzowała się istotnie wyższymi wartościami wskaźników otyłości, m. in. BMI, WHR i odsetkiem tkanki tłuszczowej. Badacze zaobserwowali, że wyższe stężenia kwasu moczowego w grupie badanej było silnie skorelowane z, również wyższymi, wartościami TAS osocza u osób z nadmierną masą ciała i nadciśnieniem tętniczym. W przypadku pozostałych składowych nie wykazano takich korelacji, co świadczy

o istotnym udziale kwasu moczowego w obronie antyoksydacyjnej organizmu. Zarówno TAS, jak i stężenie kwasu moczowego korelowało z BMI. Autorzy nie zaobserwowali natomiast różnic w stężeniu TBARS między grupami, co pozwala przypuszczać, że zwiększenie TAS osocza może zapobiegać przyrostowi TBARS. Badaniem nie objęto osób z nasiloną otyłością, co byłoby cenne w kontekście wyników uzyskanych przez innych badaczy, którzy stwierdzili załamywanie się potencjału antyoksydacyjnego u osób z bardzo dużym ryzykiem sercowo-naczyniowym [109].

W grupach H1, H2 i H3 związek TAS 0' z TAS 120' jest wyrażony przez bardzo wysoką korelację dodatnią. W grupie H4 siła związku jest nieco słabsza (korelacja wysoka), ale dodatkowo obecna jest odwrotna korelacja ze wskaźnikiem TAS-ROGTT, co może być dowodem na załamywanie się mobilizacji TAS osocza w tej grupie. Ponadto wskaźnik TAS-ROGTT tylko w grupie H1 koreluje ujemnie z TBARS-ROGTT, co pozwala przypuszczać, że tylko w słabo nasilonej insulinooporności przyrost TAS w trakcie OGTT może zabezpieczać przed wzrostem TBARS (do wartości górnej granicy w grupie H1, tj. HOMA-IR = 3,0).

W literaturze trudno o wyniki badań, w których autorzy oceniali parametry równowagi oksydacyjnej w podobnym jak w niniejszej pracy modelu badawczym. Wielu naukowców przy zastosowaniu innych biochemicznych wykładników stresu oksydacyjnego niż oxLDL, TBARS i TAS, potwierdza zwiększony udział wolnych rodników oraz osłabienie układu antyoksydacyjnego u osób z nadmierną masą ciała [110-115]. Przytoczone w dyskusji wyniki badań innych autorów dowodzą ponadto dużego zainteresowania i doceniania znaczenia oksydowanych LDL jako markera peroksydacji lipidów, zwłaszcza w chorobach cechujących się zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Z uwagi na obecność wielu czynników modyfikujących, wpływających na równowagę oksydacyjną, gospodarkę lipidową i węglowodanową organizmu, na obecnym etapie wiedzy nie sposób jednoznacznie i całościowo określić ich dokładnego udziału w rozwoju chorób metabolicznych.

Zaprezentowane wyniki stanowią ocenę jedynie fragmentu patomechanizmu omawianych zaburzeń, jednak świadomość, że inni badacze również podejmują się wnikliwego badania poszczególnych jego elementów, pozwala mieć nadzieję, że ostatecznie uda się stworzyć szczegółowy scenariusz przemian metabolicznych uwzględniający wszystkie badane czynniki, również oksydowane LDL, a wiedza ta umożliwi podejmowanie przez klinicystów działań, których efektem będzie skuteczne obniżenie ryzyka sercowo-naczyniowego u osób z nadmierną masą ciała.

6. Wnioski:

1. U osób z nadmierną masą ciała, w warunkach podstawowych (rano, na czczo), nasilenie insulinooporności może predysponować do wzmożonej oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein przy równoczesnej mobilizacji antyoksydacyjnej osocza.
2. Podanie doustne 75 g glukozy powoduje zmiany parametrów stresu oksydacyjnego we krwi.
3. Obniżone stężenie oxLDL w 120. minucie OGTT, w stosunku do wartości w 0. minucie, sugeruje zwiększone pobieranie zmodyfikowanej lipoproteiny przez komórki posiadające receptor scavenger lub zwiększoną migrację do ścian naczyń krwionośnych.
4. Po podaniu 75 g glukozy, mobilizacja antyoksydacyjna osocza, przeciwdziałająca wzrostowi produktów peroksydacji lipidów, może być ograniczona stopniem nasilenia insulinooporności.
5. Proces peroksydacji lipidów może być wzmagany przez różne czynniki, obejmujące: podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i nie-HDL, obniżone stężenie cholesterolu frakcji HDL w osoczu, na czczo oraz zwiększenie glikemii w 120. minucie OGTT.

