

UNIVERZITET U BEOGRADU  
FARMACEUTSKI FAKULTET

Emina S. Čolak

POVEZANOST OKSIDATIVNOG STRESA,  
INFLAMACIJE I DISLIPIDEMIJE U  
PATOGENEZI SENILNE DEGENERACIJE  
MAKULE

Doktorska disertacija

Beograd, 2012.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
SCHOOL OF PHARMACY

Emina S. Čolak

THE ASSOCIATION OF OXIDATIVE  
STRESS, INFLAMMATION AND  
DYSLIPIDEMIA IN THE PATHOGENESIS  
OF AGE-RELATED MACULAR  
DEGENERATION

Doctoral Degree Dissertation

Belgrade, 2012.

Eksperimentalni deo doktorske disertacije urađen je u Centru za medicinsku biohemiju, Kliničkog centra Srbije. Ispitivani su pacijenti koji su primljeni na Klinici za očne bolesti, na odeljenju «Medical retina».

**Mentor:** Prof. dr Nada Majkić-Singh, redovni profesor  
Univerziteta u Beogradu, Farmaceutski fakultet

**Članovi komisije:** Prof. dr Nada Majkić-Singh, redovni profesor  
Univerziteta u Beogradu, Farmaceutski fakultet

Prof.dr Svetlana Ignjatović, redovni profesor  
Univerziteta u Beogradu, Farmaceutski fakultet

Prof. dr Natalija Kosanović-Jaković vanredni profesor  
Univerziteta u Beogradu, Medicinski fakultet

**Datum odbrane:**

## **Zahvalnica:**

Svom Mentoru Prof. dr Nadi Majkić-Singh zahvaljujem na nesebičnoj pomoći u izradi ove disertacije, pruženim savetima, sugestijama i podršci.

Prof. dr Nataliji Kosanović-Jaković i Mr sci Aleksandri Radosavljević sa odeljenja Medical Retinae, Klinike za oftalmologiju, KCS, dugujem veliku zahvalnost na pomoći prilikom kliničke obrade pacijenata sa senilnom degeneracijom makule i pružanju uvida u anamnestičke podatke i druge rezultate oftalmoloških ispitivanja. Zahvalna sam im i za pružene konsultacije, na korisnim savetima i podršci.

Zahvaljujem se Prof. dr Lepši Žorić sa Odseka oftalmologije Medicinskog fakulteta u Prištini (sa sedištem u Kososvskoj Mitrovici) koja je prva pokrenula ovu problematiku i koja me je uključila u ovo istraživanje, kao i na velikoj pomoći prilikom klasifikacije AMD pacijenata, na pruženoj podršci i dragocenim savetima.

Zahvaljujem se svim kolegama iz Centra za medicinsku biohemiju, koji su mi na bilo koji način pomogli u izradi ove doktorske disertacije.

Svojoj porodici dugujem posebnu zahvalnost za strpljenje, ljubav, istrajnost i podršku tokom izrade ove disertacije.

**Posveta:**

***OVAJ RAD POSVEĆUJEM SVOJOJ PORODICI I RODITELJIMA***

## POVEZANOST OKSIDATIVNOG STRESA, INFLAMACIJE I DISLIPIDEMIJE U PATOGENEZI SENILNE DEGENERACIJE MAKULE

### Rezime:

Senilna degeneracija makule ili žute mrlje (engl. Age-Related Macular Degeneration-AMD) je u razvijenim zemljama, vodeći uzrok slepila i oštećenja vida kod osoba starijih od 60 godina života. Prevalenca rane AMD (prisustvo mekih ili retikularnih druzi, ili druze sa RPE degeneracijom ili hiperpigmentacijom) iznosi 18% u staračkoj populaciji između 65 i 74 godine starosti, a čak 30% u populaciji starijoj od 74 godine. Kako je populacija iznad 65 godina u stalnom porastu, to će svakako imati dalekosežne posledice na troškove lečenja ove bolesti u 21 veku. Starenje je udruženo sa kumulativnim oksidativnim oštećenjem, npr. postmitotičke ćelije kao što su ćelije retinalnog pigmentnog epitela retine (RPE), akumuliraju promenjene mitohondrijalne DNK (delecijom, i rearanžiranjem) tokom starenja. Reaktivne kiseonične vrste (koje su proizvod normalnog ćelijskog metabolizma) izazivaju oksidativno oštećenje citoplazmatskih i nuklearnih elemenata ćelije i vrše promene ekstracelularnog matriksa. Step en oksidativnog oštećenja ćelija je ograničen dejstvom proteinskih antioksidanasa i reparacije oštećenih elemenata. Oksidativne promene retine (nazvane i „retinalno starenje“) uključuju gubitak retinalnih ćelija, akumulaciju lipofuscina unutar RPE, stvaranje druzi, akumulaciju degradativnih produkata u Bruchovoj membrani i promene horioidnih kapilara. Kada ove promene postanu izražene doprinose stvaranju AMD-a. Radovi objavljeni poslednjih decenija ukazuju na elemente oksidativnog stresa, inflamacije i poremećaji regulacije lipoproteina kao ozbiljne faktore rizika za razvoj AMD-a u starijoj populaciji. *Cilj* ovog rada je bio da se ispita oksidativni status pacijenata sa AMD-om (preko parametara antioksidativne zaštite: SOD, GPx, GR i TAS) i njegova povezanost sa parametrima inflamacije (CRP, IL-6 i fibrinogen) i lipidnog statusa (ukupni, LDL-, HDL- i nonHDL-holesterol, subfrakcije HDL<sub>2</sub> i HDL<sub>3</sub> holesterola, trigliceridi, Apo A1, Apo A2, Apo B, Apo E iLp(a)). Takođe su ciljevi bili i da se ispituju povezanost svakog parametra sa razvojem bolesti kao i mogućnosti

korišćenja ovih markera kao mogući prediktori AMD-a. **Materijal i metode:** U uzorcima biološkog materijala (puna krv, hemolizat eritrocita i serum) određivani su parametri enzimske (superoksid dizmutaza-SOD, selen-zavisna glutation peroksidaza-GPx, i glutation reduktaza-GR) i neenzimske antioksidativne zaštite (totalni antioksidantni status-TAS, mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin, feritin, haptoglobin i transferin), zajedno sa gore-pomenutim parametrima akutne inflamacije i lipidnog statusa, primenom standardnih spektrofotometrijskih i imunohemijskih metoda određivanja. Ispitivano je 110 pacijenta sa AMD-om starosti  $71,5 \pm 7,1$  god. i 87 zdravih ispitanika starosti  $70,5 \pm 5,07$  god. u periodu od 2007-2011 godine. Od ukupnog broja AMD pacijenata, 91 pacijent (82,7%) je imao uznapredovanu formu bolesti; od toga 28 (30,77%) je imalo geografsku atrofiju centralno položenu na jednom ili oba oka, a ostatak od 63 (69,23%) je imalo horoidalnu neovaskularizaciju. Devetnaest pacijenata (17,3%) je imalo ranu formu bolesti. **Rezultati** ispitivanja ukazuju da osobe sa AMD-om imaju značajno snižen antioksidantni status organizma, izmereno kroz vrednosti enzimskog (GR) ( $p=0,007$ ) i neenzimskog antioksidantnog statusa (TAS) ( $p<0,000$ ), što ukazuje na deficijenciju antioksidantnog sistema zaštite kao mogućeg uzročnika AMD-a. Dokazano je da su i pojedine komponente neenzimskog antioksidantnog sistema zaštite deficijentne i to: albumin, mokraćna kiselina i feritin, koje su bile niže u AMD grupi odnosu na KG ( $p<0,05$ ). Pokazano je da su parametri inflamacije CRP, IL-6 i fibrinogen bili znatno povišeni u odnosu na KG ( $p<0,05$ ), kao i lipoproteinski parametri, a naročito vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0,001$ ), LDL-holesterola ( $p=0,007$ ), non-HDL-holesterola ( $p=0,002$ ) i triglicerida ( $p<0,05$ ). Veći skokovi ovih parametara su uočeni u podgrupama AMD pacijenata sa uznapredovanim formama AMD-a (geografska atrofija i horoidna neovaskularizacija) u odnosu na rane forme AMD-a ( $p<0,05$ ). Utvrđene su cut-off vrednosti ispitanih parametara i njihova povezanost sa osnovnom bočesću. Dokazano je da su visoko asocirani sa ovom patologijom inflamatorni, antioksidantni i lipoproteinski parametri, a naročito one vrednosti koje su iznad utvrđenih cut-off: CRP  $>8,2$  mg/L (OR: 19,88; 95% IP 2,62 – 151,1), IL-6  $>3,5$  pg/mL (OR: 3,21, 95% IP 1,38 – 7,45), fibrinogen  $>3,7$  g/L (OR: 3,93;

95% IP 1,82–8,48), ukupni holesterol >5,9 mmol/L, (OR: 2,42; 95% IP 1,30–4,50), LDL-holesterol >4,1 mmol/L (OR: 2,33; 95% IP 1,23–4,39), non-HDL-holesterol >5,03 mmol/L (OR: 3,0; 95% IP 1,28–7,0), HDL-3 holesterol (OR: 2,51; 95% IP 1,17–5,35) i triglicerida >1,1 mmol/L (OR: 4,72; 95% IP 1,11–20,1), odnosno ispod cut-off vrednosti: SOD <1134 U/gHb (OR: 1,66; 95% IP 0,86–3,25), GPx <31 U/gHb (OR: 1,13; 95% IP 0,62–2,08), GR <55 U/L (OR: 4,08; 95% IP 1,30–12,71), TAS <1,25 mmol/L (OR: 193,2; 95% IP 27,7–1349,1), albumin <43 g/L (OR: 3,95; 95% IP 2,12–7,39), mokraćna kiselina <290  $\mu$ mol/L (OR: 2,15; 95% IP 1,21–3,83), direktni bilirubin <1  $\mu$ mol/L (OR: 2,99; 95% IP 1,06–8,48), feritin <55,7 pg/mL (OR: 2,52; 95% IP 1,37–4,62) i haptoglobin <1,51 g/L (OR: 1,94; 95% IP 1,05–3,56). Dokazali smo da se parametri inflamacije i to u vrednostima koje su iznad cut-off vrednosti mogu koristiti kao značajni mogući prediktori AMD-a, dok vrednosti antioksidantnih parametara mogu poslužiti kao mogući prediktori AMD-a i to samo TAS, mokraćna kiselina, albumin i feritin, ali samo u slučajevima kada je CRP >8,2 mg/L (F=4,48, p<0,001) ili IL-6 >3,5 pg/mL (F=3,272, p=0,004). **Zaključci** ovog istraživanja su da poremećaj sistema antioksidativne zaštite, tj. povećanje oksidativnog stresa, lipidnog statusa i povećana inflamacija imaju dalekosežne implikacije na razvoj senilne degeneracije makule, kao i da su ova tri mehanizma značajno međusobno povezana i visoko asocirana sa razvojem AMD-a. Utvrđene cut-off vrednosti ispitivanih parametara su značajane naročito u merama prevencije i preporukama za vođenje jednog zdravog načina života sa ciljem smanjenja incidencije i u prevenciji AMD-a među starijom populacijom. S druge strane, povišene vrednosti markera inflamacije, naročito ako su udružene sa smanjenjem parametara antioksidativnog statusa mogu biti od značaja u predikciji AMD-a među starijom populacijom.

**Ključne reči:** oksidativni stres, antioksidativna zaštita, senilna degeneracija makule-AMD, lipidni status, inflamacija, asocijacija, predikcija.

**Naučna oblast:** Medicinska biohemija (biomarkeri oboljenja)

**Uža naučna oblast:** Oksidativni stres, primena biomarkera u dijagnozi bolesti

**UDK broj:** 616-008.9 : [577.115 : 617.736]



# THE ASSOCIATION OF OXIDATIVE STRESS, INFLAMMATION AND DYSLIPIDEMIA IN THE PATHOGENESIS OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

## Abstract:

Age-related macular degeneration ("yellow spot") is, in developing countries, the leading cause of blindness and vision impairment in individuals older than 60 year of age. The prevalence of early AMD (presence of soft or reticular drusen or drusen with RPE degeneration or hyperpigmentation) accounts for 18% in old population between 65 and 74 years of age, and even 30% in population over 74 years. Since the population over 65 years of age is constantly increasing, it will have far-reaching consequences on treatment costs of this condition in 21<sup>st</sup> century. Aging is associated with cumulative oxidative damage, e.g. postmitotic cells like retinal pigment epithelium (RPE) cells tend to accumulate modified mitochondrial DNA (by deletion and rearrangement) during the aging. Reactive oxygen species (as a product of regular cell metabolism) cause oxidative damage of cytoplasmic and nuclear cell elements and change the extracellular matrix. Degree of oxidative damage is restricted by the action of protein antioxidants and reparation of damaged elements. Oxidative retinal changes (also termed "*retinal aging*") include loss of retinal cells, accumulation of lipofuscin within the RPE, drusen formation, accumulation of degradation products in Bruch's membrane and change of chorioid capillaries. When these changes become manifested, they contribute to AMD development. The articles published in the last decades point to elements of oxidative stress, inflammation and lipoprotein dysregulation as serious risk factors of AMD in older population. *Objective* of this paper was to study the oxidative status of patients with the AMD (by means of antioxidative defense parameters: SOD, GPx, GR and TAS) and their association with inflammation parameters (CRP, IL-6 and fibrinogen) and lipid status (total, LDL, HDL and non-HDL cholesterol, HDL<sub>2</sub> and HDL<sub>3</sub> cholesterol subfraction, triglycerides, Apo A<sub>1</sub>, Apo A<sub>2</sub>, Apo B, Apo E and Lp(a)). Additional objectives were to investigate the association of each parameter with the development of disease

as well as the possibility of using these markers as possible AMD predictors. **Material and methods:** The samples of biological material (whole blood, erythrocyte hemolysate and serum) were used for measurement of parameters of enzymatic (superoxide dismutase-SOD, seleno-dependent glutathione peroxidase-GPx and glutathione reductase-GR) and non-enzymatic antioxidative defense (total antioxidant status-TAS, uric acid, total and direct bilirubin, ferritin, haptoglobin and transferrin) together with the above-mentioned parameters of the acute inflammation and lipid status, using the standard spectrophotometric and immunochemical methods. A total of 110 AMD patients aged  $71.5 \pm 7.1$  years and 87 healthy subjects aged  $7.5 \pm 5.07$  years were examined in the period 2007-2011. Out of a total AMD patients, 91 patients (82.7%) had the advanced disease; out of this number, 28 (30.77%) had geographic centrally positioned atrophy in one or both eyes, and the remaining 63 (69.23%) had choroidal neovascularization. Early form of condition was found in 19 patients (17.3%). **Results** indicate that AMD individuals have significantly lower antioxidant status measured by enzymatic (GR) ( $p=0.007$ ) and nonenzymatic antioxidant status (TAS) values ( $p<0.000$ ), suggesting the deficiency of antioxidant defense system as well as probable AMD causative agent. It has been proved that some components of nonenzymatic antioxidant defense system are deficient, as follows: albumin, uric acid and ferritin, which were lower in AMD group in relation to the controls ( $p<0.05$ ). The inflammation parameters, CRP, IL-6 and fibrinogen as well as lipoprotein parameters have been shown to be considerably higher in relation to CG ( $p<0.05$ ); this especially applies to total cholesterol values ( $p=0.001$ ), LDL cholesterol ( $p=0.007$ ), non-HDL cholesterol ( $p=0.002$ ) and triglycerides ( $p<0.05$ ). Higher rise of these parameters have been noted in AMD subgroups with the advanced disease (geographic atrophy and choroid neovascularization) in relation to early AMD forms ( $p<0.05$ ). Cut-off values of tested parameters and their association with the underlying disease have been determined. It has been confirmed that the inflammatory, antioxidative and lipoprotein parameters are highly associated with this pathology, and especially those values above

defined cut-off: CRP>8.2 mg/L (OR: 19.88; 95% CI 2.62-151.1), IL-6>3.5 pg/mL (OR: 3.21, 95% CI 1.38-7.45), fibrinogen >3.7 g/L (OR: 3.93; 95% CI 1.82-8.48), total cholesterol>5.9 mmol/L, (OR: 2.42; 95% CI 1.30-4.50), LDL cholesterol>4.1 mmol/L (OR: 2.33; 95% CI 1.23-4.39), non-HDL cholesterol>5.03 mmol/L (OR: 3.0; 95% CI 1.28-7.0), HDL<sub>3</sub> cholesterol (OR: 2.51; 95% CI 1.17-5.35) and triglycerides>1.1 mmol/L (OR: 4.72; 95% CI 1.11-20.1), as well as below cut-off values: SOD<1134 U/gHb (OR:1.66: 95% CI 0.86-3.25), GPx<31 U/gHb (OR: 1.13; 95% CI 0.62-2.08), GR<55 U/L (OR: 4.08; 95% CI 1.30-12.71), TAS<1.25 mmol/L (OR: 193.2; 95% CI 27.7-1349.1), albumin <43 g/L (OR: 3.95; 95% CI 2.12-7.39), uric acid<290 µmol/L (OR: 2.15; 95% CI 1.21-3.83), direct bilirubin<1 µmol/L (OR: 2.99; 95% CI 1.06-8.48), ferritin <55.7 pg/mL (OR: 2.52; 95% CI 1.37-4.62) and haptoglobin <1.51 g/L (OR: 1.94; 95% CI 1.05-3.56). We have proved that the inflammation parameters in the values above cut-off may be used as significant AMD predictors, while the antioxidant parameter values may act as possible AMD predictors but only TAS, uric acid, albumin and ferritin in cases only when CRP>8.2 mg/L (F=4.48, p<0,001) or IL-6>3.5 pg/mL (F=3.272, p=0.004). *Conclusions* of this study are that antioxidant defense system disorders, i.e. an increase of the oxidative stress, lipid status and inflammation, may have far-reaching implications to development of age-related macular degeneration as well as that these three mechanisms are significantly inter-related and highly associated with AMD development. Determined cut-off values of tested parameters are particularly significant for preventive measures and recommendations for healthy life style with the intent of incidence reduction and AMD prevention among older population. On the other hand, increased values of the inflammation markers, especially if associated with lower values of antioxidant status parameters, may be important for AMD prediction among older population.

