

## Оксидативни стрес изазван вежбањем и активност антиоксидантних ензима код особа оболелих од дијабетеса с кардиоваскуларним компликацијама и без њих

Нада Костић<sup>1</sup>, Зорица Чапаревић<sup>1</sup>, Сања Илић<sup>1</sup>, Биљана Пенчић<sup>2</sup>, Јана Радојковић<sup>1</sup>, Ђорђе Марина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Одељење ендокринологије, Клиника за интерну медицину, Клиничко-болнички центар

„Др Драгиша Мишовић“, Београд, Србија;

<sup>2</sup>Одељење кардиологије, Клиника за интерну медицину, Клиничко-болнички центар

„Др Драгиша Мишовић“, Београд, Србија

### КРАТАК САДРЖАЈ

**Увод** Оксидативни стрес је важан фактор који утиче на оксидацију липопротеина и напредовање атеросклеротске болести, услед чега се истиче и значај антиоксидантних механизма. Претпоставља се да физичка активност може побољшати одбрамбене механизме против оксидативног стреса. Дисфункција леве коморе и хипертензија су много чешће код особа оболелих од дијабетес мелитуса тип 2 (ДМ тип 2).

**Циљ рада** Циљ рада је био процена оксидативног стреса код болесника са ДМ тип 2, посебно оних са дисфункцијом леве коморе и хипертензијом, и одређивање утицаја интензивног вежбања на вредности испитиваних параметара.

**Методе рада** Да би се проценио оксидативни стрес испитаника, мерени су нивои: триглицерида, укупног холестерола, LDL-холестерола, оксидисаног LDL-холестерола (OxLDL), супероксид-дисмутазе (SOD), глутатион-пероксидазе (GSH-Px) и активатора плазминогена тип 1 (PAI-1). Сви поменути параметри мерени су у стању мировања и непосредно по аеробном вежбању (ергометријски тест).

**Резултати** У поређењу са испитаницима контролне групе, код особа са ДМ тип 2 је током мировања уочено значајно повећање нивоа триглицерида ( $3,12 \pm 1,09$  према  $1,74 \pm 0,9$  mmol/l;  $p < 0,01$ ), OxLDL ( $84,73 \pm 16,9$  према  $79,00 \pm 29,26$  mmol/l;  $p < 0,05$ ) и SOD ( $913,38 \pm 120,36$  према  $877,14 \pm 143,18$  mmol/l;  $p < 0,05$ ). Током вежбања забележен је виши ниво OxLDL и код болесника ( $84,73 \pm 16,90$  према  $92,33 \pm 23,29$  mmol/l;  $p < 0,05$ ) и код испитаника контролне групе ( $79,00 \pm 29,26$  према  $89,30 \pm 29,07$  mmol/l;  $p < 0,05$ ). Ниво SOD је током вежбања такође био значајно већи и код болесника ( $913,38 \pm 120,36$  према  $921,50 \pm 130,03$  U/g Hb;  $p < 0,05$ ) и код испитаника контролне групе ( $877,14 \pm 153,18$  према  $895,00 \pm 193,49$  U/g Hb;  $p < 0,05$ ). Током вежбања вредности GSH-Px су биле значајно веће само код испитаника са ДМ тип 2 ( $45,04 \pm 11,19$  према  $51,81 \pm 15,07$  U/g Hb;  $p < 0,01$ ), док се вредност PAI-1 смањивала само код здравих испитаника ( $2,60 \pm 0,35$  према  $2,22 \pm 0,65$ ;  $p < 0,05$ ). Код болесника са ДМ тип 2 и кардиоваскуларним компликацијама (хипертензијом и дијастолном дисфункцијом леве коморе) уочено је значајно повећање само активности GSH-Px ( $47,10 \pm 7,37$  према  $54,52 \pm 11,97$  U/g Hb;  $p < 0,01$ ).

**Закључак** Повећане вредности OxLDL, SOD и GSH-Px повезане су са вежбањем код болесника са ДМ тип 2. Вежбање би могло бити компензаторни механизам којим се спречава оштећење ткива ослобођеним слободним радикалима, што доводи до већег ослобађања антиоксиданса јетре и мишића, чиме се смањује оксидативни стрес.