1. Streszczenie

Otyłość, definiowana obecnie jako choroba, wiąże się z wieloma zaburzeniami metabolicznymi, takimi jak insulinooporność, cukrzyca typu 2, miażdżycy, dyslipidemia czy nadciśnienie tętnicze, prowadzącymi bezpośrednio do zwiększenia ryzyka sercowo-naczyniowego. Stres oksydacyjny jest uznawany za element łączący te zaburzenia.

Celem pracy jest analiza markerów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein wraz z potencjalnymi czynnikami modyfikującymi u pacjentów z nadmierną masą ciała, w szczególności ocena: dynamiki zmian tych parametrów pod wpływem zastosowanego doustnie bodźca – 75 g glukozy, współzależności między nimi oraz wpływu czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych na badane parametry. Wybranymi markerami stresu oksydacyjnego we krwi były: zmodyfikowane oksydacyjnie LDL (oxLDL), substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) i całkowity status antyoksydacyjny (TAS).

Projekt badawczy uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 502/16 oraz uchwała nr 587/18 jako wyodrębnienie tematu pracy doktorskiej).

Grupę badaną stanowili pacjenci poradni i oddziałów Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w trakcie postępowania diagnostycznego. Do badań rekrutowano osoby obojga płci z nadmierną masą ciała ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$). Pozostałe kryteria włączenia do grupy badanej stanowiły: brak dotychczasowego rozpoznania cukrzycy i aktualna glikemia na czczo $< 7,0 \text{ mmol/l}$, brak przeciwwskazań do przeprowadzenia doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT), stężenie białka C-reaktywnego $< 10 \text{ mg/l}$ oraz brak patologicznych wyników rutynowych badań laboratoryjnych. Ostatecznie do badania zakwalifikowano 120 osób, w tym 46 kobiet i 74 mężczyzn w wieku od 26 do 75 lat.

Materiał badany stanowiła surowica i osocze heparynowe uzyskane z krwi pacjentów pobranej w trakcie OGTT. Po uprzednim przeprowadzeniu badania podmiotowego i przedmiotowego, u każdej z zakwalifikowanych osób przeprowadzono doustny test tolerancji glukozy (według aktualnych zaleceń PTD i ADA). Stężenie glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, cholesterolu frakcji LDL i triglicerydów na czczo oznaczono w świeżych próbkach krwi, przy użyciu automatycznego analizatora biochemicznego. Pozostałe oznaczenia wykonano w próbkach przechowywanych w temp. -80°C . Stężenie insuliny w osoczu i stężenie oxLDL w trakcie OGTT, tj. na czczo ($0'$) oraz po 120. minutach ($120'$), oznaczono metodą immunoenzymatyczną (ELISA) przy użyciu czytnika mikropłytek. Do oceny stopnia insulinooporności wykorzystano wskaźnik HOMA-IR. Stężenia TBARS i TAS w trakcie OGTT,

na czczo oraz po 120. minutach, oznaczono metodą spektrofotometryczną. W celu oceny dynamiki zmian oznaczanych parametrów pod wpływem 75 g glukozy zastosowano wskaźnik $RO_{GTT} = [120']/[0']$, odpowiednio: oxLDL- RO_{GTT} , TBARS- RO_{GTT} , TAS- RO_{GTT} . Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 13.3 (StatSoft Inc., USA) w całej badanej populacji oraz w wyróżnionych podgrupach. Zbadano, czy istnieją różnice między grupami z uwzględnieniem płci oraz wyniku OGTT. Między grupami kobiet i mężczyzn stwierdzono jedynie różnice wynikające z fizjologicznej odmienności między płciami, a w zakresie ocenianych parametrów stresu oksydacyjnego grupy różniły się stężeniem TBARS w 120. minucie OGTT. Nie stwierdzono różnic w zakresie badanych parametrów stresu oksydacyjnego między grupą normoglikemiczną i dysglikemiczną.

W toku analizy korelacji między badanymi markerami stresu oksydacyjnego a parametrami kliniczno-laboratoryjnymi w populacji badanej z uwzględnieniem płci i wyniku OGTT zaobserwowano powtarzające się korelacje z insulinemią w 0. i 120. minucie OGTT i wskaźnikiem HOMA-IR. Wyróżniono grupy badane B1-B4 na podstawie kwartyli BMI, oraz H1-H4 na podstawie kwartyli HOMA-IR. W grupach B1-B4 również zaobserwowano częste dodatnie korelacje markerów oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein z insulinemią w trakcie OGTT i wskaźnikiem HOMA-IR. Wyniki tych analiz wskazują, że wskaźnik HOMA-IR może być użyteczny w kategoryzowaniu osób z nadmierną masą ciała w kontekście ryzyka sercowo-naczyniowego.