**Key words:** oxidative stress, antioxidative defense, aged-related macular degeneration-AMD, lipids, inflammation, association, prediction

**Scientific Field:** Medical biochemistry, disease biomarkers

**Subfield:** Oxidative stress, usefulness of medical biomarkers in diagnosis

**UDC Number:** 616-008.9 : [577.115 : 617.736]

### **Skraćenice korišćene u tekstu:**

**SOD** – Superoksid dizmutaza

**GPx** – Glutation peroksidaza

**CAT** – Katalaza

**GR** – Glutation reduktaza

**RPE** – Retinalni pigmentni epitel

**AGE** – Uznapredovani proizvodi glikozilacije (engl. Advanced glycosylated end products)

**AOZ** – Antioksidativna zaštita

**CNV** – Horoidalna neovaskularizacija

**RAGE** – Receptori za AGE

**VEGF** – Vaskularni endotelijalni faktor rasta

**A2E** – N-retinil-N-retinildien-etanolamin 2-(2-hidroksietil)-4-[4-metil-6-(2,6,6-trimetil)]

**RKV** – Reaktivne kiseonične vrste

**CFH** – Komplementni faktor H

**CRP** – C-reaktivni protein

**PEDF** – Faktor pigmentnog epitela (engl. Pigment Epithelium Derived factor)

**HtrA<sub>1</sub>** – engl. High temperature requirement factor A1

**8-epi IsoP** – 8-epi izoprostan

**MDA** – Malon dialdehid

**4-HNE** – 4-hidroksinonenal

**PPV** – Pozitivna prediktivna vrednost

**NPV** – Negativna prediktivna vrednost

**GSH** – Redukovani glutation

**GSSG** – Oksidovani glutation

**AMD** – Senilna degeneracija makule (engl. Aged related macular degeneration)

**KG** – Kontrolna grupa

**PC** – Proteinski karbonili

**TAC** – Totalni antioksidantni kapacitet

**TOC** – Totalni oksidantni kapacitet

**VSMC** – Vaskularne gladke mišične ćelije (Vascular smooth muscle cells)

**BMI** – Indeks telesne mase (Body mass index)

**HTA** – Arterijska hipertenzija (hypertensio arterialis)

**DM2** – Diabetes mellitus tip 2

**AUC** – Površina ispod krive (engl. Area under the curve)

**CI** – Interval poverenja (engl. Confidence interval)

**PI** – Interval predikcije (engl. Predictive interval)

**Min.vr.** – minimalne vrednosti

**Max.vr.** – maksimalne vrednosti

**Norm.distrib.** – normalna distribucija

**AKT-PKC $\zeta$**  – Aktivator Protein Kinaze C $\zeta$

**NF- $\kappa$ B** – Nuklearni faktor kapa B

**p38MAPK** – p38 mitogenom aktivisana protein kinaza

**ERK** – Ekstracelularna signalom regulisana kinaza

## SADRŽAJ:

Uvod.....	1
1. Oksidativni stres u nastanku očnih oboljenja.....	3
1.1. Oksidativni mehanizmi u oku.....	3
1.2. Slobodni radikali u oku.....	5
1.2.1. Slobodni radikali u očnom tkivu i patološke implikacije.....	5
1.2.2. Procesi i mesta sinteze slobodnih radikala u oku.....	7
1.2.3. Antioksidantna zaštita u pojedinim kompartmanima oka.....	8
1.3. Senilna degeneracija makule.....	13
1.3.1. Kratak istorijat bolesti.....	15
1.3.2. Starenje oka i senilna degeneracija makule.....	16
1.3.2.1. Starenje retine.....	16
1.3.2.2. Pigmentni epitel retine i starenje.....	17
1.3.2.3. Bruchova membrana i starenje.....	20
1.3.3. Patogeneza senilne degeneracije makule.....	21
1.3.3.1. Geneza lipofuscina.....	21
1.3.3.2. Geneza druza.....	24
1.3.3.3. Fotooksidaciona oštećenja u senilnoj makulopatiji.....	26
1.3.3.4. Inflamacija u patogenezi senilne degeneracije makule.....	30
1.3.3.5. Kliničke forme senilne degeneracije makule.....	34
1.3.4. Faktori rizika za nastanak senilne degeneracije makule.....	37
1.3.4.1. Mogući mehanizmi nastanka senilne degeneracije makule.....	40
1.3.5. Antioksidantna zaštita makularne regije.....	42
1.3.6. Antioksidativni suplementi u prevenciji senilne degeneracije makule.....	44
2. Ciljevi rada.....	47
3. Materijal i metode.....	49
3.1. Materijal.....	49
3.1.1. Protokol laboratorijskog ispitivanja.....	49
3.1.2. Preanalitička obrada uzoraka.....	51
3.2. Metode.....	52
3.2.1. Korišćeni gotovi test-reagensi.....	52
3.2.2. Određivanje aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD).....	52
3.2.2.1. Princip određivanja.....	52
3.2.2.2. Reagensi za SOD.....	53
3.2.2.3. Postupak određivanja SOD-a.....	54
3.2.2.4. Izračunavanje.....	55
3.2.3. Određivanje aktivnosti glutation peroksidaze (GPx).....	57
3.2.3.1. Princip određivanja.....	57
3.2.3.2. Priprema uzoraka.....	58
3.2.3.3. Reagensi za GPx.....	58
3.2.3.4. Postupak određivanja GPx-a.....	59
3.2.3.5. Izračunavanje.....	59
3.2.4. Određivanje aktivnosti glutation reduktaze (GR).....	60
3.2.4.1. Princip određivanja GR.....	60

3.2.4.2	Priprema uzoraka.....	60
3.2.4.3	Reagensi za GR.....	60
3.2.4.4	Postupak određivanja GR.....	61
3.2.4.5	Izračunavanje.....	61
3.2.5.	Određivanje ukupnog antioksidantnog statusa plazme (TAS).....	62
3.2.5.1.	Princip određivanja.....	62
3.2.5.2.	Priprema uzoraka.....	62
3.2.5.3.	Reagensi.....	62
3.2.5.4.	Postupak određivanja.....	63
3.2.5.5.	Izračunavanje.....	63
3.2.6.	Određivanje parametara inflamacije i lipidnog statusa.....	64
3.2.7.	Statističke metode.....	65
4.	Rezultati.....	66
4.1.	Demografski podaci o ispitanicima.....	66
4.1.1.	Klasifikacija AMD pacijenata.....	67
4.2.	Analiza antioksidantnog statusa ispitanika.....	68
4.2.1.	Analiza nivoa enzimskih antioksidanasa.....	68
4.2.1.1.	Superoksid dizmutaza.....	68
4.2.1.2.	Glutation peroksidaza.....	69
4.2.1.3.	Glutation reduktaza.....	71
4.2.2.	Analiza nivoa neenzimskih antioksidanasa.....	72
4.2.2.1.	Kumulativna vrednost neenzimskih antioksidanasa-TAS.....	72
4.2.2.2.	Analiza vrednosti albumina u ispitivanim grupama.....	74
4.2.2.3.	Analiza vrednosti mokraćne kiseline.....	75
4.2.2.4.	Analiza ukupnog i direktnog bilirubina.....	77
4.2.2.5.	Analiza vrednosti feritina u ispitivanim grupama.....	79
4.2.2.6.	Analiza vrednosti transferina.....	81
4.2.2.7.	Analiza vrednosti haptoglobina.....	82
4.3.	Analiza markera inflamacije.....	84
4.3.1.	Analiza CRP-a.....	84
4.3.2.	Analiza interleukina 6 (IL-6).....	85
4.3.3.	Analiza fibrinogena .....	87
4.4.	Analiza lipidnog statusa ispitanika.....	89
4.4.1.	Analiza lipoproteina.....	89
4.4.1.1.	Ukupni holesterol.....	89
4.4.1.2.	LDL-holesterol.....	90
4.4.1.3.	Non-HDL-holesterol.....	92
4.4.1.4.	Ukupni HDL-holesterol.....	93
4.4.1.5.	HDL <sub>2</sub> -holesterol.....	95
4.4.1.6.	HDL <sub>3</sub> -holesterol.....	97
4.4.1.7.	Trigliceridi.....	98
4.4.2.	Analiza apoproteina.....	100
4.4.2.1.	Apolipoprotein A1.....	100
4.4.2.2.	Apolipoprotein A2.....	101
4.4.2.3.	Apolipoprotein B.....	103
4.4.2.4.	Apolipoprotein E.....	104



4.4.2.5. Lipoprotein (a).....	106
4.5. Korelacije.....	108
4.5.1. Korelacije između enzimskih antioksidanasa i parametara inflamacije.....	108
4.5.2. Korelacije između neenzimskih antioksidanasa i parametara inflamacije.....	109
4.5.3. Korelacije između enzimskih antioksidanasa i parametara lipidnog statusa.....	112
4.5.4. Korelacije između neenzimskih antioksidanasa i lipidnih parametara.....	117
4.5.5. Korelacije između enzimskih i neenzimskih antioksidanasa.....	128
4.6. Asocijacije.....	133
4.6.1. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih markera u zavisnosti od porasta lipoproteinskih parametara.....	133
4.6.1.1. Vrednosti inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama ukupnog holesterola.....	135
4.6.1.2. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama triglicerida.....	137
4.6.1.3. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama LDL-holesterola.....	140
4.6.1.4. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama HDL-holesterola.....	143
4.6.2. Kretanje parametara lipidnog statusa i antioksidativne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti markera inflamacije.....	145
4.6.2.1. Vrednosti parametara lipidnog statusa i antioksidativne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti CRP-a.....	145
4.6.2.2. Vrednosti parametara lipidnog statusa i antioksidativne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti IL-6.....	148
4.6.2.3. Vrednosti parametara lipidnog statusa i antioksidativne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti fibrinogena.....	151
4.7. Analiza ROC krivih.....	154
4.7.1. Analiza ROC krivih za parametre antioksidativne zaštite.....	154
4.7.2. Analiza ROC krivih neenzimatskih antioksidanasa.....	158
4.7.3. Analiza ROC krivih parametara inflamacije.....	164
4.7.4. Analiza ROC krivih parametara lipidnog statusa.....	168
4.8. Asocijacije senilne degeneracije makule sa ispitivanim parametrima.....	176
4.9. Analiza multiple regresione analize.....	181
4.10. Razlike ispitivanih parametara po polu, BMI, pušenju, prisustva dijabetesa i hipertenzije.....	187
5. Diskusija.....	198
5.1. Analiza antioksidantnih parametara.....	199
5.2. Analiza markera inflamacije.....	214
5.2.1. Veza između CRP-a, oksidativnog stresa i dislipidemije.....	218
5.2.2. Veza između CRP-a, IL-6 i fibrinogena u AMD-u i starosti.....	220

5.3.	Analiza vrednosti lipoproteina.....	222
5.4.	Povezanost lipida sa inflamacijom i oksidativnim stresom.....	226
5.5.	Analiza korelacija antioksidanasa sa drugim parametrima i međusobno.....	228
5.6.	Tumačenje ROC krivih ispitivanih parametara.....	235
5.7.	Tumačenja asocijacija AMD-a sa ispitivanim parametrima.....	237
5.8.	Tumačenje rezultata multiple reegresione analize.....	240
5.9.	Asocijacija pola, BMI, HTA, pušenja i DM2 sa senilnom degeneracijom makule.....	241
5.9.1.	Asocijacija pola sa senilnom degeneracijom makule.....	241
5.9.2.	Asocijacija hipertenzije sa senilnom degeneracijom makule.....	243
5.9.3.	Asocijacija senilne degeneracije makule sa indeksom telesne mase.....	246
5.9.4.	Asocijacija senilne degeneracije makule sa diabetes mellitusom tipa 2.....	247
5.9.5.	Asocijacija senilne degeneracije makule sa pušenjem.....	249
6.	Zaključci.....	251
7.	Literatura.....	260
	Biografija	
	Prilozi	

## UVOD

Senilna degeneracija makule ili žute mrlje (engl. Age-Related Macular Degeneration – AMD), predstavlja oštećenje centralne retine-fovee, a samim tim i centralnog vidnog polja i vodeći je uzrok slepila i oštećenja vida kod osoba starijih od 60 godina života (1, 2). Prevalenca rane AMD (prisustvo mekanih ili retikularnih druza, ili druze sa RPE degeneracijom ili hiperpigmentacijom) iznosi 18% u staračkoj populaciji između 65 i 74 godine starosti, a čak 30% u populaciji starijoj od 74 godine (3). Kako je populacija iznad 65 godina starosti, brojčano, u stalnom porastu, to će svakako imati dalekosežne posledice na troškove lečenja ove bolesti u 21 veku (4). Uzimajući u obzir socijalne i finansijske aspekte ove bolesti, potrebno je razviti nove terapije za prevenciju i lečenje eksudativne i atrofične makulopatije. Do sada su predložene brojne strategije i to od antiangiogenske terapije do hirurške transplantacije, ali do sada nijedna nije zaživela. Inicijalno mesto oštećenja, prema većini istraživača je retinalni pigmentni epitel, mada pojedini autori nalaze primarna oštećenja u horokapilarisu ili u ekstracelularnom matriksu senzorne retine. Osim senilno-atrofičnih i degenerativnih procesa u patogenezi, mogući su i hronični inflamatorni procesi (5). Bez obzira na mesto i mehanizam inicijalnih oštećenja, postoji mišljenje da oksidativni stres u genezi staračke degeneracije žute mrlje igra sve značajniju ulogu. Većina autora smatra da proces ima i genetske komponente, i da započinje mnogo ranije, pre starijeg životnog doba (6). Osim toga, detektovana oštećenja mitohondrijalne DNK upućuju na mitohondrijalni koncept bolesti. Generalno govoreći, starenje je udruženo sa kumulativnim oksidativnim oštećenjem (7), npr. postmitotičke ćelije kao što su RPE ćelije, akumuliraju promenjene mitohondrijalne DNK (delecijom, i rearanžiranjem) tokom starenja (8).

Oko je jedinstven organ, po tome što je stalno izloženo radijaciji, atmosferskom kiseoniku, hemijskim materijama iz okruženja, ali i fizičkim oštećenjima. Stoga je oksidativni stres jedan od najznačajnijih mehanizama nastanka mnogih bolesti oka kao što su katarakta, glaukom, uveitis, retrolentalna fibroplazija, staračka degeneracija žute mrlje kao i različite forme retinopatija (9). Većina slobodnih radikala nastaju kao bioproducti normalne ćelijske fiziologije. Najčešća oštećenja oka slobodnim radikalima su izazvana hidroksilnim radikalom ( $\text{OH}\cdot$ ), superoksid anjon radikalom ( $\text{O}\cdot^-$ )<sub>2</sub> i vodonik peroksidom ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Reaktivne kiseonične vrste izazivaju oksidativno oštećenje citoplazmatskih i nuklearnih elemenata ćelije i vrše promene ekstracelularnog matriksa. Step en oksidativnog oštećenja ćelija je ograničen dejstvom različitih vrsta antioksidanasa i reparacije oštećenih elemenata. Tokom života, perzistirajući oksidativni stres koji dovodi do oksidativnog oštećenja makromolekula i do akumulacije tih oksidativno modifikovanih jedinjenja, predstavlja jedan od najznačajnijih faktora starenja tkiva. Retina je tipičan primer tkiva gde se javljaju oksidativne promene koje se često nazivaju i „*retinalno starenje*“. Ove promene uključuju gubitak retinalnih ćelija, akumulaciju lipofuscina unutar pigmentnog epitela retine (RPE), stvaranje druza, akumulaciju degradativnih produkata u Bruchovoj membrani i promene horioidnih kapilara. Kada ove promene postanu izražene, doprinose stvaranju degeneracije makule. Nedavne studije su pokazale da antioksidansi i «scavengeri» slobodnih radikala deluju anti-inflamatorno i protektivno na tkiva oka, štiteći ih od štetnog dejstva oksidanasa (10).

# 1. OKSIDATIVNI STRES U NASTANKU OČNIH OBOLJENJA

## 1.1. OKSIDATIVNI MEHANIZMI U OKU

Oksidacioni procesi učestvuju u gotovo svim patološkim procesima u oku. Ishemijsko-reperfuziono oksidaciono oštećenje ne dešava se samo nakon infarkta miokarda ili centralnog nervnog sistema, već i u retini nakon okluzije centralne retinalne arterije. Prisustvo oksidativnog stresa registrovano je i u uveitisu, dijabetesnoj retinopatiji, različitim formama glaukoma, u kataraktogenezi i u drugim degenerativnim procesima (11 – 14).

Kao izrazito reaktivni intermedijeri, slobodni radikali mogu da dovedu do oksidativnih oštećenja tkiva putem brojnih mehanizama: kao što je peroksidacija nezasićenih masnih kiselina koja dovodi do poremećaja permeabilnosti i fluidnosti bioloških membrana, što je praćeno povećanom propustljivošću membrane za jednovalentne i dvovalentne jone. Oksidacija tiolskih grupa enzima dovodi do smanjenja njihove aktivnosti pa čak i inaktivacije. Fragmentacija lanaca masnih kiselina dovodi do gubitka integriteta membrana, dok prekid kontinuiteta lizozomalnih membrana dovodi do oslobadjanja hidrolitičkih enzima i oštećenja ćelija (15, 16).

Oksidacija polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima ćelijskih membrana je konstantna pretnja za integritet ćelije i njenu funkciju. Pored negativnih, destruktivnih efekata, ovaj proces može imati i svoju fiziološku funkciju u smislu regulacije metabolizma membranskih lipida, promene njihovih fizičko-hemijskih svojstava i propustljivosti. U kontrolisanim uslovima omogućava kontrolu sinteze biološki aktivnih prostaglandina i leukotrijena, kontrolu ćelijske proliferacije i inicijaciju odumiranja ćelija.

Proteini su veoma osetljivi na delovanje slobodnih radikala koji menjaju njihovu primarnu, sekundarnu pa čak i tercijarnu strukturu. Opisane su oksidativne modifikacije primarne strukture proteina koje nastaju kao posledica modifikacije ili gubitka pojedinih aminokiselina ili agregacije i fragmentacije proteina, a koje se odražavaju na promene rastvorljivosti i naelektrisanja (17).

Ovi procesi utiču na integritet ćelije i na njenu funkciju i dovode do oksidativnog oštećenja tkiva.

Oksidacija nukleinskih kiselina dovodi do promena strukture DNK, mutacije gena, sinteze neadekvatnih gena ili do izostanka sinteze drugih. Kao rezultat takvih procesa nastaju maligne transformacije ćelija. Na takve transformacije je naročito osetljiva mitohondrijalna DNK.

Stepen oštećenja biomolekula zavisi od njihove vulnerabilnosti i intenziteta oksidativnog stresa. Reparacija primarnih oštećenja omogućava da promene u početku ostanu na molekularnom tj. ćelijskom nivou. Kada oštećenja dostignu određenu kritičnu masu, to će se ispoljiti u vidu simptoma bolesti, odnosno u vidu znakova koji se mogu detektovati kliničkim ili drugim metodama.

Oštećenja oka izazvana ovim promenama kao i mehanizmi antioksidativne zaštite pokazuju određene specifičnosti, ne samo u oku kao posebnom organu već i u njegovim visokodiferenciranim i specijalizovanim strukturama.

Oksidativni stres u ćelijama epitela nastaje uglavnom kao posledica fotodinamskih procesa ili kao nusprodukt ćelijskog disanja tj. oksidativne fosforilacije u mitohondrijama.

Retina po svojoj strukturi je veoma kompleksna. Membrane retinalnih fotoreceptora bogate su polinezasićenim masnim kiselinama. Čak i sam fotoreceptor rodopsin može biti fotodinamski agens koji inicira foto-oksidacioni stres. Foto-oksidaciono oštećenje retine u funkciji je trajanja intenziteta i talasne dužine svetlosti. Promene koje se dešavaju u pigmentnom sloju retine smatraju se inicijalnim u procesu geneze staračke degeneracije žute mrlje.

Tokom starenja postepeno slabe funkcije svih čula. Degenerativni procesi u oku, a posebno u sočivu, su prvi znaci starenja koji se primećuju. Promene koje se odvijaju u različitim delovima oka postepeno menjaju kvalitet života i zahtevaju da im se čovek prilagodi (9).

## 1.2. SLOBODNI RADIKALI U OKU

### 1.2.1. SLOBODNI RADIKALI U OČNOM TKIVU I NJIHOVE PATOLOŠKE IMPLIKACIJE

Najčešća oštećenja oka slobodnim radikalima je izazvano hidroksilnim radikalom ( $\text{OH}\cdot$ ), superoksid anjon radikalom ( $\text{O}\cdot^-$ )<sub>2</sub> i vodonik peroksidom ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Vodonik peroksid je stabilniji oksidant koji je prisutan u nekim centralnim i perifernim tkivima. Zbog svoje sposobnosti da difunduje kroz hidrofobne membrane i ulazi u sintezi reaktivnijih vrsta kao što je  $\text{O}\cdot^-$ , vodonik peroksid je najviše proučavan kiseonični metabolit. Razgradnja  $\text{H}_2\text{O}_2$ , na  $\text{OH}\cdot$ ; odvija se preko Fentonove ili Haber-Weissove reakcije.

U oku vodonik peroksid je prisutan u uveji anterior ali i u očnoj vodici (*humor aqueousus*), i to u koncentraciji 30–70  $\mu\text{mol/L}$ . Katalaza i glutation-peroksidaza koje se nalaze u očnom tkivu uključujući iris i cilijarno telo neutralizuju ovaj radikal (9). Ne-enzimske reakcije za neutralizaciju  $\text{H}_2\text{O}_2$ , su od naročitog značaja za očnu vodicu (*humor aqueousus*) gde nedostaju antioksidantni enzimi, a gde predominiraju ne-enzimske antioksidantne supstance, uglavnom askorbinska kiselina (18).

U prednjem segmentu oka (segment anterior) sinteza slobodnih radikala udružena je sa nastankom različitih patoloških stanja i bolesti kao što su katarakta, i eksperimentalni autoimuni uveitis kada koncentracija  $\text{H}_2\text{O}_2$ , raste i do 7 puta u odnosu na normalne vrednosti (19, 20).

U retini  $\text{H}_2\text{O}_2$ , nastaje kao posledica apsorpcije svetlosti i metabolizma kiseonika. Visoke koncentracije askorbinske kiseline u staklastom telu (*vitreous humor*) služe za zaštitu retine od dejstva oksidativnog stresa nastalog apsorpcijom UV zraka.