**Кључне речи:** дијабетес мелитус тип 2; оксидативни стрес; антиоксидантни ензими; вежбање; дијастолна дисфункција; хипертензија

### УВОД

Стварање реактивних производа оксидације доводи до различитих биохемијских промена, које, пак, оштећују ткива, што је управо начин настанка главних васкуларних компликација код особа оболелих од дијабетеса [1]. Теорија оксидације описује учешће слободних радикала у стварању атеросклеротског плака [2]. Експериментални и клинички докази потврђују оштећење функције ендотелијума преко производа оксидације. Оштећење у равнотежи између прооксидантних и антиоксидантних система могло би бити узрок микроангиопатских и макроангиопатских процеса кроз липидну пероксидацију (оксидација LDL-холестерола) и стварање крајњих производа гликозилације, који су одговорни за оштећење основних структура, укључујући и карбохидрате, липиде, протеине и ДНК.

Хипергликемија доводи до метаболичких поремећаја и различитих компликација. Код особа оболелих од дијабетеса изражен је оксидативни стрес, који се утврђује на основу повишених вредности производа слободних радикала, липидне пероксидације и смањених концентрација антиоксидантних ензима [3, 4]. Дијабетес носи са собом различите поремећаје липидног стања, посебно подложност пероксидацији [5], што доводи до атеросклерозе, најзначајније компликације дијабетеса [6].

Све су значајнији докази који упућују на то да је оксидативни стрес резултат претераног стварања реактивне врсте кисеоника (енгл. *reactive oxygen species* – ROS), а смањене ефикасности антиоксидантне одбране [7]. Антиоксидантни систем, који укључује како ензимске, тако и неензимске компоненте, састоји се од нискомолекуларних антиоксидантних молекула, као што су глутатион-пе-

роксидаза (*GSH-Px*), супероксид-дисмутаза (*SOD*) и каталаза (*CAT*). Током овог истраживања измерена је величина оксидативног стреса мерењем параметара који на њега упућују или антиоксидантних молекула. Многе студије учиниле су исто то, али с контрадикторним закључцима. Непромењене, повишене или смањене вредности *SOD* и *GSH-Px* упоређене су између испитаника са дијабетесом и здравих појединаца [8-12].

Физичка активност, парадоксално, представља добро познати модел оксидативног стреса и важно терапијско средство у контроли дијабетеса [13]. Однос између ова два параметра указује на биохемијски парадокс услед негативних ефеката вежбања, и то путем увећања оксидативних производа у плазми. Постоје веома оскудни подаци о улози и ефектима физичке активности особа оболелих од дијабетеса као изазивачима оксидативног стреса и антиоксидантног статуса. Вежбање је повезано са значајним повећањем преузимања кисеоника, како на нивоу скелетног мишића, тако и на нивоу читавог тела. Настанак биохемијских промена, а тиме и оштећење ткива, резултат је претварања малог процента кисеоника (2-5%) у међуоксидативне производе. Смањена активност антиоксидантног система могла би бити узрок повећаног оксидативног стреса током вежбања. Како физичка активност смањује настанак кардиоваскуларних болести и учинак фактора ризика, умерено вежбање би требало увек саветовати. Ипак, постоји биохемијски парадокс у овоме: одређене – не превелике – количине кисеоника неопходне су да би се омогућио одговарајући кардиопулмонални статус током вежбања, док би вишак кисеоника, измењени метаболизам кисеоника, могао бити веома штетан [13, 14].

У вези с антиоксидантним ензимима, повећање вредности *SOD* и активности *GSH-Px* посматрано је у скелетном мишићу, јетри и срчаном мишићу током једнократног физичког напора [15]. Важно је нагласити да физичко вежбање доводи до повећања мишићних и антиоксидантних ензима, највећим делом *GSH*, чиме се олакшава отклањање реактивног кисеоника и смањује оксидативни стрес.

И васкуларна болест и повишена концентрација активатора плазминогена тип 1 (*PAI-1*) важне су код болесника са дијабетес мелитусом тип 2 (ДМ тип 2). Ови болесници имају оштећен капацитет вежбања у поређењу с особама које не пате од ДМ. Дисфункција леве коморе ограничава могућности физичког вежбања како код особа са ДМ, тако и код здравих појединаца [16, 17]. Поремећај у релаксацији леве коморе у дијастоли (дијастолна дисфункција леве коморе) је био чешћи него у другим студијама.

## ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био процена оксидативног стреса и антиоксидантног статуса болесника са ДМ тип 2 у стању мировања, као и промена нивоа антиоксиданса које зависи од акутног физичког вежбања; ови налази су упоређени са налазима добијеним код здравих испитаника

контролне групе. Такође, у групи испитаника са ДМ тип 2 испитивано је да ли постоји разлика у нивоу липида и антиоксидантним параметрима током вежбања између болесника који имају кардиоваскуларне компликације и оних код којих поменути промене не постоје.