Analiza uzyskanych wyników wykazała, że w całej populacji badanej bodziec 75 g glukozy powoduje zmiany wszystkich ocenianych parametrów stresu oksydacyjnego, co potwierdza, że stan poposiłkowy wpływa na równowagę oksydacyjną organizmu. Stężenie TBARS i TAS osocza w odpowiedzi na bodziec 75g glukozy uległy zwiększeniu, co sugeruje, że nasilenie procesów oksydacji lipidów pod wpływem glukozy wiąże się z jednoczesnym uruchomieniem mechanizmów antyoksydacyjnych. W kolejnych grupach, od H1 do H4, zaobserwowano wzrastające stężenia oxLDL zarówno na czczo, jak i w 120. minucie OGTT, co wskazuje, że nasilenie insulinooporności u osób z nadmierną masą ciała może predysponować do wzmożonej oksydacyjnej modyfikacji lipoprotein. Natomiast wskaźnik oxLDL- RO_{GTT} zmniejszał się od grupy H2 do H4, co świadczy o obniżaniu się stężenia oxLDL w 120. minucie OGTT w odniesieniu do wartości na czczo. Nasuwa to przypuszczenie o zwiększonym pobieraniu tych lipoprotein przez komórki posiadające receptor zmiatający *scavenger* lub zwiększonej migracji do ścian naczyń krwionośnych. Analiza korelacji między TAS osocza i stężeniem TBARS w grupach H1-H4 pozwala przypuszczać, że ewentualna mobilizacja antyoksydacyjna osocza, przeciwdziałająca wzrostowi produktów peroksydacji lipidów, może być ograniczona stopniem nasilenia insulinooporności.

2. Summary

Obesity, currently defined as a disease, is associated with a number of metabolic disorders, such as insulin resistance (IR), type 2 diabetes, atherosclerosis, dyslipidemia and hypertension, leading directly to increased cardiovascular risk. Oxidative stress is recognized as the link between these disorders.

The aim of this study is the analysis of the plasma markers reflecting oxidative modification of lipoproteins with potential modifying factors in patients with excess body mass, in particular the assessment of: the dynamics of changes in these parameters under the influence of the 75 g of oral glucose, the correlations between them and the impact of cardiovascular risk factors on examined parameters. The selected markers of oxidative stress in the blood were: oxidized LDL, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and total antioxidant status (TAS).

The research project was approved by the Bioethics Committee of the Poznan University of Medical Sciences (resolution No. 502/16 and resolution No. 587/18 as a separate topic for the PhD thesis).

The study group included patients of clinics and departments of University Hospital of Lord's Transfiguration of Poznan University of Medical Sciences during diagnostic procedure. Individuals of both genders with excess body mass ($BMI > 25 \text{ kg/m}^2$) were recruited for the study. The other criteria were: no previous diagnosis of diabetes and current fasting glucose $< 7.0 \text{ mmol/l}$, no contraindications to the oral glucose tolerance test (OGTT), C-reactive protein concentration $< 10 \text{ mg/l}$ and no pathological results of other routine laboratory tests. Finally, 120 individuals were qualified for the study, including 46 women and 74 men aged 26 to 75 years.

The test material was serum and heparin plasma obtained from patients' blood collected during the OGTT. After a medical history and physical examination, OGTT was performed in each of the qualified persons (according to current recommendations of Polish Diabetes Association and American Diabetes Association). The concentrations of glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and triglycerides were measured in fresh blood samples, on the automatic biochemistry analyzer. The remaining assays were made on samples stored at -80°C . The concentrations of plasma insulin and oxLDL were measured fasting and at 120. minute of OGTT by enzyme-linked immunosorbent assay, using the microplate reader. The homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was used to assess the degree of insulin resistance. The concentrations of TBARS and TAS during the OGTT were determined by the spectrophotometric method. In order to assess the changes of the determined parameters under the influence of 75 g glucose, the index $RO_{GTT} = [120']/[0']$ was used, respectively: oxLDL- RO_{GTT} ,

TBARS- R_{OGTT} , TAS- R_{OGTT} . The statistical analysis of the obtained results was performed using the Statistica 13.3 software (StatSoft Inc., USA) in the entire study population and in the selected subgroups. The differences between groups were examined in terms of gender and OGTT results. Only differences resulting from the physiological gender otherness were found between the groups of women and men, and in terms of the assessed parameters of oxidative stress, the group differed in the concentration of TBARS at 120. min of OGTT. There were no differences in the investigated parameters of oxidative stress between the normoglycemic and dysglycemic groups.

During the analysis of the correlation between the investigated markers of oxidative stress and the clinical and laboratory parameters in the study population, taking into account gender and the OGTT result, repeated correlations with insulinemia at 0. and 120. min of OGTT and the HOMA-IR were observed. Study B1-B4 groups were distinguished on the basis of BMI quartiles, and H1-H4 groups based on HOMA-IR quartiles. In B1-B4 groups many positive correlations of markers of oxidative modification of lipoproteins with insulinemia during OGTT and the HOMA-IR were also observed. The results of these analyzes indicate that the HOMA-IR may be useful in categorizing people with excess body weight in terms of cardiovascular risk.