Spector (21) je, 1995 god., sugerisao da  $\text{H}_2\text{O}_2$ , može imati značajnog udela u nastanku katarakte. Koncentracija  $\text{H}_2\text{O}_2$ , u očnom sočivu iznosi 20–70  $\mu\text{mol/L}$ . U odsustvu nekih bolesti kao što su dijabetes, nastajanje katarakte ima direktnu vezu sa smanjenjem aktivnosti glutation peroksidaze u sočivu koja se javlja kao posledica starosti. Aktivnost superoksid dizmutaze i katalaze koje se

takodje nalaze u očnom sočivu, sa najvećom aktivnošću u epitelnom regionu, takodje je smanjena u katarakti.

Kiseonični radikali imaju direktnih implikacija na nastanak inflamatornih procesa u sklopu uveitisa izazvanog endotoksinom u eksperimentalnih životinja. Postoje dokazi da antioksidansi i "scavengeri" slobodnih radikala deluju anti-inflamatorno i protektivno na tkiva oka, štiteći ih od štetnog dejstva oksidanasa (22). Retrolentalna fibroplazija ili prematurna retinopatija je jedna od najranijih bolesti koja je povezana sa oksidativnim stresom u tkivu oka. Karakteriše je preteran rast zidova krvnih sudova retine kod neonatusa koji su bili izloženi povećanoj koncentraciji kiseonika u inkubatoru. Ovo dovodi do zadebljanja bazalne membrane krvnih sudova retine, što može dovesti i do odvajanja (ablacije) retine i kasnijeg slepila (23).

Visoke koncentracije vodonik peroksida detektovane su u procesu nastanka edema rožnjače. Štaviše, smatra se upravo da su njegov nastanak i dejstvo tokom oksidacionog stresa odgovorni za navedeni proces.  $H_2O_2$  verovatno nastaje oksidacijom askorbinske kiseline u očnoj vodici. GPx vrši detoksikaciju  $H_2O_2$ . Smatra se da balans glutationa, askorbata i bakra koji katališu oksidacioni proces održava ravnotežu funkcije endotelnih kornealnih ćelija.

Fotokeratitis je primer reakcije u kojoj oksidacione procese započinju UV-B zraci. Čak i subpragovna izloženost ovom delu elektromagnetnog zračenja dovodi do sinteze  $H_2O_2$  (24). Ove promene mogu biti ublažene prisustvom helatora gvožđa, deferoksamina, laktoferina, katalaze. Laktoferin je enzim koji se normalno nalazi u suzama a navedeni podaci dodatno podržavaju njegovu već poznatu zaštitnu funkciju (24).  $H_2O_2$  je normalan sastojak očne vodice, mada su njegove koncentracije u ovom kompartmanu oka veoma niske. Najverovatnije nastaje oksidacijom askorbinske kiseline u očnoj vodici u prisustvu molekulskog kiseonika (25). Ksantin-oksidadzni sistem takođe igra značajnu ulogu u nastanku inflamatornih procesa u uvei (hemotaksa, infiltracija i aktivacija leukocita). Ksantin oksidadzni sistem je dokumentovan izvor slobodnih radikala, mada u prisustvu supstrata ksantina i hipoksantina može



generisati osim superoksid anjon radikale i vodonik peroksid ili još potentniji hidroksilni radikal (15).

### 1.2.2. PROCESI I MESTA SINTEZE SLOBODNIH RADIKALA U OKU

Slobodni radikali u oku mogu nastati i u procesima sinteze eikosanoida-prostaglandina u cilju regulacije vaskularnog tonusa, funkcionisanja holinergičkog i adrenergičkog receptorskog sistema i metabolizma nekih medikamenata kao i produkcije i oticanja očne vodice u *cilijarnom telu*. Čelije cilijarnog tela poseduju vrlo reaktivan P<sub>450</sub> monoksigenazni sistem koji je sposoban za intenzivne oksidacione procese. Prema tome i sistem antioksidantne zaštite je srazmerno potentan. Selen nezavisna glutation peroksidaza nalazi se u ćelijama pigmentnog epitela cilijarnog tela, dok SOD, katalaza i glutation peroksidaza dominiraju u ćelijama nepigmentnog epitela (26, 27).

Endotelne ćelije koje oblažu *trabekulum* imaju značajnu fagocitoznu i antioksidantnu ulogu. U ekstraktima trabekularne mreže pronađena su 3 izoenzima SOD: dva Cu-Zn izoenzima i Mn-zavisna SOD. Aktivnost SOD-a trabekularne mreže opada sa godinama života, za razliku od katalaze koja održava svoj nivo aktivnosti.

Porast koncentracije metionin-sulfoksida u trabekulumu tokom procesa starenja je verovatno posledica oksidativnog stresa. Oksidacija proteina izaziva njihovu agregaciju i stvaranje velikih kompleksa koji mogu da blokiraju oticanje očne vodice. To je mogući mehanizam nastanka glaukoma (27).

Oksidativni stres u *sočivu* primarno se generiše fotodinamskim procesima, posredstvom riboflavina i triptofana, tj. njegovim pigmentovanim metabolitom - kinureninom. Oksidativni stres može nastati i tokom oksidacije askorbinske kiseline u očnoj vodici, čime se stvara vodonik peroksid.

*Staklasto telo* je primarno hipoksična i metabolički inertna sredina. Otud je intenzitet oksidacionih i foto-oksidacionih procesa nizak. Srazmerno tome, i antioksidantni kapacitet je smanjen. Porast koncentracije vodonik peroksida u staklastom telu je evidentiran nakon foto-stresa, a visoke koncentracije održavaju se čak duže od nedelju dana nakon foto-traume (28). Aktivacija kiseonika moguća je posredstvom hemo- ili fero-katalizovane fotodinamske reakcije. Takvi uslovi stvraju se kod hemoragija različite geneze. Helatori metala lokalnog porekla (iz retine) mogu imati protektivnu ulogu (29).

*Retina* je strukturno i funkcionalno veoma kompleksna. Membrane retinalnih fotoreceptora bogate su polinezasićenim masnim kiselinama, koje su stalno izložene kombinovanom sunčevom svetlu, koji, kontinuirano, generiše kiseonične radikale kao što su:  $H_2O_2$ , superoksid anjon, hidroksilni radikal pa čak i singletni kiseonik. Dokazano je da čak i sam fotoreceptor rodopsin može biti fotodinamski agens koji inicira fotooksidacioni stres. Fotooksidaciono oštećenje retine u funkciji je trajanja, intenziteta i talasne dužine svetlosti.

Fotodinamsko oštećenje se smatra odgovornim za nastanak staračke degeneracije žute mrlje, ali pored njega i drugi oksidativni procesi učestvuju u genezi prematurne retinopatije, dijabetične retinopatije, okluzije retinalnih arterija (30, 31). Pomenuta tkivna oštećenja nastaju dejstvom oksidativno modifikovanih makromolekula, koji nastaju kao produkti lipidne peroksidacije, kao što su akrolein, oksisteroli, malon dialdehid (MDA), 4-hidroksi-transnonenal (4-HNE), F2-izoprostani, itd.

### 1.2.3. ANTIOKSIDANTNA ZAŠTITA U POJEDINIM KOMPARTMANIMA OKA

Ćelije sadrže određene antioksidanse, koji imaju različitu zaštitnu ulogu protiv hazardnih reakcija inicirane svetlom ili drugim stimulatorima oksidativnog oštećenja. U očnom tkivu, uključujući iris i cilijarno telo nalaze se

velike količine katalaze i glutation peroksidaze koje neutralizuju vodonik peroksid. U očnoj vodici, gde nedostaju antioksidanti enzimi, dominiraju neenzimske antioksidantne supstance, uglavnom askorbinska kiselina (18). *Cilijarni epitel* aktivno luči askorbat u očnu vodicu gde njegova koncentracija dostiže vrednosti koje su i do 20 puta veće od koncentracija u plazmi (32).

Glavni antioksidantni metaboliti rastvorljivi u vodi su glutation (GSH) i vitamin C. Oni održavaju antioksidantni efekat primarno u citoplazmi i mitohondrijama. GSH je jedan prirodni tripeptid koji deluje kao reduktans peroksida bilo neenzimskom reakcijom ili reakcijom katalizovanom glutation peroksidazom (33). GSH može i da detoksikuje reaktivne aldehide koji su nastali lipidnom peroksidacijom. Glavne odlike GSH su: 1) da je stabilan u azotu, 2) da podleže metalom-katalizovanoj oksidaciji, 3) da je njegov oksidativni proizvod, GSSG (oksidisani glutation) stabilan pri fiziološkim temperaturama i pH; 4) ni GSH ni GSSG ne prolaze lako kroz membrane; i 5) GSSG se redukuje nazad do GSH preko NADPH-zavisnog puta koji uključuje glutation reduktazu i ćelijski metabolizam glukoze (heksozo-monofosfatni šant). Glutation se nalazi u očnoj vodici u mikromolarnim koncentracijama. Oko 99% ukupnog sadržaja čini njegova redukovana forma. Glavna funkcija glutaciona jeste u održavanju integriteta ćelijskih membrana kroz sistem antioksidativne zaštite, omogućava normalno odvijanje aktivnog transporta supstrata i jona, homeostazu  $Ca^{2+}$ , stabilizaciju receptora, transport aminokiselina i održavanje redoks-puferskog sistema ćelije (34).

Očna vodica sadrži još i albumin, transferin, urate, doduše u niskim koncentracijama, ali koji takođe deluju antioksidativno.

Vitamin C je drugi glavni vodeno-solubilni antioksidans. Slično glutationu, vitamin C je stabilan u azotu, a nestabilan u kiseoniku i podleže metalom-katalizovanoj oksidaciji. Produkti oksidacije su nestabilni u vodenom rastvoru i fiziološkim temperaturama i pH (35). Nestabilnost dehidroaskorbinske kiseline (DHA,  $t_{1/2} = 3-5$  min pri pH = 7.4 na 37 °C) je potencijalni problem s obzirom da je ovo jedini oksidacioni proizvod koji se

redukuje nazad do vitamina C uz pomoć GSH. U krvnoj plazmi L-askorbinska kiselina efikasno sprečava oksidaciju lipida plazme. Antioksidantna aktivnost vitamina C se ogleda u sposobnosti neutralisanja mnogih intermedijera i produkata slobodno-radikalnih procesa, pri čemu iz ovih intermedijera nastaju neradikalni produkti, a vitamin C oksidacijom prelazi u semidehidroaskorbinsku kiselinu koja se dalje oksidiše u dehidroaskorbinsku kiselinu (36). U seriji eksperimenata, Winkler i sar (37) su pokazali da spontana degradacija DHA ograničava sposobnost kultivisanih RPE ćelija da regenerišu vitamin C, osim ukoliko vitamin C nije uključen u sam medijum inkubacije. Rezultati ukazuju na to da transmembranski transport vitamina C ili DHA je potreban za održavanje nivoa i antioksidantnog kapaciteta ovih ćelija.

Glavni liposolubilni antioksidansi su vitamin E i karotenoidi. Vitamin E je glavni "chain-breaking" antioksidans ćelijskih membrana, i stoga igra najveću ulogu u minimiziranju posledica oksidacije polinezasićenih masnih kiselina (PUFA). Vitamin E kao i karotenoidi služe kao „scavengeri“ slobodnih radikala, naročito hidroksilnog radikala i singletnog kiseonika. Stabilan je u azotu ali je nestabilan u kiseoniku. Vitamin E je najefikasniji lipofilni antioksidant u biološkim membranama, omogućava njihovu stabilnost, a modulacijom puteva signalne transukcije modifikuje ćelijski odgovor na oksidativni stres, preko inhibicije protein kinaze C (38), koja je odgovorna za regulaciju ćelijske proliferacije. Vitamin E se reciklira uz pomoć vitamina C, koji prevodi tokoferol radikal u molekulsku formu.

Makularni karotenoidi lutein i zeaksantin apsorbuju plavo svetlo i na taj način štite RPE od oštećenja kratkim talasima. U „periodima odmora“, redukovane forme antioksidanasa čine 95–99% ukupnog intraćelijskog sadržaja. S toga, ćelija poseduje značajan kapacitet održanja redoks statusa kako bi mogla da se suoči sa oksidativnim procesima.

U očnom sočivu prisutni su enzimi: superoksid dizmutaza i katalaza, sa najvećom aktivnošću u epitelnom regionu, a koje je značajno smanjeno u katarakti. Sočivo je snabdeveno nizom antioksidantnih mehanizama koji mu

omogućavaju održavanje stabilnosti građe i funkcije. Visok sadržaj glutationa i vitamina C kao i sulfhidrilne grupe sočivnih kristalina omogućavaju dobru antioksidantnu zaštitu (39, 40). Vitamin E čuva integritet membrana sočivnih ćelija dok SOD, tioredoksin T, holin, taurin i karotenoidi štite ga od reaktivnih metabolita kiseonika (41). Niske koncentracije kiseonika u sočivu značajno preveniraju fotodinamska oštećenja.

Antioksidativni kapacitet *rožnjače* čine katalaza, SOD i GPx. Cu,Zn-SOD lokalizovana je u bazalnim i intermedijarnim epitelnim ćelijama, ali ne i u površinskim. Za razliku od sočivne, kornealna dizmutaza ne pokazuje znake inaktivacije sa starenjem (42). Osim ovih metabolita koji deluju kao antioksidansi, ćelija sadrži još nekoliko vodenoljubljivih enzima koji takođe deluju kao antioksidansi. GSH-peroksidaze koji spadaju u seleno-enzime vrlo su aktivne u prisustvu hidroperoksida masnih kiselina, fosfolipidnih hidroperoksida, holesterol-hidroperoksida i vodonik peroksida. Glutation peroksidaza katališe reakciju između GSH i  $H_2O_2$ , pri čemu nastaje GSSG i voda.  $H_2O_2$  se može konvertovati u vodu i kiseonik uz pomoć katalaze. GPx ima nizak  $K_m$  za  $H_2O_2$  u odnosu na katalazu, ali specifična aktivnost katalaze je nekoliko puta veća od specifičnosti glutation peroksidaze, naročito pri koncentracijama peroksida većim od 1 mmol/L. Ono što je manje poznato, peroksid može takođe biti konvertovan u vodu direktnom reakcijom sa vitaminom C. Ova reakcija takođe rezultuje stvaranjem dehidroaskorbinske kiseline (DHA). Superoksid anjon se redukuje do vodonik peroksida enzimskom dizmutacijom uključujući superoksid dizmutazu. Peroksid koji je nastao dejstvom SOD-a se zatim može konvertovati u vodu preko nekoliko reakcija.

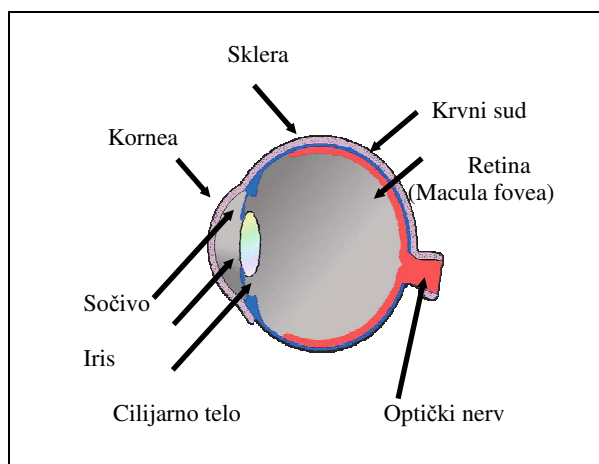
*Retina* ima sposobnost sinteze antioksidanasa. Vodonik peroksid inicira sintezu katalaze i metalotioneina (43). Glutation peroksidaza je takođe detektovana u retini i to najviše u njenom pigmentnom epitelu. Mn-zavisna SOD se nalazi u membranama spoljašnjih segmenata fotoreceptora. Pigmentni epitel retine sadrži skoro najveće koncentracije bakra u organizmu, dok je sadržaj cinka veoma visok u njegovim ćelijama i horioideji. U antioksidativnoj zaštiti retine, vitamin E igra verovatno dominantnu ulogu, dok vitamin C ima

značaja u zaštiti i regeneraciji tokoferola, provodeći tokoferol radikal u molekulsku formu. U odsustvu tokoferola u membranama, neizbežno je obrazovanje i gomilanje peroksi radikala i drugih produkata peroksidacije nezasićenih masnih kiselina. U prisustvu tokoferola i askorbata prevashodno dolazi do redukcije peroksi radikala u molekul nezasićene masne kiseline. Nastali oksidisani produkti tokoferola (TokO<sup>•</sup>), regeneracijom pod dejstvom askorbata, ponovo prelaze u redukovane forme (TokOH) koje sprečavaju nastajanje i gomilanje hidroperoksida nezasićenih masnih kiselina, čime se inhibira proces dalje propagacije peroksidacije lipida i ostvaruje ulogu tokoferola u stabilizaciji biomembrana.

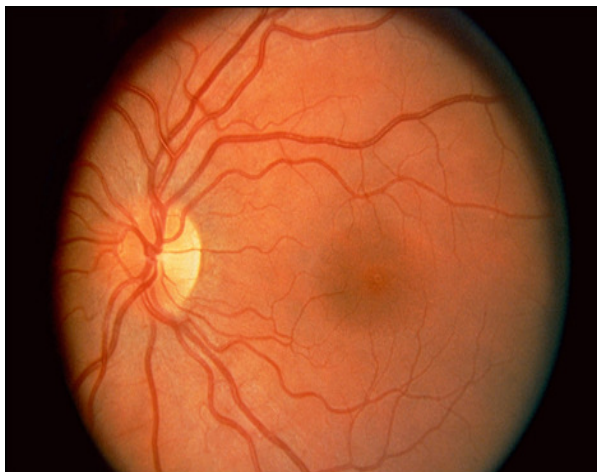
### 1.3. SENILNA DEGENERACIJA MAKULE

Staračka ili “age-related” degeneracija žute mrlje je vodeći uzrok trajnog slepila u populaciji osoba starijih od 50 godina u razvijenijim zemljama. Prevalenca upadljivo raste sa godinama (sa 11% u 50-toj godini života do 30% u 80-tim godinama života) (44). Inicijalno mesto oštećenja, prema većini istraživača je retinalni pigmentni epitel, mada pojedini autori nalaze primarna oštećenja u horokapilarisu ili u ekstracelularnom matriksu senzorne retine. Osim senilno-atrofičnih i degenerativnih u patogenezi, mogući su i hronični inflamatorni procesi (45).

Bez obzira na mesto i mehanizam inicijalnih oštećenja, postoji mišljenje da oksidativni stres u genezi staračke degeneracije žute mrlje igra sve značajniju ulogu. Većina autora smatra da proces ima i genetske komponente, i da započinje mnogo ranije, pre starijeg živornog doba (46). Osim toga, detektovana oštećenja mitohondrijalne DNK upućuju na mitohondrijalni koncept bolesti. Senilna degeneracija žute mrlje javlja se u 2 osnovne kliničke ili evolutivne forme: kao suva, geografička, neeksudativna i kao vlažna, disciformna, neovaskularna ili eksudativna forma.



**Slika 1:** Anatomija oka



**Slika 2:** Normalna očna pozadina



**Slika 3:** Normalan vid



**Slika 4:** Gubitak centralnog vida u staračkoj degeneraciji žute mrlje  
(Slike 1,2,3 i 4 preuzete sa: [www.degeneracija\\_makule.html](http://www.degeneracija_makule.html): Degeneracija žute pjege vezana za dob – ARMD)



### 1.3.1 KRATAK ISTORIJAT BOLESTI

Za postojanje žute mrlje u humanoj retini se zna već više od 200 godina. Prvi revijalni rad u vezi žute mrlje, publikovao je Home, 1798. godine, 15 godina nakon što je Buzzi prvi put opisao žutu mrlju. Nezavisno od njih je Soemmering, 1795. godine, otkrio „*foramine centrali limbo luteo*“, opisivajući da je ta mrlja „bleda“ kod mladih i starijih ljudi, a svetlija kod odraslih. Tada su nastale prve rasprave u vezi žute mrlje; da li to mesto predstavlja „mali deo retine ili celu retinu?“. Home je zaključio da je to posmrtna promena bez značaja za vid tokom života. On je takođe smatrao da „žuta mrlja“ ne može da se vidi u disekciji drugih životinja osim kod majmuna. Prisustvo „*maculae lutee*“ kod ne-ljudskih primata je nakon toga dobro dokumentovano (47).