## МЕТОДЕ РАДА

### Испитаници

Испитано је 50 болесника са ДМ тип 2 који су лечени на Одељењу ендокринологије и кардиологије Клиничко-болничког центра „Др Драгиша Мишовић” у Београду. Испитивану групу чинило је 20 мушкараца, старих  $50,47 \pm 17,1$  годину, и 30 жена, старих  $56,09 \pm 15,6$  година. Контролну групу чинило је 20 здравих особа сличне старосне доби. Критеријуми за искључење испитаника из истраживања били су: секундарна артеријска хипертензија, коронарна болест, поремећаји ритма рада срца, кардиоваскуларне болести, опструктивна болест плућа и инсуфицијенција бубрега високог степена. Сви испитаници који су боловали од ДМ лечени су оралним антидијабетицима. Нормалне вредности гликозилираног хемоглобина (*HbA1c*) биле су 4,5-6,0%. Критеријум за одабир испитаника са лошом гликорегулацијом била је вредност *HbA1c* већа од 6,5%. Болесници са ДМ сврстани су у групе на основу заступљености кардиоваскуларних болести, вредности индекса телесне масе (*BMI*), односно степена квалитета метаболичке контроле.

### Ергометријски тест

За обезбеђивање објективног стања и квалитета вежбања, примењен је кардиопулмонални ергометријски тест бициклом (*Jaeger Oxycon Delta ER-900*). Сви испитаници су подвргнути протоколу у којем постоји симптомима ограничено појачање снаге од по 25 W свака три минута. Тест је дизајниран тако да омогућава испитивање следећих параметара: максимално преузимање кисеоника –  $VO_2 \text{ max}$ , максимално преузимање кисеоника у поређењу с предвиђеним – индекс *FAI* (%), преузимање кисеоника у односу на телесну тежину –  $VO_2/kg$  ( $ml/kg/min$ ), вентилација – *VE* ( $l/min$ ), однос респираторне размене, односно анаеробни праг – *RER*, време потребно да се достигне анаеробни праг – *T*. Фреквенција и ритам рада срца су бележени све време користећи електрокардиограм са 12 одвода. Крвни притисак је мерен пре сваке промене појачања снаге теста. Гасне анализе и пробе протока калибрисане су пре сваког теста. Ови подаци су сабирани при свакој респирацији, а онда је узет просек по тридесетосекундним периодима. Сви параметри су израчунавани на највише 30 секунди пре него што је достигнута тачка умора. Дијастолна дисфункција леве коморе мерена је Доплер ехокардиографијом.

Испитивање је одобрио Етички комитет КБЦ „Др Драгиша Мишовић”.

## Биохемијска мерења

Од липидних параметара мерени су ниво триглицерида, укупног холестерола, HDL-холестерола, LDL-холестерола и оксидисаног LDL-холестерола (OxLDL). Ниво триглицерида је мерен ензимском калориметријском методом (*Elitech*), HDL-холестерола након преципитације LDL-холестерола и VLDL-холестерола (*Serbolab*), ниво LDL-холестерола је израчунаван према Фридевалдовој (*Friedewald*) формули, вредност OxLDL је одређивана методом ELISA (*Mercodia*), док је ниво HbA1c мерен имунотурбидиметријском методом применом доступног кита (*Roche*). Коришћен је анализатор марке *Hitachi 902*. Глукоза је одређивана ензимском колориметријском методом (*GOD-PAP*), док су вредности PAI-1 утврђиване помоћу спектрофотометријске методе применом комерцијалног кита (*Behring*).

Од антиоксидантних параметара одређиване су вредности SOD (U/g Hb) и GSH-Px. Активност SOD мерена је на 500 nm са комерцијалним китом (*Randox Laboratories, kit Ransod superoxide dismutase*). Коефицијент варијабилности међу есејима био је 4,2%. Активност GSH-Px у еритроцитима проучавана је комерцијалним китом (*Randox Laboratories, kit Ransel glutathion peroxidase*) у еритроцитима на 340 nm мерењем смањене апсорпције NADPH. Коефицијент варијабилности између есеја био је 4%.

## Статистичка анализа

Сви подаци изражени су као средња стандардна девијација (SD). Статистичка обрада података рађена је помоћу програмског пакета SPSS. Сва поређења и мерења вршена су Студентовим *t*-тестом и Ман-Витнијевим (*Mann-Whitney*) *U*-тестом. Просте и мултипле линеарне регресионе анализе одредиле су све корелације. Вредност *p* мања од 0,05 сматрала се статистички значајном.