The analysis of the obtained results showed that in the whole study population, the 75 g glucose causes changes in all assessed parameters of oxidative stress, which confirms that the postprandial state affects the oxidative balance of the organism. The concentration of TBARS and TAS increased in response to the 75 g glucose, which suggests that the intensification of lipid oxidation processes under the influence of glucose is associated with the simultaneous activation of antioxidant mechanisms. From H1 to H4 group increasing concentrations of oxLDL were observed both in the fasting state and at 120. min of OGTT, which indicates that the intensification of IR in people with excess body mass may predispose to increased oxidative modification of lipoproteins. However, the oxLDL- R_{OGTT} index decreased from H2 to H4 group, which indicates a reduce in the concentration of oxLDL at 120 min of OGTT in reference to fasting value. This suggests increased uptake of modified lipoproteins by scavenger receptor-presenting cells or increased migration to the blood vessel wall. The analysis of the correlation between TAS and TBARS concentration in the H1-H4 groups suggests that the possible antioxidant mobilization of plasma, preventing the increase of lipid peroxidation products, may be limited by the severity of the insulin resistance.

3. Piśmiennictwo

1. Strona internetowa: World Health Organization. Obesity and overweight: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>, cytowane 9 października 2020.
2. Strona internetowa: Centers for Disease Control and Prevention. Defining Adult Overweight and Obesity: <https://www.cdc.gov/obesity/adult/defining.html>, cytowane 24 października 2020.
3. WHO: Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 1997.
4. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metab Clin Exp*. 2019;92:6-10.
5. Matulewicz N, Karczewska-Kupczewska M. Insulinooporność a przewlekła reakcja zapalna. *Postepy Hig Med Dosw*. 2016;70:1245-1257.
6. Arner E, Westermark PO, Spalding KL, Britton T, Rydén M, Frisén J, et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes*. 2010;59:105-109.
7. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):1023-1033.
8. Jung A. Otyłość - choroba cywilizacyjna. *Pediatr Med Rodz*. 2014;10(3):226-232.
9. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005;26(2):19-39.
10. Napiórkowska L, Franek E. Insulinooporność a stan przedcukrzycowy. *Post N Med*. 2017;2:84-88.
11. Bednarek-Tupikowska G, Matczak-Giemza M, Kubicka E, Krzyżanowska-Świniarska B. Metaboliczna otyłość u osób z prawidłową masą ciała. *Endokrynol Otyłość*. 2007;3(3):55-61.
12. Arcidiacono B, Iiritano S, Nocera A, Possidente K, Nevo MT, Ventura V, et al. Insulin resistance and cancer risk: an overview of the pathogenetic mechanisms. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:789174.
13. Ferraz Amaro I, Díaz González F, González Juanatey C, González Gay MÁ. Insulin resistance and rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin*. 2011;7(2):124-129.
14. Ormazabal V, Nair S, Elfeky O, Aguayo C, Salomon C, Zuñiga FA. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17(1):122.
15. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979;237(3):E214-223.
16. Szulińska M, Pupek-Musialik D, Bogdański P, Miczke A, Bryl W. Ocena insulinooporności metodą euglikemicznej klamry metabolicznej u pacjentów z otyłością prostą. *Endokrynol Otyłość*. 2006;2(1):5-11.
17. Gayoso-Diz P, Otero-González A, Rodriguez-Alvarez MX, Gude F, García F, De Francisco A, et al. Insulin resistance (HOMA-IR) cut-off values and the metabolic syndrome in a general adult population: effect of gender and age: EPIRCE cross-sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2013;13(1):47.
18. Hedblad B, Nilsson P, Janzon L, Berglund G. Relation between insulin resistance and carotid intima-media thickness and stenosis in non-diabetic subjects. Results from a cross-sectional study in Malmö, Sweden. *Diabet Med*. 2000;17(4):299-307.
19. Marques-Vidal P, Mazoyer E, Bongard V, Gourdy P, Ruidavets J-B, Drouet L, et al. Prevalence of insulin resistance syndrome in southwestern France and its relationship with inflammatory and hemostatic markers. *Diabetes Care*. 2002;25(8):1371-1377.