Hermann von Helmholtz je 1851. god, uveo oftalmoskop čime je izvršio revoluciju u oftalmologiji. Time je omogućio vizualizaciju žute mrlje, ali nije mogao da obustavi debatu (koja se održala još narednih 100 godina): da li je ova pojava posledica postojanja žutog makularnog pigmenta ili ne?. Tek je 1945. godine, Wald (48), člankom nazvan „Ljudski vid i spektrum“, dokazao da žuti pigment apsorbuje svetlost talasne dužine 430–490 nm, sa maksimumom od 465 nm. On je takođe dokumentovao da je prvi ksantofil ekstrahovan iz ljudske retine upravo koncentrisan u makuli. Dalja ispitivanja od strane drugih istraživača su otkrila da su ksantofili upravo izvor makularne žute boje (49, 50). Ksantofili su subklasa karotenoida, velike grupe biljnih pigmenata odgovorni za boju voća i povrća, lišća u jesen, boju kanarinaca, flamingosa, lososa itd. Oni deluju kao energetske „apsorberi“ u biljkama i obezbeđuju prvi korak u fotosintezi u saradnji sa hlorofilom. Karotenoidi su linearni ugljeni hidrati, a ksantofili su njihove oksigenisane forme. Tokom 1980. god, Bone sa saradnicima (51) je identifikovao lutein i njegov strukturni izomer, zeaksantin, kao specifične ksantofile u retini, dok je Snodderly sa sar. (52) locirao ksantofilni pigment kod primata u „*Henlejevom vlaknastom sloju*“.

## 1.3.2. STARENJE OKA I SENILNA DEGENERACIJA MAKULE (AMD)

### 1.3.2.1. Starenje retine

Opadanje vidne oštine, smanjenje kontrastne senzitivnosti, slabljenje kolornog vida, povišen prag adaptacije na tamu i slabljenje drugih vidnih funkcija tokom starenja, rezultat su promena u skoro svim kompartmanima oka. Opadanje vidnih funkcija nastaje, nesumnjivo i zbog promena u samoj retini i njenim neuronskim elementima kao i duž neurosenzorskih puteva (53).

Refleksija sa površine unutrašnje granične membrane, vidljiva duž krvnih sudova, oko foveole, ili sa nazalne strane diska optičkog nerva iščezava već oko treće-četvrte dekade života. Promene u koncentraciji melanina u ćelijama pigmentnog epitela retine, kao i promene u horioidalnoj cirkulaciji, daju starijim osobama "tigroidan" izgled očnog dna. Oko diska optičkog nerva javlja se peripapilarna atrofija koja se manifestuje kao prsten hipopigmentacije. Na periferiji retine javljaju se mikrocistoidna degeneracija, periferna retikularna i "paving stone" degeneracija. Navedene promene objašnjavaju se promenama u cirkulaciji horioideje i retine i promenama u ćelijama pigmentnog epitela i u strukturi Bruchove membrane.

Tokom starenja u spoljašnjim slojevima retine uočava se pomeranje nukleusa iz spoljašnjeg nuklearnog sloja ka unutrašnjim segmentima retine (54). Dolazi do promene u strukturi spoljašnjih segmenata štapića (porast količine diskova spoljašnjeg segmenta, njegov rast i nabiranje), kao i u unutrašnjim segmentima čepića, gde se uočavaju lipofuscinske granule (55). Smatra se da je produkcija diskova spoljašnjih segmenata čepića konstantna tokom života, a da gomilanje, nabiranje membrana i nakupljanje diskova nastaje zbog smanjenja fagocitne funkcije ćelija retinalnog pigmentnog epitela.

Pojava lipofuscinskih granula je posledica autofagocitoze samih fotoreceptora, zbog smanjenja heterofagocitnog kapaciteta retinalnog pigmentnog epitela (56).

U aksonima vlakana optičkog nerva u samoj retini dolazi do akumulacije lipida i pigmenata lipofuscina. Isti procesi se dešavaju i u ganglijskim ćelijama.

U strukturi optičkog nerva zapaženo je opadanje broja aksona. Müllerove ćelije zadebljavaju a samim tim i unutrašnja granična membrana.

Gubitak aksona u optičkom nervu je u korelaciji sa porastom količine vezivnog tkiva, tako da dijametar nerva ostaje gotovo konstantan. Slabljenje kvaliteta potporne funkcije ekstracelularnog matriksa tokom starenja može poslužiti i u objašnjenju patogeneze glaukoma koji su karakteristični za starije životno doba.

### **1.3.2.2. Pigmentni epitel retine i starenje**

Pigmentni epitel retine predstavlja sloj kuboidnih (kubičnih) ćelija između spoljašnjih segmenata fotoreceptora i horokapilarisa. Ulazi u sastav hemoretinalne barijere, apsorbuje deo sunčevog spektra, obezbeđuje neophodne metabolite za život i funkciju neuroepitelnih ćelija, uključujući i metabolite vitamina A, kao sastavnog dela vidnih pigmenata. Fagocitozom uklanja delove membrana fotoreceptora i omogućava njihovo obnavljanje i nesmetanu funkciju i reguliše jonski gradijent u interfotoreceptorskom matriksu.

Nakupljanje nepotpuno metabolisanih rezidua u ćelijama pigmentnog epitela usled nesavršenosti digestivnih mehanizama je jedan od predloženih modela senilnih promena retine. Rezidue nepotpune molekularne digestije, poput lipofuscina i drugih metabolita, provociraju promene ostalih funkcija, čija bi moguća posledica bila pojava produkata koji se nakon ekskrecije nakupljaju u Bruchovoj membrani u vidu bazalnih laminarnih depozita-druza (57).

Sa starenjem se zapaža znatan pleomorfizam ćelija pigmentnog epitela. Na periferiji retine ove ćelije postaju šire, spljoštenije, sa više vakuola. Javljaju se područja atrofije ili hipertrofije, hiperplazije i migracije. Ćelije na zadnjem retinalnom polu akumuliraju lipofuscin, postaju veće i tanje, a njihov broj

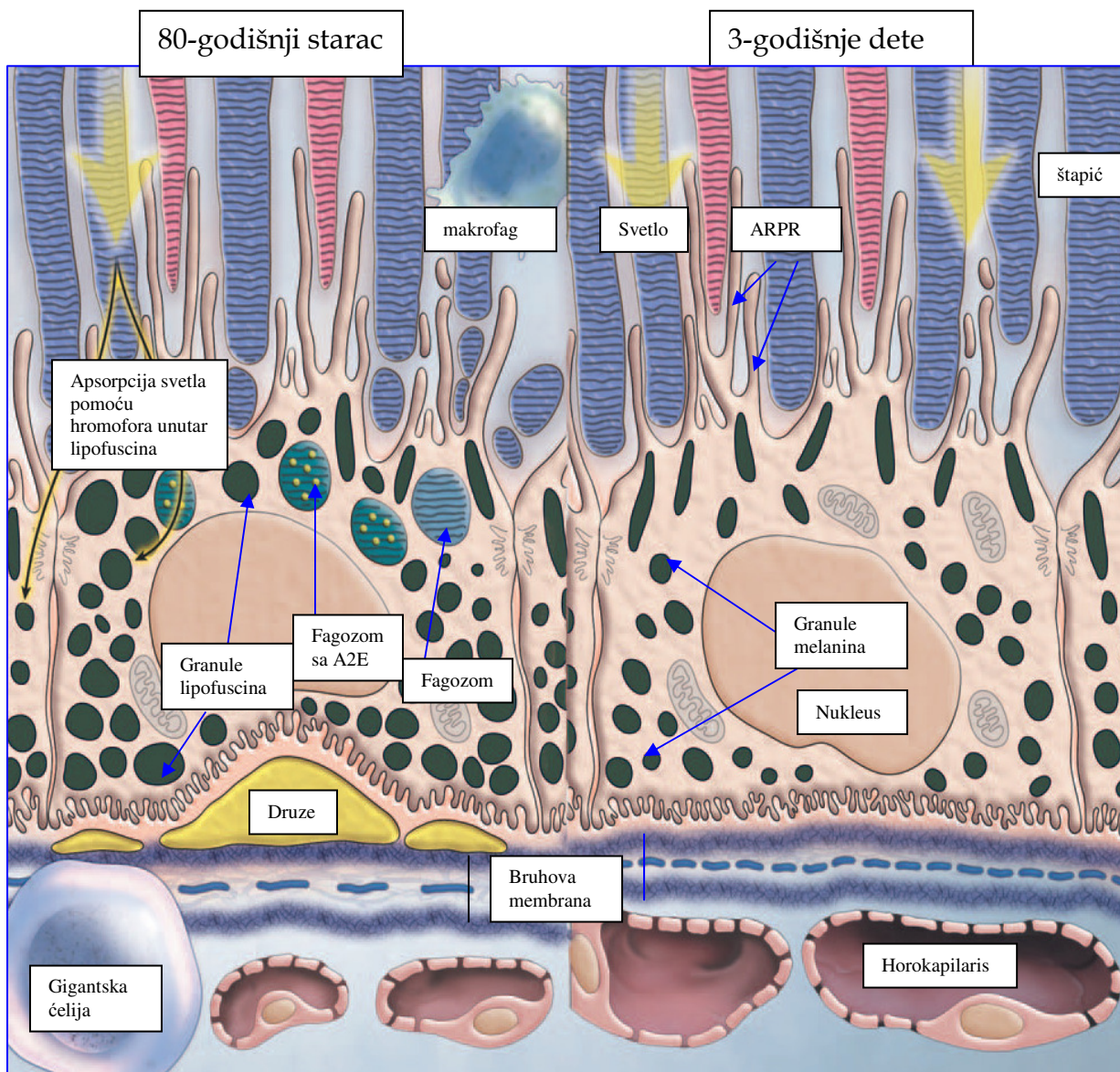
opada. U dubokoj starosti, nakon 90 godine života, njihova visina opet opada, verovatno zbog gubitka jednih i sledstvenog proširenja preostalih ćelija (58).

Melanozomi pigmentnog epitela retine stvaraju se još tokom intrauterinog života. Smatra se da je njegova uloga u tom periodu značajna za razvoj fovee i usmeravanje optičkih vlakana (59). Melanin ima esencijalnu ulogu kao absorber dela sunčevog spektra. Međutim, on ima i funkciju "čistača" slobodnih radikala kiseonika, i u vezivanju i detoksikaciji nekih lekova i metala.

Melanozoma ima najviše u području ekvatora i na zadnjem polu retine. Broj melanozoma u RPE se gotovo ne menja tokom života, ali dolazi do promene u koncentraciji melanina u samim ćelijama odnosno u ćelijskim granulama (slika 5). To se odvija putem fuzije lizozoma sa melaninskim granulama ili apoptozom i ekstruzijom sadržaja ćelija, koji biva inkorporiran u susedne ćelije (60). Gubitkom melanina ove ćelije postaju osetljivije na fotooksidativni stres.

Lipofuscin se u ćelijama RPE pojavljuje već nakon rođenja i njegov sadržaj neprekidno raste sa godinama života. Smatra se da lipofuscin nastaje usled oksidativnog oštećenja lipida u fotoreceptorima, pri čemu se on nakuplja u vidu rezidualnih lizosomalnih telašaca nakon fagocitoze membrana fotoreceptora i njihove nepotpune digestije. Takve promene se kao posledica fotooksidacijskog stresa odvijaju nezavisno od starosti organizma, a mogu biti povezane sa insuficijentnom antioksidativnom zaštitom (61).

Koncentracija lipofuscina raste nakon prve dekade života i pretpostavlja se da je to rezultat dejstva UV zraka (295–400 nm) koji dopiru do retine pre nego što se razviju sočivne hromofore odraslog čoveka koji apsorbuju taj deo spektra, ali propuštaju njegov plavi deo. Nakon 50 godine života, registruje se drugi skok u produkciji lipofuscina (62).



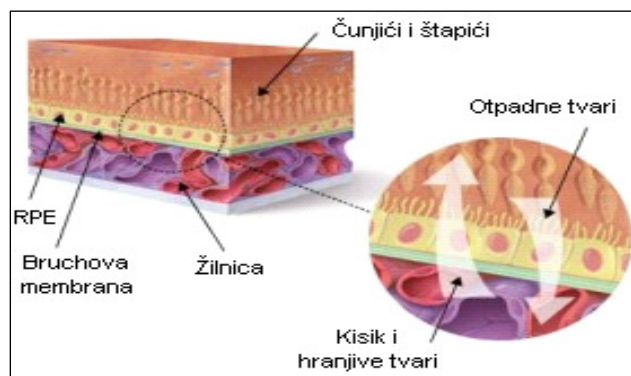
Slika 5: RPE ćelije trogodišnjeg deteta i 80-godišnjeg starca  
 (Slika preuzeta iz: *De Jong PVM. Age-Related macular Degeneration. N Engl J Med 2006;355:1474–84*)

Nakupljanje lipofuscina ima toksično dejstvo za same ćelije RPE i za fotoreceptore (63). Ćelije u području makule imaju veće koncentracije lipofuscina u odnosu na neka druga područja retine, pa se nakupljanje lipofuscina smatra jednim od inicijalnih procesa u nastanku staračke degeneracije makule. Međutim, topografska distribucija melanina i lipofuscina pokazuje inverziju tako da neki smatraju da produkcija lipofuscina može imati i protektivno dejstvo u odnosu na melanin, čija koncentracija opada sa starenjem.

### 1.3.2.3. Bruchova membrana i starenje

Sa starenjem Bruchova membrana zadebljava. Prve promene javljaju se u unutrašnjem kolagenom sloju i to već u prvim dekadama života. Promene zatim zahvataju i ostale njene slojeve. Poreklo depozita u Bruchovoj membrani najverovatnije potiče od ćelija pigmentnog epitela retine. Smatra se da apoptotički ćelijski materijal, kao i citoplazma i ćelijske organele iz pigmentnog epitela bivaju deponovani u Bruchovoj membrani (60). Ovaj «debr» (otpad) uklanjaju makrofagi ili periciti horiokapilarisa. Do akumulacije debrija i zadebljanja membrane dolazi kada produkcija rezidua nadmaši raspoložive fagocitne kapacitete. Zadebljanje, hijalinizacija i bazofilija najizraženiji su procesi u području makule i u peripapilarnom regionu. Ove promene menjaju elastična svojstva Bruchove membrane već oko 50 godine života. Smatra se da predisponiraju nastanku angioidnih strija. Kolagen u sastavu membrane zadobija izmenjenu strukturu. U sedmoj deceniji života materijal se nakuplja između bazalne membrane pigmentnog epitela i baza njegovih ćelija. Ekskreti iz retinalnog pigmentnog epitela tako formiraju bazalne laminarne depozite (64).

Depoziti dobijaju izgled vakuola, a ćelije RPE iznad njih trpe promene. Ovakve promene nisu karakteristične za sve rase, već samo za one koje razvijaju eksudativni tip senilne degeneracije makule, a to je bela rasa. Sadržaj lipida u Bruchovoj membrani raste sa godinama starosti. Smatra se da je to protektivni mehanizam koji ojačava oslabljenu hematoretinalnu barijeru.



**Slika 6:** Građa retine

(Slika 6 preuzeta sa: : [www.degeneracija\\_makule.html](http://www.degeneracija_makule.html): Degeneracija žute pjege vezana za dob – ARMD)

### 1.3.3. PATOGENEZA SENILNE DEGENERACIJE MAKUKLE

Patzogeneza AMD-a je vrlo kompleksna i uključuje najmanje 4 procesa koji doprinose nastanku bolesti: 1) geneza lipofuscina koja je povezana sa pojačanim oksidacionim stresom, 2) druzogeneza, 3) lokalna inflamacija i 4) neovaskularizacija (u slučaju vlažne forme) (65).

#### 1.3.3.1. Geneza lipofuscina

Boulton sa sar. (66) je pokazao da je lipofuscin, RPE fotoinducibilni generator slobodnih radikala. Zračenje bele svetlosti na granule lipofuscina u RPE ćelijama rezultuje produkcijom superoksid anjona, čija se sinteza povećava sa povećanjem intenziteta svetlosti. Ovaj efekat zavisi od talasne dužine; produkcija superoksid anjona je najveća u granulama kada je oko eksponirano plavoj svetlosti (400–520 nm), u poređenju sa crvenoj svetlosti (660–730 nm) ili beloj svetlosti. Neke studije su pronašle da u aerobnim uslovima, pored superoksid anjona, lipofuscin je sposoban da generiše i druge vrste slobodnih

radikala uključujući i singletni kiseonik, vodonik peroksid i lipidni hidroperoksid (67, 68). Koristeći lasersku „flash“ fotolizu, pokazano je da i lipofuscin i sintetski fluorofor (A2E) produkuju ekscitirano tkz. „trostruko stanje“ i radikalne vrste sa dužim poluživotom koje mogu da reaguju sa drugim biološki značajnim molekulama kao što su «singletni kiseonik-bazično stanje» ( $^3\text{O}_2$ ) (69). Ova reakcija je primećena pri stvaranju ekscitiranog singletnog kiseonika ( $^1\text{O}_2$ ), za koji se zna da je takođe jak oksidans i oštećujuća vrsta koja može da reaguje sa DNK, proteinima, lipidima, da kompromituje ćelijsku funkciju i doprinosi starenju ćelije. Štaviše, spektar delovanja singletnog kiseonika na stvaranje hidrofobnih komponenata lipofuscina, ukazuju na to da je ta reakcija striktno talasno-zavisna i da se njegova efikasnost smanjuje sa povećanjem talasne dužine za faktor 10, npr. talasna dužina 420 nm u poređenju sa 520 nm (68). Indukcija sinteze reaktivnih kiseoničnih vrsta lipofuscinom, podržava hipotetičku vezu između radijacije svetlosti, staračkih promena u retini i degeneracije retine. Teško je porediti efekat hronično niskog nivoa svetla (manje od  $0,1 \text{ mW/cm}^2$ ), sa kratkim ali intenzivnim ekspozicijama, na sintezu reaktivnih kiseoničnih vrsta od strane lipofuscina. Pod tim uslovima (ekspozicija svetlosti od  $1 \text{ mW/cm}^2$ ) moguće je uraditi sledeću ekstrapolaciju u odnosu na superoksid anjon (66):

- 1) Jedna granula lipofuscina može proizvesti  $8 \times 10^{-19}$  mol superoksid anjona/min;
- 2) S obzrom da je  $1 \text{ mol} = 6.02 \times 10^{23}$  molekula, onda je 1 granula sposobna da proizvede  $4,8 \times 10^5$  molekula superoksida/min; i
- 3) Ako je prosečni volumen ćelije  $2000 \mu\text{m}^3$ , i ako je do 19% tog volumena okupirano granulama lipofuscina (70) veličine  $1 \mu\text{m}$  u dijametru, onda svaka RPE ćelija ima kapacitet sinteze  $3,5 \times 10^8$  superoksid anjona/po ćeliji u minuti.

Ovakvim visokim nivoom sinteze slobodnih radikala može se objasniti zašto RPE ćelije sadrže veliku koncentraciju različitih antioksidanasa (71). Spektralna zavisnost lipofuscina objašnjava takozvani „blue light hazard“ na



retinu. Svetlost talasne dužine od 550 nm ili manje, može da prouzrokuje „aktinska“ ili fotohemijska oštećenja, ali je suviše niska da prouzrokuje i termalne efekte (72). Ove fotohemijske lezije su izražene na nivou RPE, gde je akcioni spektar „plave svetlosti“ sličan širini trake apsorpcionog spektra melanina (73) i lipofuscina (71, 74). Analiza fotoreaktivnosti plavog svetla u sveže izolovanim RPE ćelijama pokazuje visok nivo preuzimanja kiseonika sa porastom starosti donora, i da je taj „foto-uptake“ predominantno vezan za lipofuscin (67). Ove opservacije ukazuju na različitu funkciju lipofuscina u ćelijama koje mogu objasniti vezu između visokih nivoa lipofuscina i AMD-a. RPE ćelije su bogate antioksidansima što može biti dovoljno za detoksikaciju bilo koje reaktivne kiseonične vrste (75). Obrnuto, antioksidansi mogu biti nedovoljni da detoksifikuju sve radikale, tokom života tako da se oksidativno oštećenje može manifestovati nekad u životu (u starosti).