## РЕЗУЛТАТИ

Сви демографски и биохемијски параметри приказани су у табели 1. ДМ је у просеку трајао 7,18 година, док је BMI испитаника са ДМ био 27,7±7,3 kg/m<sup>2</sup>, а 27,1±8,1 kg/m<sup>2</sup> испитаника контролне групе. Код 20 болесника гликорегулација је била лоша (HbA1c 8,14±1,4%), док је код 20 била добра (HbA1c 3,54±0,8%). Сви испитаници са ДМ сврстани су у две групе према заступљености дијабетичких компликација (прву је чинило 29 испитаника без компликација, а другу 21 испитаник са компликацијама). Нивои триглицерида, OxLDL, SOD, гликемија и HbA1c у стању мировања били су значајно већи код болесника са ДМ него код испитаника контролне групе.

Вредности измерених кардиопулмоналних параметара приказане су у табели 2. Највећа вредност VO<sub>2</sub> била је значајно већа код здравих испитаника (*p*<0,01), док је вредност VE била значајно већа код испитаника са ДМ (*p*<0,05).

Код болесника са лошом метаболичком контролом вредности OxLDL, SOD и GSH-Px после вежбања биле су значајно повишене. Оксидативни стрес изазван вежбањем се код свих испитаника испољио значајно већим вредностима OxLDL и SOD (*p*<0,05), док је ниво GSH-Px после вежбања био значајно већи само код испитаника са ДМ (*p*<0,01). Вредности PAI-1 се током вежбања смањивала само код здравих испитаника (*p*<0,05), док код болесника са ДМ није било промена у нивоу овог параметра (Табела 3).

После физичког напора код испитаника са ДМ без дисфункције леве коморе вредност OxLDL и SOD би-

**Табела 1.** Клинички и биохемијски подаци о болесницима са ДМ тип 2 и здравим испитаницима контролне групе  
**Table 1.** Clinical and biochemical data on patients with type 2 DM and healthy subjects of control group

Параметар Parameter	Контролна група Control group	Испитаници са ДМ тип 2 Type 2 DM patients
Број испитаника (мушкарци/жене) Number of patients (male/female)	20 (10/10)	50 (30/20)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.16±8.1	27.27±7.3
Трајање болести (године) Duration of disease (years)	-	7.18±1.1
HbA1c (%)	5.34±0.59	8.03±2.95*
Гликемија (mmol/l) Glycaemia (mmol/l)	5.26±9.86	9.79±4.25*
Триглицериди (mmol/l) Triglycerides (mmol/l)	1.74±0.9	3.12±1.09*
LDL-холестерол (mmol/l) LDL cholesterol (mmol/l)	3.61±1.56	3.58±0.72
Укупни холестерол (mmol/l) Total cholesterol (mmol/l)	5.57±1.67	5.63±0.98
OxLDL (mmol/l)	79.00±29.26	84.73±16.9**
SOD (U/g Hb)	877.14±153.18	913.38±120.36**
GSH-Px (U/g Hb)	44.63±13.73	45.04±11.19
PAI-1	2.60±0.35	2.97±1.08

\* *p*<0,01; \*\* *p*<0,05

ДМ – дијабетес мелитус; BMI – индекс телесне масе; HbA1c – гликозилирани хемоглобин; OxLDL – оксидисани LDL-холестерол; СОД – супероксид-дисмутаса; GSH-Px – глутатион-пероксидаза; PAI-1 – активатор плазминогена тип 1

\* *p*<0,01; \*\* *p*<0,05

DM – diabetes mellitus; BMI – Body Mass Index; HbA1c – glycosylated haemoglobin; OxLDL – oxidised LDL cholesterol; SOD – superoxide dismutase; GSH-Px – glutathione peroxidase; PAI-1 – plasminogen activator type 1

**Табела 2.** Вредности кардиопулмоналних параметара болесника са ДМ тип 2 и здравих испитаника контролне групе

**Table 2.** Values of cardiopulmonary parameters in patients with type 2 DM and healthy subjects of control group

Параметар Parameter	Испитаници са ДМ тип 2 Type 2 DM patients	Контролна група Control group
RER max (арбитрарне јединице) RER max (arbitrary units)	1.21±0.25	1.14±0.20
VO <sub>2</sub> max (ml/min)	21.09±4.40	26.35±10.53*
VE (l/min)	57.37±17.15	52.00±9.89'
T (min)	11.23±2.27	11.05±1.48

*p*<0,05; \* *p*<0,01

RER max – анаеробни праг; VO<sub>2</sub> – максимално преузимање кисеоника; VE – вентилација; T – време потребно да се достигне анаеробни праг

*p*<0,05; \* *p*<0,01

RER max – anaerobic threshold; VO<sub>2</sub> – maximum oxygen uptake; VE – ventilation; T – estimated time to achieve anaerob threshold

ла је значајно већа ( $p<0,01$ ), као и активност *GSH-Px* ( $p<0,05$ ), која је била већа код свих испитаника са ДМ (Табела 4).