20. Ohnishi H, Saitoh S, Ura N, Takagi S, Obara F, Akasaka H, et al. Relationship between insulin resistance and accumulation of coronary risk factors. *Diabetes Obes Metab.* 2002;4(6):388-393.
21. Geloneze B, Repetto EM, Geloneze SR, Tambascia MA, Ermetice MN. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006;72(2):219-220.
22. Sumner AE, Cowie CC. Ethnic differences in the ability of triglyceride levels to identify insulin resistance. *Atherosclerosis.* 2008;196(2):696-703.
23. Do HD, Lohsoonthorn V, Jiamjarasrangsri W, Lertmaharit S, Williams MA. Prevalence of insulin resistance and its relationship with cardiovascular disease risk factors among Thai adults over 35 years old. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;89(3):303-308.
24. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25(3):287-299.
25. Cofta S, Winiarska HM, Płóciniczak A, Bielawska L, Brożek A, Piorunek T, et al. Oxidative stress markers and severity of obstructive sleep apnea. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1222:27-35.
26. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative stress in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2017;19(11):42.
27. Hecht F, Pessoa CF, Gentile LB, Rosenthal D, Carvalho DP, Fortunato RS. The role of oxidative stress on breast cancer development and therapy. *Tumour Biol.* 2016;37(4):4281-4291.
28. Liu X, Chen Z. The pathophysiological role of mitochondrial oxidative stress in lung diseases. *J Transl Med.* 2017;15(1):207.
29. Tönnies E, Trushina E. Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;57(4):1105-1121.
30. Santos-Sánchez NF, Salas-Coronado R, Villanueva-Cañongo C, Hernández-Carlos B. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants.* IntechOpen 2019.
31. Puzanowska-Tarasiewicz H, Starczewska B, Kuźmicka L. Reaktywne formy tlenu. *Bromat Chem Toksykol.* 2008;4:1007-1015.
32. Bartosz G. Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydanie drugie zmienione. Warszawa. Wydawnictwo Naukowe PWN; 2008:29,99-109,208-214.
33. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19.
34. Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol.* 2014;24(10):R453-R462.
35. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
36. Rutkowski R, Pancewicz S, Rutkowski K, Rutkowska J. Reactive oxygen and nitrogen species in inflammatory process. *Pol Merkuriusz Lekarski.* 2007;23(134):131-136.
37. Kannan K, Jain SK. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology.* 2000;7(3):153-163.
38. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991;91(3, Supplement 3):S14-S22.
39. Czerska M, Mikołajewska K, Zieliński M, Gromadzińska J, Wąsowicz W. Today's oxidative stress markers. *Med Pr.* 2015;66(3):393-405.
40. Zabłocka A, Janusz M. Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig Med Dosw.* 2008;62:118-124.

41. Kulbacka J, Saczko J, Chwiłkowska A. Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol Merkur Lekarski*. 2009;XXVII(157):44-47.
42. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Radic Biol Med*. 2000;28(12):1685-1696.
43. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncol*. 2012;2012:137289.
44. Tai W-Y, Yang Y-C, Lin H-J, Huang C-P, Cheng Y-L, Chen M-F, et al. Interplay between structure and fluidity of model lipid membranes under oxidative attack. *J Phys Chem B*. 2010;114(47):15642-15649.
45. Jurkiewicz P, Olżyńska A, Cwiklik L, Conte E, Jungwirth P, Megli FM, et al. Biophysics of lipid bilayers containing oxidatively modified phospholipids: insights from fluorescence and EPR experiments and from MD simulations. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1818(10):2388-2402.
46. Chen JJ, Yu BP. Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products. *Free Radic Biol Med*. 1994;17(5):411-418.
47. Kuliczowska-Płaksej J, Bednarek-Tupikowska G, Płaksej R, Filus A. Scavenger receptor CD36: its expression, regulation, and role in the pathogenesis of atherosclerosis. Part I. *Postepy Hig Med Dosw*. 2006;60:142-151.
48. Osterud B, Bjorklid E. Role of monocytes in atherogenesis. *Physiol Rev*. 2003;83(4):1069-1112.
49. Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest*. 2001;108(6):785-791.
50. Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, Moore KJ, Andersson L, Koehn S, et al. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem*. 2002;277(51):49982-49988.
51. Kattoor AJ, Kanuri SH, Mehta JL. Role of Ox-LDL and LOX-1 in atherogenesis. *Curr Med Chem*. 2019;26(9):1693-1700.
52. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:152786.
53. Huang Y, Mironova M, Lopes-Virella MF. Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(11):2640-2647.
54. Gliozzi M, Scicchitano M, Bosco F, Musolino V, Carresi C, Scarano F, et al. Modulation of nitric oxide synthases by oxidized LDLs: role in vascular inflammation and atherosclerosis development. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13):3294.
55. Osterud B, Bjorklid E. Role of monocytes in atherogenesis. *Physiol Rev*. 2003;83(4):1069-1112.
56. Leiva E, Wehinger S, Guzmán L, Orrego R. Role of oxidized LDL in atherosclerosis. *Hypercholesterolemia*. IntechOpen. 2015:55-78.
57. Björkhem I. Rediscovery of cerebrosterol. *Lipids*. 2007;42(1):5-14.
58. Klarzyńska K, Ściegłińska D, Sieroń AL. Izoprostany jako bio-wskaźniki stresu oksydacyjnego in vivo. *Post Biol Komórki*. 2017;44(4):381-408.
59. Tokarz A, Jelinska M, Ozga A. Izoprostany - nowym wskaźnikiem stresu oksydacyjnego. *Bromatol Chem Toksykol*. 2004;37(3):203-208.
60. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979;95(2):351-358.
61. Niki E. Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers. *Biofactors*. 2008;34(2):171-180.

62. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med*. 2018;54(4):287-293.
63. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*. 1995;64:97-112.
64. Brigelius-Flohé R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol Chem*. 2006;387(10-11):1329-1335.
65. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 1994;17(3):235-248.
66. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(2):532-553.
67. Miyazawa T, Burdeos GC, Itaya M, Nakagawa K, Miyazawa T. Vitamin E: regulatory redox interactions. *IUBMB Life*. 2019;71(4):430-441.
68. Kohen R, Nyska A. Invited Review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*. 2002;30(6):620-650.
69. Ghiselli A, Serafini M, Maiani G, Azzini E, Ferro-Luzzi A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radic Biol Med*. 1995;18(1):29-36.
70. Erhola M, Nieminen MM, Kellokumpu-Lehtinen P, Metsä-Ketelä T, Poussa T, Alho H. Plasma peroxyl radical trapping capacity in lung cancer patients: a case-control study. *Free Radic Res*. 1997;26(5):439-447.
71. Tubaro F, Ghiselli A, Rapuzzi P, Maiorino M, Ursini F. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radic Biol Med*. 1998;24(7-8):1228-1234.
72. Benzie IF, Strain JJ. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol*. 1999;299:15-27.
73. Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol*. 1994;234:279-93.
74. Araszkiewicz A, Bandurska-Stankiewicz E, Budzyński A, Cypryk K, Czech A, Czupryniak L, et al. 2016 Guidelines on the management of diabetic patients. A position of Diabetes Poland. *Clin Diabetol*. 2016;5:A1-A73.
75. Araszkiewicz A, Bandurska-Stankiewicz E, Budzyński A, Cypryk K, Czech A, Czupryniak L, et al. 2020 Guidelines on the management of diabetic patients. A position of Diabetes Poland. *Clin Diabetol*. 2020;9(1):1-101.
76. Dembińska-Kieć A, Naskalski J, Solnica, Bogdan. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Wydanie IV. Wrocław: Edra Urban & Partner; 2017:116.
77. Stanisław A. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. Tom I. Statystyki podstawowe. Wydanie 3. Kraków: StatSoft; 2006:77.
78. Authors/Task Force Members; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG); ESC National Cardiac Societies. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2019;290:140-205.
79. Boullier A, Bird DA, Chang M-K, Dennis EA, Friedman P, Gillotte-Taylor K, et al. Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;947:214-222.
80. Eknayan G. Adolphe Quetelet (1796-1874)-the average man and indices of obesity. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(1):47-51.

81. Bennasar-Veny M, Lopez-Gonzalez AA, Tauler P, Cespedes ML, Vicente-Herrero T, Yañez A, et al. Body adiposity index and cardiovascular health risk factors in caucasians: a comparison with the body mass index and others. *PLoS One*. 2013;8(5):e63999.
82. Godescu A. The anthropometric generalization of the body mass index. *Preprints*. 2020; 2020070662.
83. Gallagher D, Visser M, Sepúlveda D, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB. How useful is body mass index for comparison of body fatness across age, sex, and ethnic groups? *Am J Epidemiol*. 1996;143(3):228-239.
84. WHO Expert Consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet*. 2004;363(9403):157-163.
85. Lam BCC, Koh GCH, Chen C, Wong MTK, Fallows SJ. Comparison of body mass index (BMI), body adiposity index (BAI), waist circumference (WC), waist-to-hip ratio (WHR) and waist-to-height ratio (WHtR) as predictors of cardiovascular disease risk factors in an adult population in Singapore. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122985.
86. Bergman RN, Stefanovski D, Buchanan TA, Sumner AE, Reynolds JC, Sebring NG, et al. A better index of body adiposity. *Obesity (Silver Spring)*. 2011;19(5):1083-1089.
87. Tang Q, Li X, Song P, Xu L. Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening: Developments in research and prospects for the future. *Drug Discov Ther*. 2015;9(6):380-385.
88. Horáková D, Štěpánek L, Janout V, Janoutová J, Pastucha D, Kollárová H, et al. Optimal homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) cut-offs: A cross-sectional study in the Czech Population. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(5):158.
89. Fujii H, Imajo K, Yoneda M, Nakahara T, Hyogo H, Takahashi H, et al. HOMA-IR: an independent predictor of advanced liver fibrosis in nondiabetic non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019;34(8):1390-1395.
90. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757-772.
91. Holvoet P, Macy E, Landeloos M, Jones D, Nancy JS, Van de Werf F, et al. Analytical performance and diagnostic accuracy of immunometric assays for the measurement of circulating oxidized LDL. *Clin Chem*. 2006;52(4):760-764.
92. Couillard C, Ruel G, Archer WR, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P, et al. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(12):6454-6459.
93. Fayeze S, Aziz GHMAE, Rehan M. Insulin resistance is triggered by oxidative stress in mildly obese men. *J Am Sci*. 2010;6(9):604-611.
94. Kopprasch S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Fuecker K, Temelkova-Kurktschiev T, Hanefeld M, et al. in vivo evidence for increased oxidation of circulating LDL in impaired glucose tolerance. *Diabetes*. 2002;51(10):3102-3106.
95. Thiagarajan R, Subramanian SK, Sampath N, Trakroo M, Pal P, Bobby Z, et al. Association between cardiac autonomic function, oxidative stress and inflammatory response in impaired fasting glucose subjects: cross-sectional study. *PLoS One*. 2012;7(7):e41889.
96. Su Y, Liu X-M, Sun Y-M, Jin H-B, Fu R, Wang Y-Y, et al. The relationship between endothelial dysfunction and oxidative stress in diabetes and prediabetes. *Int J Clin Pract*. 2008;62(6):877-882.
97. Yildirim T, Göçmen AY, Özdemir ZT, Borekci E, Turan E, Aral Y. The effect of hyperglycemic peak induced by oral glucose tolerance test on the oxidant and antioxidant levels. *Turk J Med Sci*. 2019;49(6):1742-1747.
98. Montes-Nieto R, Insenser M, Murri M, Fernández-Durán E, Ojeda-Ojeda M, Martínez-García MÁ, et al. Plasma thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in young adults: Obesity increases fasting levels only in men whereas