Primećeno je takođe da reakcije fotosenzitivnosti lipofuscina vode do povećane intragranularne lipidne peroksidacije, mereno preko akumulacije lipidnih peroksida i malon-dialdehida u pigmentnim granulama (67, 76). Štaviše, lipofuscin može da vrši ekstracelularnu peroksidaciju lipida i inaktivaciju enzima. Sveže izolovane lipofuscinske granule koje su inkubirane sa vidljivom svrtlošću, indukuju i do 30% porast lipidne peroksidacije, u poređenju sa kontrolom. Inkubacijom granula sa katalazom (antioksidansom) i lizosomalnim enzimima (kisela fosfataza), u prisustvu svetlosti, izaziva čak 30–50 % smanjenje aktivnosti. Lipidna peroksidacija i gubitak enzimske aktivnosti se može prevenirati antioksidansima, što ukazuje na to da je fotooštećenje lipofuscinom proizvod dejstva slobodnih reaktivnih kiseoničnih vrsta. Opšte je prihvaćen stav da poremećaj funkcije RPE ćelija predstavlja rani, krucijalni momenat u patogenezi AMD-a (77, 78). RPE ćelije imaju različitu funkciju od metaboličkih do potpornih i od vitalnog su značaja za fotoreceptore uključujući održavanje hemato-retinalne barijere, učešće u vizualnom ciklusu (preuzimanje, transport, i oslobađanje vitamina A i njegovih metabolita) kao i degradacija i preuzimanje fagocitovanih apikalnih fotoreceptora spoljnjih segmenata (79). Jedan od vodećih faktora disfunkcije RPE ćelija je starosna

fagocitna i metabolička insuficijencija postmitotičkih RPE ćelija, što dovodi do progresivne akumulacije lipofuscinskih granula, koje su uglavnom sastavljene od lipida (~50%) i proteina (~44%), fagosomskog, lizozomskog i fotoreceptorskog porekla (uključujući i transporter retinoida- celularni retinoid vezujući protein (CRALBP). Ove materije iz sastava lipofuscina mogu biti oksidativno modifikovane bilo kao rezultat ekspozicije UV svetlosti ili visokim dozama kiseonika u oku (77, 78). Dobro-poznati citotoksični konstituent lipofuscina je fluorofor bisretinoid, koji se sastoji od 2 retinoidna lanca koji potiču od prstena piridinjuma (A2E) -a koji zajedno sa drugim fotoreaktivnim molekulama, predstavlja snažan fotoinducibilni generator ROS-a sa snažnim uticajem na oksidativno oštećenje lipida, proteina i DNA (77). Mada se produkti lipidne peroksidacije smatraju glavnim supstratima za genezu lipofuscina i njegovih citotoksičnih konstituenata, i drugi identifikovani lipofuscinski proteini imaju značajnu ulogu u citotoksičnosti (78, 79).

### 1.3.3.2. Geneza druza

Druze su amorfni depoziti koji se akumuliraju ekstracelularno u zoni između RPE i unutrašnje kolagene zone Bruchove membrane (80–82). Druze se smatraju markerom (hallmark) AMD-a. Klinički se dele u 2 glavna fenotipa: «mekane i tvrde», zavisno od njihove relativne veličine i oblika (80). Mada, nekoliko manjih tvrdih druza (<65 µm), mogu se naći kod najmanje 95% staračke populacije, tek prisustvo većih druza (>125 µm), a naročito mekih druza (>125–250 µm) u makuli, smatra se glavnim faktorom rizika za razvoj uznapredovale forme AMD-a, tj. eksudativno-neovaskularne forme, a naročito ako su one udružene sa poremećajima pigmentacije.

Senilna degeneracija makule se karakteriše degenerativnim promenama koje obuhvataju spoljnu porciju retine, RPE, Bruch-ovu membranu i horokapilaris. U kasnijem stadijumu AMD-a javljaju se neovaskularizacija, eksudativne promene ili pak disciformni ožiljak u neovaskularnoj formi AMD-

a. U atrofičnoj formi AMD-a javlja se gubitak pigmentnog epitela ili «atenuacija» horokapilarisa ali bez neovaskularizacije (82). Rane patološke promene obuhvataju bazalne depozite u Bruchovoj membrani, koje se isključivo javljaju u patološkim uzorcima, i kojih ima 2 tipa (83); bazalni laminarni depoziti koji se sastoje od proteina bazalne membrane i dugačkih kolagenih niti lociranih između plazme RPE i bazalne membrane i bazalni linearni depoziti koji su specifičniji za rane promene AMD-a, a sastoje se uglavnom od membranskog materijala koji je lociran u Bruchovoj membrani, eksterno od bazalne membrane RPE. Kombinacijom ovih depozita sa sekundarnim promenama RPE, rezultuju formiranjem druzna. Mnoge različite molekule su identifikovane u druzama, uključujući glikokonjugate i druga jedinjenja koja su pronađena i u aterosklerotskom plaku (otuda veza između ateroskleroze i nastanka AMD-a po nekim autorima), uključujući vitronektin, apoprotein B i E,  $\alpha$ -kristalin, komponente komplementa, HtrA1 i lipide (45, 84). Makrofagi su pronađeni u regresionim druzama (85) ukazujući na moguću hipotezu da su makrofagi uključeni u proces razgradnje depozita unutar Bruchove membrane. Aktivisane mikroglije su takođene pronađene u degenerativnim lezijama AMD-a (86). Diskretni noduli ili tvrdi druzni depoziti koji se sastoje od materijala sličnog hijalinu nađeni su između RPE i Bruchove membrane. Mekane druze su obično velike i pojavljuju sa odlepljivanjem RPE ćelija i difuznim promenama Bruchove membrane (87). One se mogu javiti pri dubljim oštećenjima RPE i horoida i dovode do horoidne neovaskularizacije ili ćelijske smrti u RPE i geografične atrofije.

Mikroskopski se geografična atrofija vidi kao abnormalane ćelije RPE sa hipotrofijom, hipertrofijom, hipo ili hiperpigmentacijom, atrofijom, migracijom, gubitkom spoljnjih RPE ćelija, naročito fotoreceptorima, promenama Bruchove membrane i degeneracijom horokapilarisa (82, 88). Ovim promenama su najčešće obuhvaćene RPE ćelije, mada najjače oštećenje trpi nuklearni sloj spoljnje retine, koji gubi i do 77% strukture (89).

Autofluorescentni pigmenti, kao što je lipofuscin, koji se akumuliraju u ćelijama RPE, dostižu takvu veličinu koja često dovodi do smanjenja ćelijske

funkcije, starenja retine i degeneracije, uglavnom u formi geografične atrofije (77). Lipofuscin u sastavu RPE je najčešće uzrok fundusne autofluorescencije. To su sferične čestice mikrometarske veličine sa karakterističnom žutom fluorescencijom kada su eksponirani plavom svetlošću (90). Glavna komponenta lipofuscina je N-retinilidin-N-retiniletanol-amin (A2E), kvaternerni amin i bioprodukt retinoida vizualnog ciklusa (91). Sinteza lipofuscina je jedna patogena reakcija u kojoj, nastali A2E ometa funkciju RPE ćelija i dovodi do njihove apoptoze i nastanka geografične atrofije.

Horoidalna neovaskularizacija može nastati u makularnoj, peripapilarnoj i perifernoj regiji. Rana horoidalna neovaskularizacija dešava se ispod ćelija RPE (92), da bi kasnije probila sloj RPE i razvila eksudativni, hemoragijski ili disciformni oblik AMD-a. U neovaskularnom obliku AMD-a, dolazi do nakupljanja lipida ispod RPE ili neuroretine. U hemoragijskoj formi AMD-a dolazi do probijanja krvi kroz RPE u subretinalni prostor a ponekad kroz retinu do staklastog tela. U disciformnom obliku AMD, fibrozno tkivo sa neovaskularizacijom i promenama RPE ćelija proliferuje i može delimično ili totalno da zameni neuroretinu. Dodatna patološka oštećenja uključuju seroznu eksudaciju, hemoragiju, gliozu i kalcifikaciju. Makrofagi su dokazani i morfološki i funkcionalno u neovaskularnoj formi AMD-a (93, 94). Aktivisani makrofagi i mikroglia mogu sekretovati hemokine i citokine, prouzrokujući dalje ćelijsko oštećenje, degradaciju Bruchove membrane i angiogenezu (95).

### **1.3.3.3. Fotooksidaciona oštećenja u senilnoj makulopatiji**

Retina je tokom života, stalno izložena sunčevoj radijaciji. Plavi deo sunčevog spektra (400–500 nm) ima značajnu ulogu u nastanku oštećenja retine, s obzirom da rožnjača i adultno sočivo apsorbuju veći deo ultraljubičastog zračenja koje dopire do zemljine površine. Retina je dobro vaskularizovana, a kiseonik je u visokoj koncentraciji u arterijskoj krvi, kao i sadržaj lipida i polinezasićenih masnih kiselina u membranama fotoreceptora. Fagocitoza koja se permanentno odvija u ćelijama pigmentnog epitela, takođe

izaziva oksidativna oštećenja. Fotosenzibilizatori koji su prisutni u retini poput lipofuscina, citohrom c oksidaze i rodopsina kao i hemoglobin u krvnim sudovima sposobni su za indukciju oksidativnog stresa (90).

RPE povećava optički kvalitet formiranjem tamnog pigmentnog zida koji pokriva unutrašnji bulbus i koji ima funkciju u apsorpciji difuzne svetlosti. Osim toga RPE ima ulogu u održavanju vizualne funkcije. Svetlost ulazi u oko preko dužice (pupile) i preko sočiva se fokusira na maculi lutei. Spoljnja retina je izložena visokoj koncentraciji (pritisku) kiseonika iz okruženja. Venska krv horiokapilarisa ima saturaciju kiseonika od 90%, dok npr. venska krv u krvnim sudovima retine ima saturaciju kiseonikom od svega 45% (96). Smatra se da retina „pliva“ u horiokapilarisu koji funkcioniše kao ležište (ležaj) krvnih sudova. Ova kombinacija je idealna za fotooksidaciju i konsektivno fotooksidativno oštećenje. Fotooksidativno oštećenje se povećava dejstvom slobodnih radikala koji nastaju fagocitozom fotoreceptora spoljnog segmenta (97). Kao što su opisali Boulton i Dayhaw-Barker (98), RPE ima tri linije odbrane od ovih štetnih efekata i od toksina. Prva linija odbrane je apsorpcija i filtriranje svetlosti. Iz tih razloga, RPE ima raznovrsne pigmente koji su specijalizovani za različite talasne dužine (99). Uopšteno, svetlo se apsorbuje preko melanina u melanosomima. Ovo je potpomognuto dodatnom apsorpcijom svetlosti preko fotoreceptora. Fotoreceptori sadrže najznačajnije pigmente: lutein i zeaksantin (100, 101). Ovi pigmenti čine određenu vrstu „prirodnih naočara za sunce“ koji apsorbuju „plavo svetlo“ (99) i time čine prvu liniju antioksidativne zaštite. Plavo svetlo je najopasnije za RPE ćelije zato što inicira foto-oksidaciju komponenata lipofuscina u toksične supstance (102). Ekspozicija retine UV svetlosti je malo s obzirom da sočivo apsorbuje veći deo UV svetlosti. Melanosi i drugi pigmenti koji apsorbuju plavu svetlost odgovorni su za apsorpciju oko 60% svetlosne energije (103). Jedan od ovih pigmenata je lipofuscin, koji se akumulira u RPE ćelijama tokom života (104). Kao apsorbujući pigment, lipofuscin je koristan za vid, ali tokom starenja, koncentracija lipofuscina raste do toksičnih koncentracija za RPE. Drugu liniju odbrane čine antioksidansi. RPE sadrži i enzimske antioksidanse: npr visoku aktivnost SOD i katalaze (97), dok kao neenzimske antioksidanse RPE sadrži

karotenoide kao što su lutein i zeaksantin (99), askorbat,  $\alpha$ -tokoferol i  $\beta$ -karoten (105) ali i glutation i melanin. Treća linija odbrane je zapravo sposobost ćelija da repariraju nastalo oksidativno oštećenje DNK, lipida i proteina.

Neravnoteža između protektivnih i toksičnih faktora zajedno sa starenjem dovode do degeneracije retine. Povećanje oksidativnog stresa zbog smanjenja protektivnih mehanizama ili povećanjem broja i koncentracije fotooksidativnih vrsta se danas smatra značajnim u patogenezi AMD-a (98). Početna tačka je akumulacija lipofuscina u RPE ćelijama (104). Nastanak ovih promena se zasnivaju na staračkim promenama u RPE, što podrazumeva smanjenje gustine RPE ćelija, dok epitelni sloj ostaje intaktan (106). Smanjenje ćelijske gustine nastaje apoptozom, što je uzrokovano akumulacijom toksičnih supstanci. Ovo može da bude ubrzano smanjenjem koncentracije  $\alpha$ -tokoferola sa starenjem. Promene pigmentacije tokom starenja mogu takođe biti značajne promene za nastanak AMD-a. Ove promene uključuju i smanjenje melanosoma kao i povećanje granula lipofuscina, a mogu se naći i druge vrste pigmentisanih organela. To su melanolizozomi koji predstavljaju proizvod degradacije melanina i granule melanolipofuscina koji su znak nakupljanja lipofuscina u melanosomima. Povećanje sadržaja slobodnih radikala destabilizuje komponente intracelularne membrane kao što su lizozomi i mitohondrije. Ovo dovodi do smanjenja metaboličke efikasnosti što se odražava na povećanu produkciju lipofuscina i RKV. Objavljeno je da oksidativni stres dovodi do povećane akumulacije AGE proizvoda (Advanced Glycosylated End Products) u Bruchovoj membrani, koji su značajni za indukciju horoidalne neovaskularizacije (CNV). Novo neovaskularno tkivo sadrži visoke koncentracije AGE i aktivnih receptora za AGE (RAGE) koji su eksprimisani u RPE ćelijama (107). RPE ćelije mogu da sekretuju vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) koji je glavni angiogeni faktor u CNV, kao odgovor na povećanu koncentraciju AGE (slika 10) (108). Značajan konstituent lipofuscina nastaje iz nesposobnosti konverzije all-trans-retinola u 11-cis-retinal (109). Značajan izvor prekursora ovih komponenti su fotoreceptori spoljnjih segmenata. Ovaj prekursor ulazi u RPE ćelije putem fagocitoze fotoreceptora spoljne membrane. Rezultujuće jedinjenje: N-retinil-N-retinildien-etanolamin 2-(2,6-dimetil-8-(2,6,6-

trimetil-1-cikloheksen-1-il) -1E, 3E, 5E, 7E-oktiletetraenil]-1-(2-hidroksietil)-4-[4-metil-6-(2,6,6-trimetil] ili A2E, povećava osetljivost RPE prema plavoj svetlosti i takođe ima nekoliko toksičnih efekata na RPE ćelije (109, 110). Vezivanjem za kiseonik A2E se konvertuje u A2E-epoksid, dejstvom svetlosti  $\lambda=430$  nm. U tim slučajevima, kiseonik reaguje sa  $-C=C-$  (dvostrukom vezom A2E) stvarajući epoksid. A2E ima toksičan efekat na RPE samo kad je eksponiran plavoj svetlosti. Aktivna komponenta može da destabilizuje membrane mitohondrija i lizozoma (111). Osim toga A2E može inhibirati citohrom oksidazu što dovodi do prekida toka elektrona u respiratornom lancu (112). Ovaj proces, osim što produkuje više RKV, smanjuje efikasnost energetskog metabolizma. Alternativni toksični put A2E je opisano Finnemann (113), koji je u studiji sa A2E-laden RPE ćelijama dokazao destabilizovane lizosome, ali ćelije nisu uspele da završe digestiju fagocitovanih fotoreceptora spoljnjih segmenata za 24 h. S obzirom da je fagocitoza cirkadijalno regulisani proces, ovo će konstantno povećati ne-degradirane fosfolipide koji predstavljaju izvor RKV-a. Destabilizacija mitohondrija i nekompletna digestija lipida i proteina izazvano destabilisanjem lizozoma vode ka povećanju akumulacije RKV-a i slobodnih radikala. U zatvorenom krugu ovaj mehanizam nadalje destabilizuje RPE ćelije, dovodeći do gubitka RPE ćelija što dovodi do početka stvaranja druza (114). Ovi depoziti sadrže metaboličke krajnje proizvode kao što su lipoproteini i druge hidrofobne materije, što može biti posledica nekompletne degradacije metaboličkih krajnjih proizvoda iz fotoreceptora i RPE ćelija. Detaljnija analiza proteinskog sastava druza vode do raznih alternativnih teorija o formiranju nastanku druza (115). Po jednoj teoriji, stvaranje druza, počinje sa gubitkom RPE ćelija koje su otklonjenje kao posledica neke inflamacije. Rezultujući „gap“ u epitelnoj barijeri nastaje kao posledica sekrecije novog ekstracelularnog matriksa od strane RPE ćelija (116). Glavna komponenta matriksa je vitronektin (117). Teorija je podržana detektovanjem aktivnih dendritskih ćelija i aktivnih komponenti u sastav sistema komplementa druza (118). Hidrofobne materije

kao i lipoproteini mogu biti debri koji je nastao kao posledica nekompletne ćelijske degradacije. Krajnji stadijum bolesti je Geografska atrofija ili gubitak RPE i fotoreceptora u većoj površini ili pak CNV sa posledičnim intraokularnim krvarenjem i formiranjem disciformnih ožiljaka (114).

#### **1.3.3.4. Inflamacija u patogenezi senilne degeneracije makule (AMD)**

Neki autori smatraju da je AMD multifaktorijalna neurodegenerativna bolest, a da manifestacija bolesti predstavlja rezultat interakcije različitih genetskih i spoljnih (ekoloških) faktora. Različiti ćelijski procesi su uključeni u patogenezu AMD-a, uključujući oksidativni stres, povišene vrednosti holesterola, inflamatorni procesi i/ili poremećena funkcija RPE.

Na osnovu prisustva proteina imunog odgovora u druzama, koji su nađeni «postmortem», u retini pacijenata sa AMD-om, Hageman sa sar. je bio prvi autor koji je ukazao na vezu između AMD-a i inflamacije (116, 117). S obzirom da je povezanost i uticaj imunoregulatornih molekula na AMD, dokumentovan u genetskim studijama, one su prve koje su ukazale na jaku povezanost AMD i različitih varijanti komplementnog faktora H (119). Tako je npr. dokazana povezanost između nastanka AMD-a i varijacija komponenata komplementa C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> i faktora komplementa B (120), kao i receptora 1 za hemokine (CX3CR1), Toll-like receptora 1 (TLR4) i gena za glavni histokompatibilni kompleks klase 1 (major histocompatibility complex class 1 (HLA) genes) (121, 122).

Goverdhan i sar. (122) su pronašli vezu između AMD-a i genetskih varijanti za 4 citokina uključujući gen za pro-inflamatorni leukin-IL-1b, IL-6, IL-8 i anti-inflamatorni leukin IL-10. Oni su ukazali na činjenicu da je alel 251A promotera IL-8 prevalentniji u AMD bolesnika nego u kontrolnim slučajevima (p=0,037). IL-8 je snažan hemoatraktant i aktivator neutrofila, uključen u inicijaciju i amplifikaciju akutne reakcije inflamacije kao i u hroničnim inflamatornim procesima. Sintetiše se u različitim vrstama ćelija kao što su



makrofagi, neutrofil i endotelne ćelije kao odgovor na inflamatorne stimulse. Povezanost između polimorfizma «single-nukleotida» rs4073 i raznih inflamatornih, gastričnih i neurodegenerativnih bolesti koje su već dokazane ranijim radovima, utiče i na povećanu produkciju IL-8 «in vivo». U patogenezi AMD-a, kao odgovor na dejstvo slobodnih radikala u fotoreceptorima spoljnjih segmenata retine ili kao odgovor na povećano inflamatorno oštećenje dolazi do povećane sekrecije IL-8 i monocitnog hemotaktičnog proteina-1 iz RPE ćelija (124). Neki autori tvrde da čak i mali porast sekrecije IL-8 u osoba sa polimorfizmom rs4073 može ubrzati oštećenje RPE i progresiju AMD-a.