Током вежбања вредности *OxLDL* и *SOD* биле су значајно веће ( $p<0,05$ ) само код испитаника са ДМ без

**Табела 3.** Вредности биохемијских и антиоксидантних параметара испитаника после вежбања

**Table 3.** Values of biochemical and antioxidant parameters in patients after exercise

Параметар Parameter	Контролна група Control group	Испитаници са ДМ тип 2 Type 2 DM patients
Гликемија (mmol/l) Glycaemia (mmol/l)	5.35±0.96	7.71±3.83*
Триглицериди (mmol/l) Triglycerides (mmol/l)	1.98±1.0	3.13±1.74
<i>LDL</i> -холестерол (mmol/l) LDL cholesterol (mmol/l)	3.55±1.55	3.84±0.97
Укупни холестерол (mmol/l) Total cholesterol (mmol/l)	5.9±1.88	5.95±1.12
<i>OxLDL</i> (mmol/l)	89.3±29.07**	92.33±23.29**
<i>SOD</i> (U/g Hb)	895.0±193.49**	921.50±130.03**
<i>GSH-Px</i> (U/g Hb)	43.97±25.97	51.81±15.07*
<i>PAI-1</i>	2.22±0.65**	2.99±1.02

\*  $p<0,01$ ; \*\*  $p<0,05$

Разлике су статистички значајне у односу на вредности у стању мировања (Табела 1).

\*  $p<0,01$ ; \*\*  $p<0,05$

Values are statistically significantly different from the values at rest (Table 1).

**Табела 4.** Вредности биохемијских и антиоксидантних параметара пре и после вежбања болесника са ДМ тип 2 и дијастолном дисфункцијом леве коморе (ДДЛК), односно без ње

**Table 4.** Values of biochemical and antioxidant parameters before and after exercise in patients with type 2 DM with and without left ventricular diastolic dysfunction (LVDD)

Параметар Parameter	Са ДДЛК With LVDD		Без ДДЛК Without LVDD	
	Пре вежбања Before exercise	После вежбања After exercise	Пре вежбања Before exercise	После вежбања After exercise
Триглицериди (mmol/l) Triglycerides (mmol/l)	2.15±0.74	2.17±1.0	2.5±0.8	2.36±0.9
<i>LDL</i> -холестерол (mmol/l) LDL cholesterol (mmol/l)	3.67±0.62	3.75±0.82	3.17±0.86	3.31±1.34
Укупни холестерол (mmol/l) Total cholesterol (mmol/l)	5.64±0.85	5.75±0.97	5.39±1.30	5.75±1.26
<i>OxLDL</i> (mmol/l)	82.16±18.26	87.09±25.09	91.67±22.74	115.00±2.82*
<i>SOD</i> (U/g Hb)	901.07±102.65	922.14±118.08	868.75±170.57	952.25±157.37*
<i>GSH-Px</i> (U/g Hb)	47.23±9.86	53.15±13.74**	48.17±8.54	56.27±16.76**
<i>PAI-1</i>	2.84±1.23	2.91±0.91	2.96±0.63	3.17±0.55

\*  $p<0,01$ ; \*\*  $p<0,05$

**Табела 5.** Вредности биохемијских и антиоксидантних параметара пре и после вежбања болесника са ДМ тип 2 и хипертензијом, односно без ње

**Table 5.** Values of biochemical and antioxidant parameters before and after exercise in patients with type 2 DM with and without hypertension

Параметар Parameter	Без хипертензије Without hypertension		С хипертензијом With hypertension	
	Пре вежбања Before exercise	После вежбања After exercise	Пре вежбања Before exercise	После вежбања After exercise
Триглицериди (mmol/l) Triglycerides (mmol/l)	3.67±1.96	3.69±1.47	1.76±0.59	1.69±0.82
<i>LDL</i> -холестерол (mmol/l) LDL cholesterol (mmol/l)	3.52±0.63	3.75±0.96	3.73±0.69	4.13±1.02
Укупни холестерол (mmol/l) Total cholesterol (mmol/l)	5.56±1.03	5.89±1.13	5.81±0.88	6.12±1.13
<i>OxLDL</i> (mmol/l)	86.60±14.44	99.25±17.6**	80.71±22.05	78.5±29.32
<i>SOD</i> (U/g Hb)	905.89±137.98	926.16±138.6**	933.71±50.79	908.76±112.10**
<i>GSH-Px</i> (U/g Hb)	44.2±12.11	50.06±16.21**	47.71±7.74	57.31±9.73*
<i>PAI-1</i>	2.92±1.06	3.0±1.07	3.10±1.21	2.96±0.96