glucose ingestion, and not protein or lipid intake, increases postprandial concentrations regardless of sex and obesity. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(11).

99. Serin O, Konukoglu D, Firtina S, Mavis O. Serum oxidized low density lipoprotein, paraoxonase 1 and lipid peroxidation levels during oral glucose tolerance test. *Horm Metab Res*. 2007;39(3):207-211.

100. Tinahones FJ, Murri-Pierri M, Garrido-Sánchez L, García-Almeida JM, García-Serrano S, García-Arnés J, et al. Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17(2):240-246.

101. Giuseppe RD, Cossellu G, Vigna L, Dicorato F, Vita CD, Venturelli G, et al. Correlation between salivary and serum oxidized LDL levels: a pilot study on overweight/obese subjects. *J Oral Pathol Med*. 2015;44(10):884-887.

102. Regnstrom J, Nilsson J, Tornvall P, Hamsten A, Landou C. Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet*. 1992;339(8803):1183-1186.

103. Babi AV, Gebicki JM, Sullivan DR, Willey K. Increased oxidizability of plasma lipoproteins in diabetic patients can be decreased by probucol therapy and is not due to glycation. *Biochem Pharmacol*. 1992;43(5):995-1000.

104. Myara I, Alamowitch C, Michel O, Heudes D, Bariety J, Guy-Grand B, et al. Lipoprotein oxidation and plasma vitamin E in nondiabetic normotensive obese patients. *Obes Res*. 2003;11(1):112-120.

105. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(7):1162-1167.

106. Epingeac ME, Gaman MA, Diaconu CC, Gad M, Gaman AM. The Evaluation of oxidative stress levels in obesity. *Rev Chim*. 2019;70(6):2241-2244.

107. Karolkiewicz J, Pilaczyńska-Szcześniak Ł, Elegńczyk-Kot H, Nowak A, Kasprzak Z, Lewandowska M. Wskaźnik masy ciała a insulinooporność oraz parametry stresu oksydacyjnego u kobiet w podeszłym wieku. *Gerontol Pol* 2009;17(2):64-70.

108. Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26(9):1159-1164.

109. Jung-Hee K, Mi-Joung K, Ho-Kyung K. Obesity indices and plasma total antioxidant status in hypertensive elderly living in Ulsan area. *Korean J Community Nutr*. 2006;11(2):279-288.

110. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(3):400-418.

111. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004;114(12):1752-1761.

112. Konukoğlu D, Serin O, Ercan M, Turhan MS. Plasma homocysteine levels in obese and non-obese subjects with or without hypertension; its relationship with oxidative stress and copper. *Clin Biochem*. 2003;36(5):405-408.

113. Ozata M, Mergen M, Oktenli C, Aydin A, Sanisoglu SY, Bolu E, et al. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem*. 2002;35(8):627-631.

114. Davi G, Guagnano MT, Ciabattoni G, Basili S, Falco A, Marinopiccoli M, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA*. 2002;288(16):2008-2014.

115. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am J Epidemiol*. 2002;156(3):274-285.