Smatra se da starosne promene udružene sa fotooksidativnim stresom u fotoreceptorima i RPE ćelijama predstavljaju inicijalnu kapislu u nastanku makulopatija, u kojima je ćelijsko oštećenje pojačano dejstvom inflamatorno-imunog odgovora (slika 7). Stoga, preosetljivost genetskih varijanti u modulisanju stresnog i inflamatornog odgovora utiču na kliničku sliku AMD-a. CFH i okolni geni regulišu put komplementa tako što deluju kao promotori C<sub>3</sub> konvertaze i kao kofaktor faktora 1-proteolize C<sub>3b</sub> komponente komplementa. Štaviše, koncentracija C-reaktivog proteina (CRP), jednog sistemskog markera subkliničke inflamacije je povećana u oku kod homozigota jedne od CFH varijanti Y402H (120). Nedavni radovi ukazali su na asocijaciju «single-nucleotide» polimorfizma (SNP) Y402H gena za faktor H komponente komplementa (CFH), što je i potvrđeno u 3 kliničke studije (125) i u jednoj populacionoj studiji (126). Faktor H komplementa (CFH) je osnovni regulator sistema komplementa. On aktivira C<sub>3b</sub> komponentu komplementa i deluje kao inhibitor aktivacije alternativnog puta aktivacije komplemeta (127). Ovaj SN polimorfizam je lokalizovan u regiji koja sadrži vezivna mesta za heparin i CRP. Vezivanjem za CRP, CFH inhibira CRP-zavisni alternativni put aktivacije komplementa koje nastaje usled oštećenja tkiva (127). Neki su autori sugerisali da specifične alelne promene u aktivnosti vezujućih mesta za heparin i CRP modifikuju protektivno dejstvo faktora CFH (128). Smatra se da ove promene na CFH, mogu dovesti do oštećenja horoidnih kapilara u oku i pojave AMD-a. Nedavno objavljeni radovi ukazali su na jače vezivanje faktora CFH na denaturisani CRP u odnosu na ne-denaturisani (129).

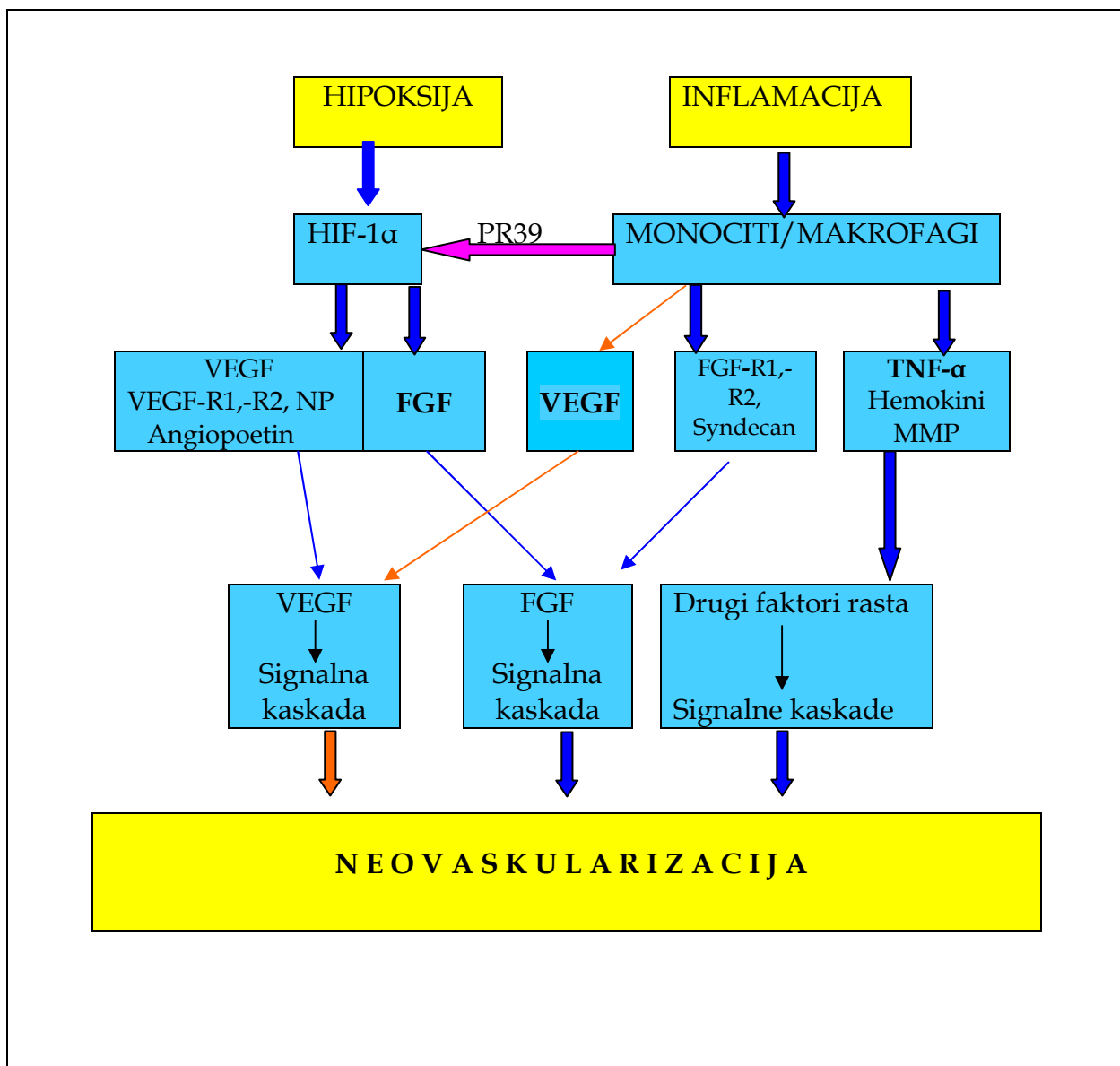
Po nekim autorima, postoji mogućnost da perzistentna hronična inflamacija koja nastaje kao proizvod smanjene aktivnosti komplementa može da nastane kod onih osoba sa SN polimorfizmom Y402H CFH-a, i da ovo pro-inflamatorno stanje u većoj meri (nego samo vezivanje CFH za CRP) može dovesti do akumulacije CRP-a u retini i pojave AMD-a. Alternativno, s druge strane, uloga CFH-a u AMD-u može biti potpuno nezavisna od CRP-a. U svakom slučaju, dalje istraživanje ovog problema je itekako neophodno.

Deangelis sa saradnicima (130) je pokazao da postoji jasan genetski uticaj na pojavu AMD-a i da su genski lokusi 1q33CFH i 10q26 (PLEKHA<sub>1</sub>/ARMS<sub>2</sub>/HTRA<sub>1</sub>) snažno asocirani sa pojavom AMD-a, ali pojedinačne genske varijacije ovih regija nisu mogle da predvide razvoj bolesti sa visokom tačnošću.

Lederman sa sar. (131) je dokazao da pojava neovaskularne forme AMD-a (vlažne forme) je bila asocirana sa pojavom poremećene genske ekspresije, dokazane u leukocitima periferne venske krvi nezavisno od pojave SNP CFH, i ukazao na mogućnost korišćenja i dokazivanja postojanja ovakve poremećene ekspresije gena (alela) kao biomarker bolesti. Nedavne studije su ukazale na povezanost mutacije gena za proteine lektinskog puta aktivacije komplementa koji predstavlja jedan novo-otkriveni put aktivacije komplementa i pretpostavlja se da ima centralnu ulogu u nasleđenom imunom sistemu (132).

Dokazano je da IL-10 reguliše funkciju makrofaga i utiče na procese angiogeneze kod starijih miševa, što ukazuje na sinergističko delovanje procesa inflamacije, starenja i razvoja bolesti (133).

Uzimajući u obzir sve gore navedeno, dolazi se do zaključka da inflamatorno-imuni odgovor može ubrzati progresiju makulopatije u slučajevima kada već postoji jasna izražena klinička slika bolesti u obliku horoidalne neovaskularizacije i geografične atrofije.



**Slika 7:** Mogući mehanizam pomoću kojeg hipoksija i inflamacija dovode do neovaskularizacije

(Slika preuzeta iz: Nowak JZ. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy. *Pharmacological Reports* 2006;58:353 – 63)

### 1.3.3.5. Kliničke forme senilne degeneracije makule

Donders je 1855. godine, uveo naziv "druze" za brojne, male, žučkasto-beličaste promene koje se vide u retini starijih osoba, jer su mu nalikovale žlezdanim strukturama. Nalaz tkz. mekih, velikih druza, sa lako nejasnim granicama na zadnjem polu retine ima klinički značaj koji upućuje na razvoj staračke degeneracije makule. Zapravo, postoje 2 tipa patoloških promena koje se klinički opisuju kao meke druze. Radi se o amorfnim ekstracelularnim depozitima lociranim između zadebljanog, odvojenog unutrašnjeg dela Bruchove membrane i njenih ostalih slojeva ili o delovima hipopigmentovanog epitela retine zadebljale Bruchove membrane.

Meke druze smatraju se inicijalnim promenama u senilnoj makulopatiji. Druze u formi depozita sadrže različitu količinu lipida i imaju fluorescentne karakteristike. Pretpostavlja se da vode poreklo od membrana ćelijskih struktura pigmentnog epitela retine. Sadržaj proteina je veoma raznovrstan, a nalaz niza produkata oksidativnog oštećenja ukazuje na fotodinamsko oštećenje. Prema Colemanu i sar (82) postoje 3 kategorije AMD:

1. *Rana AMD* je forma bolesti u kojoj se mogu videti veći broj malih druza, <65  $\mu\text{m}$  u promeru, ili druze srednje veličine (65–125  $\mu\text{m}$ ) ali bez kliničkih znakova bolesti;
2. *Intermedijerna AMD*, sa velikim druzama (>125  $\mu\text{m}$ ), takođe bez znakova bolesti; i
3. *Uznapredovala AMD* koja postoji u formi tkz. geografske ili pak neovaskularne AMD.

Geografična atrofija označava prisustvo diskretne zone retinalne depigmentacije, najmanje 175  $\mu\text{m}$  u promeru, sa jasnom granicom i vidljivim horoidalnim krvnim sudovima i odsustvom neovaskularizacije u istom oku. Geografska atrofija je rezultat kontinuiranog gubitka RPE sa razvojem eventualnih fokalnih zona sa potpunim gubitkom retine, RPE ćelija i manjih

krvnih sudova ispod epitela. Geografska ili areolarna atrofija pigmentnog epitela retine klinički se raspoznaje kao ovalna, pojedinačna ili konfluentna područja atrofije pigmentnog sloja u kojima je vidljiva horoidalna cirkulacija. Nastaje konfluiranjem druzi i kasnijom distrofičnom kalcifikacijom (kalcifikovane druze) ili njihovom zamenom vezivnim tkivima. Proces se karakteristično dugo odvija ekstrafovealno i okružuje centar u vidu potkovic. Iznad ovih promena, pigmentni epitel retine kao i neuroepitelni elementi iščezavaju.



**Slika 8:** Suva degeneracija makule (žute pege) s mekim druzama i atrofičnim promenama retinalnog pigmentnog epitela tzv. "geografska atrofija".

Neovaskularna AMD se karakteriše brojnim hemoragijama, bilo u RPE ili u senzornoj retini, prisustvom subretinalnog fibroznog tkiva ili minimalnog subretinalnog fibroznog tkiva. Ova forma AMD-a je najčešći veoma ozbiljni uzrok gubitka centralnog vida.



**Slika 9:** Tvrde druze u makularnom području kao početni znaci makularne degeneracije

Osobe koje imaju meke druze i fokalnu hiperpigmentaciju imaju najveći rizik za razvoj horoidalne neovaskularizacije. Procenjuje se da će 60% osoba sa takvim promenama razviti eksudativnu formu senilne makulopatije tokom narednih 5 godina (134).



**Slika 10:** Vlažna degeneracija makule (žute mrlje) s krvarenjima i edemom

(Slike 8, 9 i 10 preuzete iz: O'Shea JG. *Age-related macular degeneration. Postgrad Med J* 1998;74:203 – 7)

Značajan gubitak vida dešava se upravo kod osoba koje razvijaju horoidalnu neovaskularizaciju. Veći broj hipoteza pokušava da objasni nastanak disciformnog ožiljka, a svaka ima i svoje eksperimentalne potvrde. Usled inicijalnih rascepa zadebljane Bruchove membrane fibrovaskularno tkivo iz horoidee urasta i odiže retinu; endotelne ćelije kapilara horiokapilarisa uz pomoć svojih enzima, razlažu Bruchovu membranu i stvaraju pukotine u njoj; povećani skleralni rigiditet kompromituje vensku cirkulaciju i predisponira nastanku fibrovaskularnog kompleksa; nedostatak u elementima antioksidativne zaštite i pojačan oksidativni stres oštećuju različite elemente i provociraju nastanak degeneracije; nalaz inflamatornih ćelija u fibrovaskularnoj subretinalnoj membrani ukazuje na hroničnu inflamaciju kao mogući uzrok nastanka senilne makulopatije (45). Okultna i klasična neovaskularna membrana vode ka seroznoj ili hemoragičnoj ablaciji pigmentnog epitela retine, hemoragijama u retini i eventualno staklastom telu i formiranju ožiljka na zadnjem polu retine.

Zbog značajnog gubitka vida koji vodi ka trajnom slepilu, pacijenti sa rizikom za razvoj neovaskularizacije se prate i tretiraju na odgovarajući način, a terapijski modaliteti imaju ograničen uspeh.

#### 1.3.4. FAKTORI RIZIKA ZA NASTANAK SENILNE DEGENERACIJE MAKULE

*Starost* je najznačajniji faktor rizika za nastanak AMD-a. Prevalenca raste sa godinama starosti medju pripadnicima bele rase. *Žene* starije od 75 godina imaju dva puta veći rizik za nastanak AMD-a i to neovaskularne forme u odnosu na muškarce iste dobne starosti. *Pušenje* je takođe značajan faktor rizika za nastanak AMD-a. U ranijim studijama potvrđena je veza između nastanka AMD-a i broja popušanih cigareta. AMD se češće javlja kod osoba *bele rase* u odnosu na druge rase (82).

*Katarakta* je po nekim autorima faktor rizika za nastanak i razvoj senilne makulopatije, nezavisno od njenog tipa (135). Iako ove analize polaze od koncepta da je senilna degeneracija makule manifestacija generalizovane ateroskleroze, rezultati nisu uvek konzistentni.

Pojačan oksidativni stres u kombinaciji sa smanjenom antioksidativnom zaštitom, (što se inače javlja kod starijih ljudi) je takođe faktor rizika za nastanak AMD-a. Azot monoksid koji je jedan od najzastupljenijih slobodnih radikala u organizmu, pojavljuje se u značajno većim koncentracijama u plazmi bolesnika sa AMD-om u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika istih dobnih i polnih karakteristika. Intenzitet lipidne peroksidacije je takođe značajno veći u istoj patološkoj grupi. Nalaz većih koncentracija oksidativno modifikovanih proteina, enzima i lipida u druzama u sklopu makulopatije potvrđuju ulogu oksidativnog oštećenja u njenoj genezi (136).

Veći broj epidemioloških studija imalo je za cilj ispitivanje uticaja sunčevog zračenja na nastanak senilne degeneracije makule. Jedan broj studija ne nalazi uzročno-posledičnu vezu između profesionalnog, rekreativnog ili boravišnog izlaganja suncu i pojave AMD-a, dok su pak, druge studije potvrdile povezanost ova dva elementa (137). Oksidativni i fotooksidativni stres imaju kumulativna svojstva, a parametri koji se odnose na stepen oksidativnog oštećenja i antioksidativne zaštite variraju tokom života jedinke odnosno grupe koja se nalazi na ispitivanom području sa određenim klimatskim, solarnim i drugim ambijentalnim karakteristikama. Jedan određeni broj studija je pokazao da postoji veza između količine apsorbovane „plave svetlosti“ („blue light hazard“) ili vidljivog dela spektra i ubrzanog razvoja AMD u kasnijem dobu (137). Studija „Pathologies Oculaires Liees a l`Age“ je pokazala da osobe koje nose naočare za sunce su manje razvijale meke druze (102), dok je „Beaver dam Study“ pokazala da osobe koje vole da se sunčaju imaju povećan rizik za nastanak AMD-a (138).

Eksperimenti novijeg datuma sprovedeni na transgenskim miševima, ukazuju na to da angiogeneza nastaje usled remećenja balansa između produkcije faktora njene stimulacije i inhibicije. Vaskularni endotelijalni faktor



rasta A (VEGF) ima sposobnost promocije angiogeneze. Njegov supresor-PEDF (Pigment Epithelium-Derived Factor), antiangiogenetski faktor koji potiče iz pigmentnog epitela, može biti suprimiran dejstvom oksidativnog stresa i to još na nivou genetske regulacije njegove sinteze (139). Disbalans ova dva faktora može izazvati horoidalnu neovaskularizaciju kod eksperimentalnih životinja kao i kod humanih retina (140).

Nedavne studije su pokazale povezanost između AMD-a i *komplementarnog faktora H*, integralne komponente alternativnog puta aktivacije komplementa (119). Sistem komplementa igra značajnu ulogu u nastanku AMD-a, s obzirom da je još ranije utvrđeno da faktor B i komponente C<sub>2</sub> i C<sub>3</sub> imaju uticaja na nastanak AMD-a (120). Ovo ukazuje na inflamatorni koncept bolesti.

*Genetska komponenta* bolesti se ogleda i u alelnoj distribuciji gena za HtrA1 (High temperature requirement faktor A1) koji je lociran na hromozomu 10q26. Moguće je da varijacije ovog proteina i komplementarnog faktora H utiču na patogenezu bolesti, preko efekta na prekursore tj. družu i promene RPE ćelija ili Bruch-ove membrane.

Dosadašnje studije su pokazale da kardiovaskularni faktori rizika, kao što su: arterijska hipertenzija (HTA), povećan ukupni holesterol, snižen HDL holesterol, povećan BMI, i prisustvo drugih kardiovaskularnih bolesti nisu uvek u sprezi sa AMD-om. Povećan HDL holesterol smanjuje rizik za nastanak AMD, dok su pak druge studije pokazale direktnu asocijaciju između koncentracije plazmalnog holesterola i AMD-a, kao i vezu između unetih masnoća iz hrane i AMD-a. Hipertenzija po nekim nema direktne veze sa nastankom AMD-a (141).

Rotterdam studija je pokazala da osobe koje uzimaju  $\beta$ -karoten, vitamine C i E i zink preko hrane imaju manji rizik za nastanak AMD-a u starijem dobu u odnosu na osobe koje ne uzimaju *vitaminsku suplementaciju*. Dosadašnje multicentrične studije su pokazale da uzimanje suplemenata koji sadrže visoke koncentracije antioksidanasa i minerala smanjuju progresiju AMD-a.

Slične rezultate su dale i studije koje su ispitivale uticaj luteina i zeaksantina iz zelenog povrća (142) na progresiju AMD-a.

*Polinezasićene masne kiseline* (dokoheksanoična i eikosapentanoična kiselina) su snažni regulatori preživljavanja, inflamacije i energetskog balansa retinalnih ćelija. Glavni izvor ovih  $\omega$ -3 masnih kiselina su morske ribe. Dokumentovan je smanjen rizik za AMD među osobama koje konzumiraju više ribe u ishrani, naročito ako je to povezano sa smanjenim unosom linoleinske kiseline. Studija Blue Mountains Eye je pokazala da osobe koje jedu ribu 3 puta nedeljno imaju mali rizik od nastanka AMD-a (143).

*Svetla boja dužice* kod osoba bele rase, takođe spada u faktor rizika za AMD.

#### **1.3.4.1. Mogući mehanizmi nastanka AMD-a**

Faktor rizika za nastanak AMD-a može biti i *povećana sinteza kolagena* u horiokapilarisu, koji se zatim inkorporira u Bruchovu membranu, stvarajući zadebljanja koja prethode pojavi linearnih depozita (35). Hromatografska analiza druzi je pokazala da su u njima prisutni više od stotinu različitih proteina, čije poreklo vode od ćelija pigmentnog epitela retine, neuronalne retine i od horiokapilarisa. Međutim, njihov sastav se razlikuje u zavisnosti od postojanja tj. odsustvovanja AMD-a. Smatra se da pojedini sastojci mogu da promovišu angiogenezu. Integritet ćelijskih struktura RPE u kulturi koja je hronično izložena oksidativnom stresu, dejstvom vodonik peroksida biva narušen usled prekida međućelijskih spojeva. To je jedan od mogućih mehanizama prekida hemoretinalne barijere u patogenezi AMD-a (116, 137). Drugi mogući mehanizam nastaje jeste usled porasta sinteze faktora rasta od strane RPE ćelija kao odgovor na metabolički stres izazvan promenama u Bruchovoj membrani ili u horiokapilarisu (144).