\*  $p<0,01$ ; \*\*  $p<0,05$

хипертензије, а смањене код оних с повишеним крвним притиском (Табела 5). Активност *GSH-Px* била је, као што је већ речено, значајно већа код свих испитаника са ДМ, али нешто виша код оних с хипертензијом ( $p<0,01$ ).

Анализа корелацијом открива значајну негативну корелацију између вредности *GSH-Px* и гликемије ( $r=-0,6336$ ;  $p<0,01$ ), *GSH-Px* и нивоа триглицерида ( $r=-0,5899$ ;  $p<0,05$ ) и вредности *GSH-Px* и *PAI-1* ( $r=-0,5337$ ;  $p<0,05$ ). Такође, забележена је статистички значајна позитивна корелација између *OxLDL* и *PAI-1* после вежбања ( $r=0,524$ ;  $p<0,05$ ) (Табела 5).

## ДИСКУСИЈА

Кардиоваскуларне болести су веома честе код особа оболелих од ДМ тип 2. Липидна пероксидација и антиоксидантни системи су значајни фактори који утичу на оксидацију липопротеина и напредовање атеросклеротске болести [18, 19, 20]. У вези с овим постоје контрадикторни подаци.

Резултати нашег истраживања показују промене у вредностима *LDL*-холестерола и *OxLDL* код особа са ДМ, како код оних с компликацијама, тако и код оних без компликација. Код болесника с кардиоваскуларним компликацијама после вежбања долази до смањења

вредности ових параметара, што указује на то да физичка активност смањује ризик од развоја атеросклеротских промена код особа са ДМ. Хипертензија и дисфункција леве коморе нису значајно утицале на промене посматраних липидних параметара.

Утврђена је позитивна корелација између *OxLDL* и *PAI-1* после вежбања. Ово показује да је вежбање значајно у смањењу ризика од компликација атеросклерозе код болесника са ДМ. Резултати нашег истраживања су у складу са другим студијама које су испитивале оксидативни стрес [13, 14]. На основу овога, претпоставља се да оксидативни стрес може бити повезан с патогенезом компликација дијабетеса, посебно с васкуларном болешћу [8, 10, 15, 21, 22].

Током овог истраживања такође је посматрано повећање концентрације активности *SOD* код испитаника са ДМ, а налази су упоређени с налазима добијеним код здравих испитаника. Резултати су у складу с наводима других аутора [23, 24].

Примећено је да су испитаници са ДМ који нису имали хипертензију или дијастолну дисфункцију боље реаговали на вежбање повећањем вредности *SOD*, што указује на потребу раног почињања физичке активности, као додатног лечења особа оболелих од ДМ. Код ових болесника с лошом метаболичком контролом уочено је и смањење активности *GSH-Px* (у поређењу са болесницима који су имали добру метаболичку контролу), што је такође у складу са налазима других аутора [12]. Повећање концентрације *GSH-Px* забележено је код свих испитаника са ДМ, без обзира на компликације, током уобичајеног напора, што је такође у складу с подацима из литературе [13]. С друге стране, код здравих испитаника нису забележене промене у активности *GSH-Px* после вежбања. Ово указује на већи значај учествовања антиоксидантних ензима код особа са ДМ него код здравих, а самим тим и на повећану заштиту од оксидативног стреса, чиме се спречава развој кардиоваскуларних компликација [22, 23].

Резултати нашег испитивања су показали да очигледно постоји неравнотежа између плазма-оксидантних и антиоксидантних система код болесника са ДМ тип 2.

Могуће објашњење за ово лежи у повећању активности ензима код особа оболелих од ДМ, и то пре развоја компликација, што би могао бити компензаторни механизам организма у спречавању оштећења ткива. Хипертензија је код особа које пате од ДМ повезана с хипертрофијом леве коморе срца, што се сматра независним фактором ризика за кардиоваскуларне болести. Ефекат вежбања на одговор исхемија–реперфузија (*I/R*) у вези је с индексом оксидативног оштећења, као што је липидна пероксидација, и антиоксидантним капацитетом ткива. Уколико су механизми антиоксидантне одбране оштећени, равнотежа између пероксиданса и антиоксиданса биће нарушена. У нашем истраживању антиоксидантни капацитет је био задовољавајући (активност *GSH-Px* се после вежбања значајно повећала) и поред тога што одређена неравнотежа међу оксидансима и антиоксидансима ипак постоји [24, 25].