4. Opinia Komisji Bioetycznej



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIwersYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 502/16

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarzy i lekarzy dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. 2008 Nr 45, poz. 271 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie wzorów wniosków przedkładanych w związku z badaniem klinicznym, wysokości opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 107 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz. U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 05 maja 2016 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu: mgr anal. med. Lena Bielawska

Miejsce prowadzenia badań:

**Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Główny badacz: mgr anal. med. Lena Bielawska

Członkowie zespołu badawczego:

dr Aleksandra Baszczuk, dr hab. Maciej Cymerys, dr Anna Dżumak, mgr anal. med. Marcin Nowicki, dr Anna Thielemann, dr hab. Ewa Wysocka

Temat badań:

„Ocena wybranych elementów metabolizmu lipoprotein wraz z potencjalnymi czynnikami modyfikującymi we krwi osób z nadmierną masą ciała”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Zastępca Przewodniczącego Komisji

prof. dr hab. Janusz Wiśniewski

Podpisy członków Komisji Bioetycznej podejmujących Uchwałę nr 502/116... z dnia 05.05.2016r.

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy	Podpis
1.	Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań.	
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań.	
3.	prof. dr hab. Zygmunt Adamski	dermatologia i wenerologia	Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań	
4.	dr Krystyna Babiak	prawnik	Kancelaria Rady Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań.	
5.	prof. dr hab. Maciej Krawczyński	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
6.	mgr Jolanta Łojko-Kołodziejczak	pielęgniarka	Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatrii Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
7.	mgr Krystyna Malinger	farmaceuta	Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
8.	prof. dr hab. Andrzej Marszałek	patomorfologia	Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań.	
9.	prof. dr hab. Maciej Owecki	choroby wewnętrzne, endokrynologia	Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.	
10.	prof. dr hab. Wojciech Szulcowski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
11.	prof. dr hab. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
12.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań.	
13.	prof. dr hab. Joanna Twarowska-Hauser	psychiatria	Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
14.	ks. prof. dr hab. Jerzy Troska	teologia, etyka	Wydział Teologiczny UAM, ul. Wieżowa 2/4, 61-111 Poznań.	
15.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań.	



UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Stomatologicum
ul. Bukowska 70
60-812 Poznań

tel. (+48 61) 854 73 36
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 587/18

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (t.j. Dz. U. z 2017, poz. 125 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2016, poz. 2142 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem muletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. I w sprawie wzorów wniosków związanych z badaniem klinicznym wyrobu medycznego lub aktywnego wyrobu medycznego do implantacji oraz wysokości opłat za złożenie tych wniosków (Dz. U. z 2016 r., poz. 208); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017r. poz. 211, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, poz. 489); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 0 poz. 491); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 16 maja 2018 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu i główny badacz: mgr anal. med. Lena Bielawska

Miejsce prowadzenia badań:

**Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Członkowie zespołu badawczego:

**dr Aleksandra Baszczuk, dr hab. Maciej Cymerys, dr Anna Dżumak,
mgr anal. med. Marcin Nowicki, dr Anna Thielemann, dr hab. Ewa
Wysocka**

Temat badań:

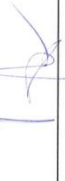
**„Ocena wybranych elementów metabolizmu lipoprotein wraz z
potencjalnymi czynnikami modyfikującymi we krwi osób z nadmierną
masą ciała”.**

**Komisja podjęła Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu zmian wprowadzonych do
protokołu powyższego badania, polegających na wydzieleniu tematu rozprawy
doktorskiej mgr anal. med. Leny Bielawskiej pt.: „Ocena markerów oksydacyjnej
modyfikacji lipoprotein osocza u osób z nadmierną masą ciała”, zgodnie z Anekssem
nr 1 z dnia 16.05.2018r. do Uchwały Komisji Bioetycznej nr 502/16 z dnia
05.05.2016r. Metodyka pozostaje bez zmian.**

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

Podpisy członków Komisji Biotetycznej podejmujących Uchwałę nr z dnia 16.05.2018r.

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy	Podpis
1.	Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań.	
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań.	
3.	prof. dr hab. Zygmunt Adamski	dermatologia i wenerologia	Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań	
4.	dr Krystyna Babiak	prawnik	Kancelaria Radcy Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań.	-----
5.	ks. prof. dr hab. Andrzej Bohdanowicz	teologia	Wydział Teologiczny Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Wieszowa 2/4, Poznań	
6.	prof. dr hab. Maciej Krawczyński	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
7.	mgr Jolanta Łojko-Kołodziejczak	pielęgniarka	Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatry Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
8.	mgr Krystyna Malinger	farmaceuta	Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
9.	prof. dr hab. Andrzej Marszałek	patomorfologia	Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań.	
10.	prof. dr hab. Maciej Owecki	choroby wewnętrzne, endokrynologia	Zakład Zdrowia Publicznego UMP, ul. Dąbrowskiego 79, 60-529 Poznań.	
11.	prof. dr hab. Wojciech Szluzewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
12.	prof. dr hab. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
13.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań.	
14.	prof. dr hab. Joanna Twarowska-Hauser	psychiatria	Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
15.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań.	