Programirana ćelijska smrt (apoptoza) je suštinski zaštitni mehanizam organizma od nakupljanja i širenja oštećenih ili nepotrebnih ćelija. U većini

populacija ćelija koje stare zapaža se povišen stepen apoptoze. Slično se dešava i u RPE ćelijama.

Postoji mišljenje da mitohondrije imaju ključnu ulogu u regulaciji apoptoze. Reaktivni metaboliti kiseonika koji se stvaraju u ćelijama RPE izloženim plavom delu spektra imaju poreklo upravo u mitohondrijalnim procesima (145). Oksidativni stres može sniziti osetljivost senescentnih ćelija na apoptozu putem defektne oksidativne fosforilacije. Proces formiranja druza, u mnogome odgovara apoptotičnim procesima u retini i predisponira razvoju neovaskularizacije tokom progresije AMD-a (146).

U postmitotičkim tkivima, tokom starenja, mitohondrije trpe i akumuliraju oksidativno modifikovane i oštećene mitohondrijalne DNK. Smatra se da je upravo njihov genetski materijal glavni supstrat oksidativnog oštećenja u pigmentnom epitelu retine. Vodonik peroksid u ćelijskim kulturama oštećuje mitohondrijalnu DNK pre nego nuklearnu. Uz neefikasnu reparaciju oštećenja, vremenom dolazi do kompromitovanja redoks kapaciteta mitohondrija humanih RPE ćelija retine i u fotoreceptorima (147).

Osim oštećenja gena koji regulišu apoptozu i ćelijski ciklus, uz sintezu 8-OHdG, 8-epi IsoP, i MDA; vodonik peroksid, 4-HNE, i tercijarni-butilhidroperoksid oštećuju gene koji regulišu signalnu transdukciju i interćelijsku komunikaciju i regulaciju transkripcije u kulturi ćelija RPE (148).

Prisustvo inflamatornih ćelija u subretinalnoj neovaskularnoj membrani može imati višestruki značaj za genezu senilne makulopatije. Oksidativni stres je faktor koji objedinjuje više aktuelnih hipoteza o genezi AMD-a. S obzirom na značajnu ulogu polimorfonukleara i fagocitoze kao izvora oksidativnog stresa i oštećenja bioloških makromolekula, to predstavlja još jedan značajan faktor geneze AMD-a (149).

### 1.3.5. ANTIOKSIDATIVNA ZAŠTITA MAKULARNE REGIJE

Antioksidativni kapacitet u pigmentnom epitelu retine imaju melanin i makularni pigment sastavljen od karotenoida luteina i zeaksantina koji imaju sposobnost filtracije svetla («prirodne naočare za sunce»). Oni deluju kao čistači “scavengeri” singletnog kiseonika i kao suzbijači triplet stanja fotosenzibilizatora u fotooksidativnom stresu i usporavaju peroksidaciju membranskih fosfolipida (150, 151).

Visoki plazmatski nivo luteina i zeaksantina udruženi su sa smanjenim rizikom za razvoj senilne makulopatije. Optička gustina pigmenata čepića osetljivih na zrake duge i srednje talasne dužine snižena je kod pacijenata sa početnom makulopatijom, nezavisno od vidne oštrine. U prilog antioksidativne zaštite luteina govore i istraživanja u kojima je rađena suplementacija luteinom i koja je pokazala dobre rezultate, a preparati koji ga sadrže uveliko se nalaze u širokoj upotrebi (152).

Melatonin je veoma potentan i efikasan “čistač” slobodnih radikala. Pinealni indolamin reaguje sa visoko toksičnim hidroksilnim radikalom i štiti na taj način sve ćelijske biomolekule u svim ćelijskim kompartmanima. Smatra se da se melatonin delom sintetiše i u retini. Melatonin je široko rasprostranjen u živom svetu, poseduju ga veliki broj organizama, počevši od algi. Spada u grupu neenzimskih čistača hidroksilnog radikala, te prema tome deluje u prevenciji oksidativnih oštećenja. Starenje i pojava bolesti čestih u senijumu kod eksperimentalnih životinja odlažu se administracijom melatonina (153).

Oslobađanje ekscitatornih aminokiselina poput glutamata povećava endogenu sintezu hidroksilnog radikala. Aktivacijom glutamatskih receptora suprimira se sinteza melatonina i smanjuje se detoksidacioni kapacitet za slobodne radikale, dok, magnezijum može da stimuliše produkciju melatonina. Endogeni cirkadijalni i egzogeni diurnalni ritam sekrecije melatonina utiču na aktivnost antioksidativnih enzima i antioksidanasa malih molekulskih masa. Aktivnost glutation peroksidaze i glutation reduktaze kod sisara i ptica prate ritam melatonina.

Melatonin kontroliše i oksidacione procese putem visokog afiniteta za vezivanje za citosolnu hinon reduktazu 2. Neki smatraju da melatonin ima sposobnost prevencije sinteze slobodnih radikala u mitohondrijama, dok na nivou pigmentnog epitela retine značajno redukuje oštećenja mitohondrijalne DNK izazvano vodonik peroksidom (153).

Koncentracija Cu,Zn-superoksid dizmutaze raste a katalaze opada u citoplazmi i lizozomima RPE i u makularnoj regiji starih osoba sa senilnom degeneracijom makule (154). Koncentracija hem oksigenaza 1 i 2 u lizozomima istih ćelija opada sa starenjem, a naročito kod postojanja subretinalne neovaskularne membrane. U ćelijama pigmentnog epitela retine nije detektovana glutation peroksidaza (155). Međutim, oksidativni stres se ne odvija samo na lokalnom nivou. Aktivnost SOD i GPx u eritrocitima i plazmi osoba sa senilnom degeneracijom makule značajno su niže nego kod osoba iz kontrolne grupe. Razlika je visoko značajna i između ispitanika sa početnim i razvijenim formama senilne degeneracije. Aktivnost eritrocitne katalaze ne pokazuje razliku između ispitanih grupa (155). Osim što potvrđuju ulogu oksidativnog stresa u genezi makulopatije, ovi nalazi sugerišu da se radi o sistemskim degenerativnim procesima, pre nego što reflektuju lokalne promene u makuli organizma.

Kalorijska restrikcija može da usporava razvoj senilne makulopatije kod eksperimentalnih životinja (156). Smatra se da smanjen unos kalorija štedi antioksidativne kapacitete.

U eksperimentalnim studijama glutation se pokazao kao značajan antioksidans u prevenciji senilne makulopatije. Fotooksidacioni stres indukovao u ćelijama pigmentnog epitela, dejstvom plave svetlosti uz dovoljnu koncentraciju kiseonika ili specifičnim prooksidansima, znatno je smanjen u prisustvu GSH (157).

Kod eksperimentalnih životinja fotooksidacioni stres suprimira i sintezu endogenog retinalnog antioksidansa metalotioneina (158).

### 1.3.6. ANTIOKSIDATIVNI SUPLEMENTI U PREVENCIJI AMD-a

Uzimanje multivitaminiskih preparata često u mega dozama, karakteristika je savremenog i dinamičnog čoveka izloženog stresu, a željnog dobrog zdravlja i dugog i kvalitetnog života. Na svetskom i domaćem tržištu postoji niz preparata koji nude specifičnu kombinaciju visokih doza vitamina sa antioksidativnim dejstvom u cilju prevencije razvoja bolesti i starenja.

Nedostatak vitamina sa antioksidativnim svojstvima, kod eksperimentalnih životinja vodi ka pojačanoj fototoksičnoj osetljivosti retine. Rezultati su najupečatljiviji kad se radi o vitaminima C i E , a odnose se u izvesnoj meri i na  $\beta$ -karoten (159).

S obzirom na učešće u građi i funkciji antioksidativnih enzima i njihov visok sadržaj u normalnom retinalnom pigmentnom epitelu, cink i bakar su već dugo u fokusu interesovanja istraživača koji se bave ovom problematikom. Dobijeni rezultati suplementacije sa preparatima koji sadrže samo pojedinačne elemente nisu bili zadovoljavajući. U „case-control“ studijama sa malim, ali i velikim uzorcima, nisu detektovane značajne razlike u serumskim koncentracijama antioksidantnih enzima između bolesnika sa senilnom makulopatijom i kontrolnih ispitanika. Praćenje efekata vitamina E je vršeno preko smanjenja stepena lipidne peroksidacije, određivanjem sekundarnih proizvoda lipidne peroksidacije kao što su MDA i 8-epi IsoP (160). Višemesečni unos namirnica bogatih vitaminom A biljnog i životinjskog porekla pokazalo je takođe protektivnu funkciju. Specifični karotenoidi poput luteina i zeaksantina koji se nalaze u tamno zelenom lisnatom povrću najznačajnije redukuje rizik progresije uznapredovale senilne makulopatije. Karotenoid likopen, poznat sastojak paradajza, pojavljuje se u znatno nižoj koncentraciji kod pacijenata sa senilnom makulopatijom bez obzira na stadijum progresije (161).

Studija za izučavanje bolesti oka vezanih za starenje (Age-Related Eye Disease Study-AREDS) jedna je od poslednjih, visoko rangiranih i najčešće navedenih studija, koja se bavila faktorima rizika za nastanak bolesti oka vezanih za starenje, a između ostalog i problematikom suplementacije vezano

za senilnu kataraktu i senilnu makulopatiju. Tokom protekle decenije šestogodišnje praćenje gotovo četiri hiljade ispitanika sa promenama na retini u 11 kliničkih centara dalo je rezultate koje podržavaju suplementaciju vitaminima i mikroelementima u ovoj grupi, za razliku od pacijenata sa kataraktom (161, 162). Preporuka je da pacijenti sa ekstenzivnim srednje velikim i pojedinačnim ili brojnim velikim druzama, geografskom atrofijom i uznapređovalom degeneracijom treba da koriste dodatke sa kombinovanim visokim dozama antioksidantnih vitamina (vit C, E i  $\beta$ -karotenoid) uz cink u formi ZnO ukoliko nema nekih kontraindikacija (npr. pušenje). Navedena kombinacija u preporučenim dozama smatra se najpovoljnijom u zaustavljanju i usporavanju razvoja senilne degeneracije makule (162). Dejstvo pojedinačno ispitanih elemenata (vit C, E, karotenoidi, Zn, Cu) ne pokazuju značajne efekte ili imaju samo vremenski ograničena dejstva u smislu amelioracije makulopatije.

Ishrana bogata polinezasićenim masnim kiselinama pokazala je povoljno dejstvo u prevenciji napredovanja početnih formi senilne makulopatije. Za razliku od toga ishrana bogata zasićenim mastima smatra se dodatnim faktorom rizika. Kalorijska restrikcija je kod eksperimentalnih životinja dala pozitivan efekat na usporavanje senilnih promena (163).

Flavonoidi iz zelenog čaja ili iz ginka mogu takođe delovati protektivno na makulu i to ne samo u smislu opštih povoljnih efekata, već i kao značajni antioksidansi (164). Pegaptanid, kao značajan selektivni antagonist VEGF, značajno usporava progresiju senilne makulopatije i u kliničkim studijama. Dimetil-fumarat koji se nalazi u jabukama povećava nivo glutationa i štiti ćelije RPE-a od oštećenja koja izazivaju peroksidi (165).

*In vitro* transplantacija RPE-a sa aktivnim antioksidativnim enzimima na Bruchovu membranu, menja njenu konduktivnost (166). Mogućnost izvođenja takve procedure *in vivo* predstavlja jedan od izazova budućnosti. Uloga hronične inflamacije u patogenezi senilne makulopatije usmerava terapijske pokušaje ka antiinflamatornim medikamentima (167). Protektivni filtri koji apsorbuju UV zrake i deo plavog spektra, mogu pružiti zaštitu od

fotooksidativnog stresa, ne samo u sočivu već i u retini. Fototerapijske procedure, čak i kada se koriste u terapiji senilne makulopatije, pojačavaju osetljivost na fotooksidativna oštećenja, pa je tokom njihove primene potreban poseban oprez i zaštita očiju (168).

U svakom slučaju problem senilne degeneracije makule je složen i nedovoljno razjašnjen, pa su i smernice za njenu prevenciju za sada veoma raznorodne.



## 2. CILJEVI RADA

Ciljevi ovog istraživanja su sledeći:

1. Da se ispita uticaj oksidativnog stresa na pojavu senilne degeneracije makule, kao i odnos oksidativnog stresa i stepen oštećenja makule koji je potvrđen kompletnim oftalmološkim pregledima koje podrazumevaju primenu određenih „imaging“ tehnika kao što su: kolorna fotografija fundusa, fluorescentna angiografija i određivanje oštrine vida. Stepem antioksidativne zaštite je utvrđen određivanjem koncentracije pojedinih „scavengera“ slobodnih radikala koji čine prvu liniju odbrane antioksidantnog sistema kao što su: transferin, feritin, haptoglobin, albumin, mokraćna kiselina, bilirubin, ali i preko aktivnosti pojedinih enzimskih antioksidanasa koji čine drugu liniju odbrane antioksidantnog sistema kao što su: Cu,Zn-SOD, GPx, GR i kumulativnog antioksidantog efekta pojedinih niskomolekularnih neenzimskih antioksidanasa pod nazivom totalni antioksidantni kapacitet (TAS).
2. Da se ispita lipidni status ispitanika, i to: ukupni holesterol, HDL- i LDL-holesterol, non HDL-holesterol, trigliceridi, kao i subfrakcije HDL-holesterola (HDL<sub>2</sub> i HDL<sub>3</sub>) s obzirom da je poremećaj lipidnog statusa jedan od najznačajnijih faktora rizika za nastanak ove bolesti. U sklopu ovih ispitivanja, vršeno je i ispitivanje apoproteinskog sastava seruma ispitanika određivanjem apolipoproteina A1, A2, B, E i Lp(a). Od posebnog su interesa odnosi ovih parametara sa parametrima antioksidativne zaštite i inflamacije kao i njihove međusobne korelacije.
3. Da se odrede parametri inflamacije i to: fibrinogen, CRP i IL-6, kako bi se potvrdilo ili isključilo učešće inflamatornih procesa u nastanku i progresiji AMD-a i da se odredi stepen korelacije sa parametrima antioksidativne zaštite.

4. Primenom statističkih metoda kao što su logistička i multivarijantna regresiona analiza da se utvrdi povezanost parametara antioksidantne zaštite, lipidnog statusa i parametara inflamacije sa senilnom degeneracijom makule.
5. Da se odredi osetljivost i specifičnost dijagnostičkih testova kao i granične vrednosti (cut-off vrednosti) ispitivanih parametara, koje bi figurisale kao granične „rizične“ vrednosti za razvoj AMD-a.
6. Da se utvrdi mogućnost korišćenja pojedinih parametara kao moguće prediktorne markere senilne degeneracije makule.
7. Da se utvrdi postojanje razlike u ispitivanim parametrima u odnosu na pol, BMI, pušenje, postojanje hipertenzije i diabetes mellitusa.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. MATERIJAL

Ovim ispitivanjem je obuhvaćeno 110 pacijenata sa senilnom degeneracijom makule, starosti od 52–86 godina i 87 zdravih ispitanika iste dobne starosti. Ispitanici su bili oftalmološki i anamnestički obrađeni na Institutu za očne bolesti, KCS u Beogradu, a uzorci biološkog materijala su se obrađivali u Centru za medicinsku biohemiju istog kliničkog centra. Lipidni status, albumin, bilirubin i mokraćna kiselina su bili određivani standardnim spektrofotometrijskim metodama, a apoproteini i pojedini „scavengeri“ slobodnih radikala (transferin, haptoglobin, feritin) su se odredili standardnim imunohemijskim metodama. Određivanje subfrakcija HDL-holesterola vršilo se taložnim metodama u kombinaciji sa spektrofotometrijskim metodama, dok određivanje antioksidantnih parametara: SOD, GPx, GR i TAS komercijalnim testovima firme »Randox«. Određivanje parametara lipidnog statusa, apoproteina, parametara inflamacije i »scavengera« slobodnih radikala je vršeno u serumu ispitanika, dok je određivanje parametara sistema antioksidantne zaštite; SOD i GPx vršeno u eritrocitima i u hemolizatu eritrocita ispitanika, a TAS i GR u serumu/plazmi ispitanika.

##### 3.1.1. PROTOKOL LABORATORIJSKIG ISPITIVANJA

Uzorkovanje biološkog materijala (krvi) ispitanika je vršeno u ranim jutarnjim satima prilikom prijernih ili kontrolnih pregleda pacijenata na Institutu za oftalmologiju Kliničkog centra Srbije. Uzorkovanje je vršeno isključivo vacutainer zatvorenim sistemom, pri čemu je uzimano sledeće:

1. jedna epruveta (vacutainer) sa Li-heparinom kao antikoagulansom (Becton Dickinson Cat. No. 368886) za određivanje eritrocitnih antioksidantnih enzima SOD, GPx i GR;

2. jedna epruveta (vacutainer) sa Na-citratom kao antikoagulansom za određivanje fibrinogena (Becton Dickinson Cat. No. 367704)
3. jedna epruveta/vacutainer bez antikoagulansa (Becton Dickinson Cat. No. 367896). potrebna za dobijanje seruma u kojem su se određivali lipidni parametri, apoproteini, »scavengeri« slobodnih radikala, anti-inflamatorni parametri, TAS i GR.

Nakon toga, biološki materijal je na adekvatan način transportovan do Centra za medicinsku biohemiju gde je sprovedeno dalje obrađivanje. Za određivanje antioksidantnih enzima SOD i GPX-a, po dobijanju uzoraka krvi bilo je potrebno izvršiti preanalitičku pripremu uzoraka, koji su zatim zamrzavani na -20 °C do momenta određivanja. Antioksidantni parametri: TAS i GR, određivani su u serumu koji je odvojen odmah po venepunkciji, centrifugiranjem na 3000 obrtaja u trajanju od 10 minuta i takođe zamrzavan na -20 °C.

Biohemijski parametri: mokraćna kiselina, bilirubin (ukupni i direktni), ukupni proteini, albumin, haptoglobin, holesterol, trigliceridi, HDL-holesterol, Lp(a), subfrakcije HDL-holesterola, zatim apolipoproteini: apo A<sub>1</sub>, apo A<sub>2</sub>, apo B i apo E, određivani su u serumu ispitanika istog dana standardnim metodama. Koncentracija LDL-holesterol je dobijena računskim putem, primenom Friedewaldove formule, a u slučajevima kada su trigliceridi bili >4,5 mmol/L korišćena je direktna enzimaska metoda, dok je koncentracija non-HDL-holesterola dobijena oduzimanjem koncentracije HDL holesterola od koncentracije ukupnog holesterola.

Od svakog pacijenta prilikom kontrolnog pregleda uzimani su anamnestički podaci o prisustvu drugih bolesti (npr. diabetes mellitus, HTA, glaukom itd) kao i habitualni podaci radi ispitivanja uticaja određenih navika (npr. pušenja, konzumiranja alkohola, itd) i sistemskih stanja (npr. prisustvo hipertenzije, reumatskih oboljenja, dijabetesa, kardiovaskularnih smetnji, glaukoma ili drugih bolesti) na kretanje parametara oksidativnog stresa i antioksidantne zaštite kao i na pojavu senilne degeneracije makule.

### 3.1.2. PREANALITIČKA OBRADA UZORAKA

U svakom uzorku pune krvi (uzet sa K-EDTA) odmah po dobijanju, određivana je koncentracija hemoglobina na hematološkom brojaču Mythic 5 dif firme Orphée. Iz uzorka pune krvi (uzete sa Li-heparinom) uzimano je 0,5 mL koje se zatim centrifugiralo 10 minuta na 3000 obrtaja i zatim je odvojena plazma. Potom je vršeno pranje eritrocita, 4 puta sa po 3 mL 154 mmol/L NaCl uz centrifugiranje od po 10 minuta na 3000 obrtaja posle svakog pranja. Nakon poslednjeg centrifugiranja odbačen je bistri supernatant a oprani eritrociti su se hemolizovali sa 2 mL ledene redestilovane vode uz snažno mućkanje. Hemolizat je ostavljen 10 minuta u frižideru kako bi hemoliza postala kompletna. U hemolizatu je zatim određivana koncentracija hemoglobina koja je potrebna za izračunavanje aktivnosti superoksid dismutaze. Pre samog određivanja aktivnosti enzima, lizat eritrocita je razblažen 26 puta sa 10 mmol/L fosfatnim puferom pH 7,0, kako bi se obezbedilo da reakcija bude u opsegu linearnosti metode. Takav hemolizat je zatim, dobro zatvoren plastičnim čepom, čuvan zamrznut na -20 °C do momenta određivanja.