Током истраживања нису забележене никакве промене нивоа *PAI-1* код болесника с кардиоваскуларним компликацијама [25]. Акутно вежбање доводи до значајног смањења нивоа *PAI-1* само код здравих особа, али не и код оболелих од ДМ. Стога смо поставили хипотезу да повишене вредности *PAI-1* могу допринети погоршању атеросклерозе у условима какви постоје при резистенцији на инсулин [26]. Ипак, потребно је извести још много студија које би испитивале улогу липидне пероксидације и механизме измењене антиоксидантне одбране код болесника са ДМ тип 2, ефекте вежбања и појаву дисфункције леве коморе и хипертензије код њих. Посебно треба испитати ефекат хроничног дуготрајног вежбања код особа оболелих од ДМ.

## ЗАКЉУЧАК

Акутни физички напор доводи до наглог повећања нивоа оксидативног стреса, ефекта који је у супротности са метаболичким догађајима здравог организма. После физичког напора могло би се очекивати побољшање вредности параметара оксидативног стреса.

## ЛИТЕРАТУРА

- Kannel WB, Mc Gee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA*. 1979;241:2035-8.
- Froguel P, Velho G. Les marqueurs genetiques du diabete de type 2. *Rev Prat*. 1996;46:1813.
- Lyons TJ. Oxidised low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? *Diabet Med*. 1991;8:411-9.
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Diabetes mellitus, hypertension and cardiovascular diseases: which role for oxidative stress. *Metabolism*. 1995;44:363-8.
- Steiner G. Atherosclerosis, the major complication of diabetes. *Adv Exp Med Biol*. 1985;189:277-97.
- Hiramatsu K, Arimori S. Increased superoxide production by mononuclear cells of patients with hypertriglyceridemia and diabetes. *Diabetes*. 1988;37:832-7.
- Mohan IK, Das UN. Oxidant stress, anti-oxidants and nitric oxide in non insulin dependent diabetes mellitus. *Med Sci Res*. 1997; 25:55-7.
- Memisogulari R, Seyithan T, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct*. 2003;21:291-6.
- Cerellio A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E, et al. Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1997;20(10):1589-93.
- Ruiz C, Alegria A, Barbera R, Farre R, Lagarda MJ. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type 1 diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59(2):99-105.
- Tribe RM, Poston L. Oxidative stress and lipids in diabetes: a role in endothelium vasodilator dysfunction? *Vasc Med*. 1996;1:195-206.
- Audin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem*. 2001;34:65-70.
- Vill-Caballero L, Nava Ocampo AA, Frati-Munari A, Ponce-Monter H. Oxidative stress, acute and regular exercise: are they really harmful in the diabetic patient? *Medical Hypotheses*. 2000;55(1):43-6.

14. Sen Ch K. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol.* 1995;79:675-86.
15. Ji L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc.* 1993;25:225-31.
16. Kostić N, Čaparević Z, Ilić S. Antioksidantni status bolesnika sa dijabetesom tip 2 u odnosu na mikrovaskularne komplikacije. *Srp Arh Celok Lek.* 2007;135(3-4):143-6.
17. Dekleva M, Čelić V, Kostić N, Penčić B, Ivanović AM, Čaparević Z. Left ventricular diastolic dysfunction is related to oxidative stress and exercise capacity in hypertensive patients with preserved systolic function. *Cardiology.* 2007;108:62-70.
18. Zamaklar M, Lalić K, Rajković N, Trifunović D, Dragasević M, Popović L, et al. Oxidized LDL and lipids as risk factors for ischemic heart disease in type 2 diabetes. *Vojnosanit Pregl.* 2005;62(7-8):529-36.
19. Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev.* 2008;7(7):558-66.
20. Čaparević Z, Kostić N, Ilić S, Stojanović D, Ivanović AM. Oksidisani LDL i C-reaktivni protein kao markeri za detekciju ubrzane ateroskleroze u tipu 2 dijabetesa. *Med Pregl.* 2006;59(3-4):160-4.
21. Astley S, Langrish-Smith A, Southon S, Sampson M. Vitamin E supplementation and oxidative damage to DNA and plasma LDL in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 1999;22(10):1626-31.
22. Nutthall SL, Dunne F, Kendall MJ, Martin U. Age independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Q J Med.* 1999;92:33-8.
23. Palanduz S, Ademoglu E, Gokkusu C, Tamer S. Plasma antioxidants and type 2 diabetes mellitus. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001;109(5-6):309-18.
24. Yadav P, Sarkar S, Bhatnagar D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes and tissues in aged diabetic rats. *Indian J Exp Biol.* 1997;35:389-92.
25. Pencic B, Dekleva M, Celic V, Caparevic Z, Kostic N, Grdinic A. Nocturnal oxyhaemoglobin desaturation and plasminogen activator inhibitor type-1. In: Lewis BS, Halon DA, Flugelman MY, editors. *New Horizons in Coronary Artery Disease – Proceedings of the 7th International Congress on Coronary Artery Disease; 2007 Oct 7-10; Venice, Italy.* Bologna: Monduzzi Editore International Proceedings Division (Medimond); 2007. p.265-8.
26. Nordt TK, Schneider DJ, Sobel BE. Augmentation of the synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 by precursors of insulin. A potential risk factor for vascular disease. *Circulation.* 1994;89(1):321-30.

## Exercise-Induced Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Activity in Type 2 Diabetic Patients with and without Diastolic Dysfunction and Hypertension

Nada Kostić<sup>1</sup>, Zorica Čaparević<sup>1</sup>, Sanja Ilić<sup>1</sup>, Jana Radojković<sup>1</sup>, Djordje Marina<sup>1</sup>, Biljana Penčić<sup>2</sup>, Milica Dekleva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Unit, Clinical Centre "Dr Dragiša Mišović", Belgrade, Serbia;

<sup>2</sup>Cardiology Unit, Clinical Centre "Dr Dragiša Mišović", Belgrade, Serbia

### SUMMARY

**Introduction** Antioxidant systems are important factors affecting the oxidation of lipoproteins and thereby the progression of atherosclerotic disease. It has been suggested that physical activity might maintain and promote the antioxidant defence capacity against the oxidative stress. Left ventricular dysfunction (LVDD) and hypertension are more common in subjects with diabetes mellitus (DM) type 2.

**Objective** To evaluate the oxidative stress in patients with DM type 2, particularly with LVDD and hypertension and to determine the influence of acute exercise training on the investigated parameters.

**Methods** To assess the oxidative stress of patients, we determined the following antioxidative parameters: triglycerides (TG), total cholesterol, low density cholesterol, OxLDL cholesterol, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), plasminogen activator-type1 (PAI-1) which were measured at rest and immediately after the acute bout of the cardiopulmonary exercise cycle ergometer test.

**Results** In basal conditions, diabetic patients had a significant increase of TG ( $3.12 \pm 1.09$  vs  $1.74 \pm 0.9$  mmol/l;  $p < 0.01$ ), OxLDL cholesterol ( $84.73 \pm 16.9$  vs  $79.00 \pm 29.26$  mmol/l;  $p < 0.05$ )

and SOD enzyme activity ( $913.38 \pm 120.36$  vs  $877.14 \pm 153.18$ ;  $p < 0.05$ ) compared to controls. During the acute exercise test, there were significantly greater levels of OxLDL ( $84.73 \pm 16.90$  vs  $92.33 \pm 23.29$  mmol/l;  $p < 0.05$ ) in study patients. SOD significantly increased in both groups during exercise, in diabetic patients ( $913.38 \pm 120.36$  vs  $921.50 \pm 130.03$  U/g Hb;  $p < 0.05$ ) and in controls ( $877.14 \pm 153.18$  vs  $895.00 \pm 193.49$  U/g Hb;  $p < 0.05$ ). GSH-Px significantly increased only in diabetic patients after acute exercise ( $45.04 \pm 11.19$  vs  $51.81 \pm 15.07$  U/g Hb;  $p < 0.01$ ), but not in controls. PAI significantly decreased during the exercise test only in healthy subjects ( $2.60 \pm 0.35$  vs  $2.22 \pm 0.65$ ;  $p < 0.05$ ). Type 2 diabetic patients with cardiovascular complications (LVDD and hypertension) had a significant increase of GSH-Px activity ( $47.10 \pm 7.37$  vs  $54.52 \pm 11.97$  U/g Hb;  $p < 0.01$ ).

**Conclusion** Elevated enzyme levels are associated with exercise in type 2 diabetic patients. We suggest that it could be a compensatory mechanism to prevent free radical tissue damage. We hypothesize that a physical training programme induces the enhancement of muscular and liver antioxidant enzymes and reduces the oxidative stress.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus; oxidative stress; antioxidant enzymes; exercise; diastolic dysfunction; hypertension