## 3.2. METODE

### 3.2.1. KORIŠĆENI GOTOVI TEST-REAGENSI

Za određivanje antioksidativnih parametara korišćeni su sledeći gotovi reagensi firme Randox:

- superoksid dismutaza (»Ransod«, Cat. No SD 125)
- glutation-peroksidaza (»Ransel«, Cat. No. RS 505)
- ukupni antioksidantni status (»Total antioxidant status«, Cat. No NX 2332)
- glutation reduktaza (»Glutathione reductase« Cat.No. GR 2368)

Od opreme korišćeni su sledeći aparati:

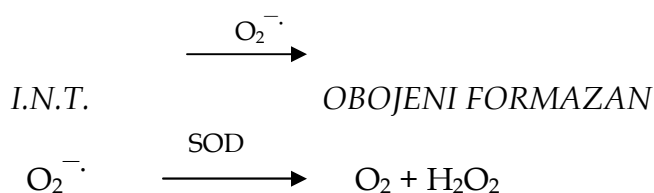
- Centrifuga Juan C3i Multifunction Thermo scientific
- Olympus AU 400 biohemijski automatski analizator
- Hematološki brojač 5 diff, Mythic 22, firme Orphée
- Mešalica Vortex Genie 2 firme Lighting

### 3.2.2. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI SUPEROKSID DIZMUTAZE (SOD)

#### 3.2.2.1. Princip određivanja

Određivanje SOD se zasniva na ulozi ovog enzima u reakciji dismutacije superoksid anjon radikala ( $O_2^{\cdot-}$ ) u vodonik peroksid i molekularni kiseonik. Ova metoda uključuje ksantin i ksantin oksidazu (XOD) koji proizvode superoksid radikale, koji zatim reaguju sa 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5 feniltetrazolijum hloridom (I.N.T.), formirajući crveno obojene formazane. Aktivnost SOD se meri stepenom inhibicije ove reakcije, jer SOD iz uzorka prevodi stvorene superoksid anjone u kiseonik i vodonik peroksid uz smanjenje obojenja (169):





### 3.2.2.2. Reagensi za određivanje SOD-a

1. Supstrat sadrži: 0,05 mmol/L ksantina i 0,025 mmol/L I.N.T. Rastvara se sa 20 mL pufera i stabilan je 10 dana na +2 do +8 °C.
2. Pufer se sastoji od: 50 mmol/L CAPS, pH 10,2 i 0,94 mmol/L EDTA. Spreman je za upotrebu i čuva se na +2 do +8 °C.
3. Ksantin oksidaza, 80 U/L. Rastvara se sa 10 mL redestilovane vode i stabilna je 2 nedelje na +2 do +8 °C.
4. Standard sadrži SOD označene aktivnosti na bočici (npr. 6,3 U/mL). Rastvara se sa 10 mL redestilovane vode i stabilan je 2 nedelje na +2 do +8 °C.
5. Fosfatni pufer 10 mmol/L, pH 7,0 sledećeg sastava:

Sekundarni kalijum hidrogen fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,503 g
Primarni natrijum hidrogen fosfat (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> × 2H <sub>2</sub> O)	1,085 g
Redestilovana voda	ad 1000 mL

Potrebne supstance (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> i Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O) se suše 2 sata na 110 °C. Pripremljen pufer čuva se u frižideru na +2 do +8 °C. Stabilan je mesec dana. Za pripremu standardne krive potrebno je sukcesivno praviti razblaženja standarda (S6) sa 10 mmol/L fosfatnim puferom pH 7,0. Pripremljena su razblaženja standarda prema sledećoj šemi:

Standardi	Zapremina standardnog rastvora	Zapremina fosfatnog pufera
S5	5 mL S6	5 mL
S4	5 mL S5	5 mL
S3	5 mL S4	5 mL
S2	5 mL S3	5 mL
S1	—	5 mL

Svi pripremljeni standardi su analizirani istim postupkom kao uzorci. Iz dobijenih vrednosti za standarde priprema se standardna kriva (% inhibicije u odnosu na standardne koncentracije SOD izražene u U/mL) za  $\log_{10}$ .

### 3.2.2.3. Postupak određivanja SOD-a

<i>Talasna dužina</i>	505 nm
<i>Svetlosni put</i>	0,5 cm
<i>Temperatura</i>	37 °C
<i>Merenje</i>	u odnosu na destilovanu vodu

Pipetirati u kivetu (mL):

uzorak	Slepa proba	Standard	Razblaženi
<i>Fosfatni pufer</i>	0,05	—	—
<i>Standard</i>	—	0,05	—
<i>Razblaženi uzorak</i>	—	—	0,05
<i>Supstrat</i>	1,7	1,7	1,7
<b>Dobro promešati i dodati:</b>			
<i>Ksantin oksidaza</i>	0,25	0,25	0,25
Promešati, pročitati inicijalnu apsorbanciju $A_1$ posle 30 sekundi i $A_2$ posle 3 minuta. Iz očitanih vrednosti izračunati promenu apsorbancije za 1 minut [ $\Delta A = (A_2 - A_1) / 3$ ]			



#### 3.2.2.4. Izračunavanje

Analiziranjem slepe probe (fosfatni pufer) dobija se maksimalno obojenje jer se svi slobodni radikali koji se stvaraju u reagensu prevode u obojene formazane. Standardi i razblaženi uzorci imaju manji intenzitet obojenja. Potrebno je utvrditi % inhibicije reakcije prevođenja slobodnih radikala u obojene formazane (reagujući sa superoksid anjonom), koje imaju uzorci ili standardi, prema sledećim formulama:

$$100 - (\Delta A \text{ standarda} / \text{min} \times 100) / (\Delta A \text{ slepe probe} / \text{min}) = \% \text{ inhibicije za standard}$$
$$100 - (\Delta A \text{ uzorka} / \text{min} \times 100) / (\Delta A \text{ sl. probe} / \text{min}) = \% \text{ inhibicije za uzorak}$$

Iz standardne krive dobijaju se U/mL SOD koji odgovaraju izračunatom % inhibicije za uzorak. S obzirom na to da se uzorci razblažuju 26 puta, za konačno izračunavanje neophodno je uzeti u obzir i dilucioni faktor (koji je 26).

$$\text{SOD U/mL pune krvi} = \text{SOD U/mL sa standardne krive} \times 26$$
$$\text{SOD U/mL : g hemoglobina / mL hemolizata} = \text{SOD U/gHb}$$

#### Primer izračunavanja:

U hemolizatu eritrocita, pripremljenom po navedenom uputstvu i razblaženom 26 puta fosfatnim puferom, određena je aktivnost SOD na analizatoru OLYMPUS AU 400 primenom priložene aplikacije. Aparat je kalibrisan fosfatnim puferom, a zatim su urađeni standardi i analize. Početna aktivnost standarda iznosila je 4.84 U/mL. Serija standarda pripremljena je prema datoj šemi sukcesivnim razblaživanjem standarda. Na ovaj način pripremljeni su standardi sledećih aktivnosti, koji su dali sledeće procenatne reakcije tj, odgovarajuće procenatne inhibicije:

St.	Aktivnost st. (c), U/mL	% reakcije	% inhibicije (100-% reakcije)
S5	2,42	34	66
S4	1,21	51	49
S3	0,605	67	33
S2	0,3025	79	21

U sledećoj tabeli su prikazane logaritamske vrednosti aktivnosti standarda, označene kao  $x$ , kao i % inhibicije označeni kao  $y$ .

$x = \log c$	$y = \% \text{ inhibicije}$	$x^2$	$y^2$	$xy$
0,384	66	0,147	4356	25,34
0,083	49	0,0069	2401	4,067
-0,218	33	0,0475	1089	-7,194
-0,519	21	0,269	441	-10,89
$\Sigma x = -0,27$	$\Sigma y = 169$	$\Sigma x^2 = 0,5325$	$\Sigma y^2 = 8287$	$\Sigma xy = 11,323$
$x = -0,0675$	$y = 42,25$			

Iz dobijenih vrednosti izračunava se jednačina standardne prave oblika:

$$y = a + bx \quad \text{gde je } x = \log c; \text{ U/mL} \quad \text{i} \quad y = \% \text{ inhibicije}$$

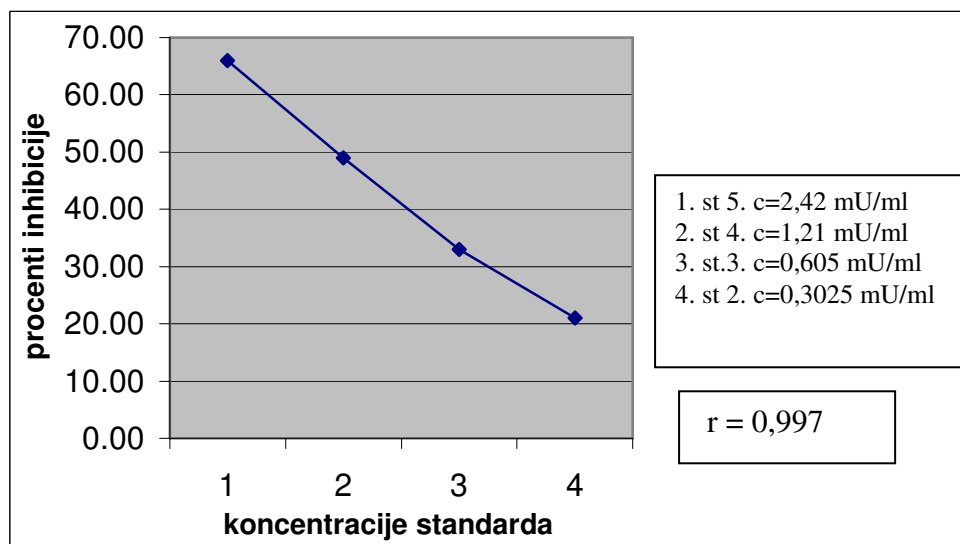
$$b = (\Sigma xy - Nxy) / (\Sigma x^2 - Nx^2) = 50,161$$

$$a = y - bx = 45,65$$

$$y = a + b \log c$$

$$\log c = (y - 45,65) / 50,161$$

$$c = \text{arc log} [(y - 45,65) / 50,161] \times 26 : \text{g Hb u hemolizatu}$$

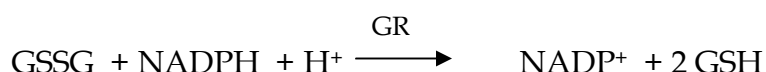
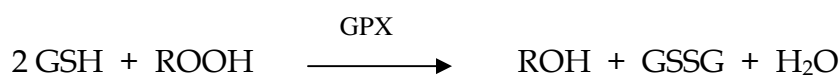


Slika 11. Izgled standardne krive za SOD

### 3.2.3. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI GLUTATION PEROKSIDAZE (GPx)

#### 3.2.3.1. Princip određivanja

Glutation peroksidaza je određivana metodom Paglia i Valentina (170). Metoda se zasniva na sposobnosti glutacion peroksidaze (GPX) da katalizuje oksidaciju glutationa (GSH) sa kumen hidroperoksidom. U prisustvu glutacion reduktaze (GR) i redukovanog oblika koenzima NADPH, nastali oksidovani glutation (GSSG) prelazi u redukovani oblik, dok se koenzim oksiduje. Meri se sniženje apsorbancije NADPH na 340 nm:



### 3.2.3.2. Priprema uzorka

0,05 mL heparinizirane pune krvi se razblaži sa 1 mL rastvora za razblaživanje, inkubira se 5 minuta na sobnoj temperaturi i doda se 1 mL dvostruko koncentrovanog Drabkinovog reagensa, kako bi cijanidi iz ovog reagensa preveli glutation peroksidazu u redukovanu formu, tako da prisustvo drugih peroksidaza iz uzorka ne bi dovelo do lažno povišenih rezultata. Zatim se dobro promeša i analizira razblaženi uzorak. Preporučuje se da se uzorak analizira u roku od 20 minuta od dodavanja Drabkinovog reagensa.

### 3.2.3.3. Reagensi

1. Reagens sadrži 4 mmol/L glutationa,  $\geq 0,5$  U/L glutation reduktaze i 0,28 mmol/L NADPH. Rastvara se sa naznačenom količinom pufera i stabilan je 2 dana na +2 do +8 °C.
2. Fosfatni pufer 0,05 mmol/L, pH 7,2 i EDTA 4,3 mmol/L. Spreman je za upotrebu i čuva se na temperaturi od +2 do +8 °C.
3. Kumen hidroperoksid, 0,18 mmol/L. 10  $\mu$ L se rastvara sa 10 mL redestilovane vode i uvek se pripremi svež rastvor.
4. Rasvor za razblaživanje. Liofilizat se rastvara sa 200 mL redestilovane vode i stabilan je 4 nedelje na +2 do +8 °C.
5. Duplo koncentrovan Drabkinov reagens sledećeg sastava:

Kalijum cijanid (KCN)	100,0 mg
Kalijum fericijanid ( $K_3[Fe(CN_6)]$ )	400,0 mg
Primarni kalijum hidrogen fosfat ( $KH_2PO_4$ )	280,0 mg
Redestilovane vode (H <sub>2</sub> O)	ad 2000 mL

### 3.2.3.4. Postupak određivanja GPx-a

<i>Talasna dužina</i>	Hg 340 nm
<i>Svetlosni put</i>	0,5 cm
<i>Temperatura</i>	37 °C
<i>Merenje</i>	u odnosu na destilovanu vodu

Pipetirati u kivetu sledeće količine u mL:

	MAKRO		SEMI-MIKRO	
	Razblaženi uzorak	Slepa proba	Razblaženi uzorak	Slepa proba
<i>Razblaženi uzorak</i>	0,05	—	0,02	—
<i>Radestilovana voda</i>	—	0,05	—	0,02
<i>Reagens</i>	2,5	2,5	1,0	1,0
<i>Kumen hidroperoksid</i>	0,10	0,10	0,04	0,04

Dobro promešati, pročitati inicijalnu apsorbanciju uzorka i slepe probe posle 1 minut i ponovo nakon 1 i 2 minuta. Oduzeti promenu apsorbancije u minutu za slepu probu od promene apsorbancije u minutu za uzorak.

### 3.2.3.5. Izračunavanje

$$\text{GPx, U/L hemolizata} = 8412 \times \Delta A_{340\text{nm}} / \text{min}$$

Dobjeni rezultat treba pomnožiti zatim sa dilucionim faktorom (41) kako bi se dobila aktivnost u punoj krvi.

$$\text{GPX U/L pune krvi} = \text{GPX U/L hemolizata} \times 41$$

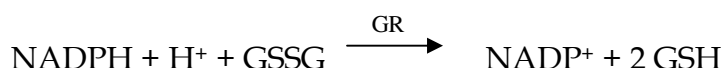
### Konvertovanje u GPX U/gHb

$$\text{GPX U/L : g hemoglobina /L} = \text{GPX U/gHb}$$

### 3.2.4. ODREĐIVANJE AKTIVNOSTI GLUTATION REDUKATAZE (GR)

#### 3.2.4.1. Princip određivanja

Glutation reduktaza katalizuje reakciju redukcije oksidovanog glutationa (GSSG) u prisustvu NADPH, koji se u toj reakciji oksiduje do NADP<sup>+</sup>. Pad apsorbanca na 340 nm je direktno proporcionalan aktivnosti glutacione reduktaze (171).



#### 3.2.4.2. Priprema uzoraka

Uzorak pune krvi uzet sa Li-heparinom centrifugira se 10 minuta na 3000 obrtaja/min, odvoji se plazma u plastične »pool« epruvete koje se dobro zapuše plastičnim čepom a zatim zamrzavaju na -20 °C, gde se čuvaju do momenta određivanja.

#### 3.2.4.3. Reagensi

1. Pufer: sadrži 100 mmol/L kalijum fosfata pH 7,3 i 0,5 mmol/L EDTA. Spreman je za upotrebu i čuva se na +2 do +8 °C.
2. Supstrat: sadrži 2,2 mmol/L GSSG. Rastvara se u 5 mL pufera. Stabilan je 2 dana na +2 do +8 °C.
3. Koenzim: sadrži 0,17 mmol/L NADPH. Rastvara se u 3 mL redestilovane vode. Stabilan je 2 dana na +2 do +8 °C.

#### 3.2.4.4. Postupak određivanja

<i>Talasna dužina</i>	340 nm
<i>Svetlosni put</i>	0,5 cm
<i>Temperatura</i>	37 °C
<i>Merenje</i>	u odnosu na destilovanu vodu

Pipetirati u kivetu (mL):

<i>Uzorak</i>	0,040
<i>Supstrat</i>	1,0
Dobro promešati a zatim dodati:	
<i>NADPH</i>	0,200
Dobro promešati, pročitati inicijalnu apsorbancu nakon 1 minuta, a zatim nakon 2, 3, 4 i 5 minuta.	

#### 3.2.4.5. Izračunavanje

Aktivnost glutacion redukaze se izračunava pomoću sledeće formule:

$$U/L = 4983 \times \Delta A_{340} / \text{min}$$

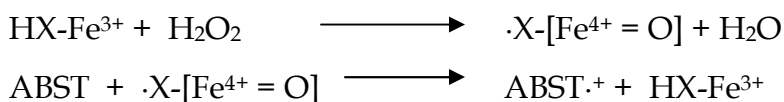
Referentne vrednosti po metodi su od 42–80 U/L.

Glutation reduktaza je visoko specifična za glutation. Detekcioni limit iznosi 10 U/L.

### 3.2.5. ODREĐIVANJE UKUPNOG ANTIOKSIDANTNOG STATUSA PLAZME (TAS)

#### 3.2.5.1. Princip određivanja

ABTS (2,2'-azino-di [3-etilbenziazolin sulfonat]) se inkubira sa peroksidazom (metmioglobin) i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri čemu nastaje ABTS-radikal katjon (ABTS<sup>•+</sup>) kao relativno stabilno plavo-zeleno obojenje koje apsorbuje na 600 nm. Antioksidansi iz dodatog uzorka pruzrokuju smanjenje intenziteta boje u stepenu koji je proporcionalan njihovoj koncentraciji (172):



HX-Fe<sup>3+</sup> = Metmioglobin

·X-[Fe<sup>4+</sup> = O] = Ferilmioglobin

ABST = 2,2'-azino-di [3-etilbenziazolin sulfonat]

#### 3.2.5.2. Priprema uzoraka

Uzorak pune krvi uzet sa Li-heparinom centrifugira se 10 minuta na 3000 obrtaja u minuti, odvoji se plazma u plastične »pool« epruvete koje se dobro zapuše plastičnim čepom a zatim zamrzavaju na -20 °C, gde se čuvaju do momenta određivanja.

#### 3.2.5.3. Reagensi

1. Pufer: 5 mmol/L fosfatnog pufera, pH 7,4. Spreman je za upotrebu i čuva se na temperaturi od +2 do +8 °C.
2. Hromogen sadrži: 6,1 μmol/L metmioglobina i 610 μmol/L ABST. Rastvara se sa 10 mL pufera. Stabilan je 2 dana na +2 do + 8 °C, ili 8 sati na + 15 do 25 °C.



3. Supstrat: 250  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  u stabilizovanoj formi. Rastvara se sa 5 mL pufera 1 i stabilan je 24 sata na +2 do +8  $^\circ\text{C}$ .
4. Standard: 2,5 mmol/L 6-hidroksi-2,5,7,8-tetra-metilhroman-karboksilna kiselina. Rastvara se sa 1 mL dejonizovane vode i stabilan je 2 dana na +2 do +8  $^\circ\text{C}$  ili mesec dana na -20  $^\circ\text{C}$ .

#### 3.2.5.4. Postupak određivanja

<i>Talasna dužina</i>	600 nm
<i>Svetlosni put</i>	0,5 cm
<i>Temperatura</i>	37 $^\circ\text{C}$
<i>Merenje</i>	u odnosu na vodu

Pipetirati u kivetu (u mL):

	Slepa proba	Standard	Uzorak
<i>Redestilovana voda</i>	0,020	—	—
<i>Standard</i>	—	0,020	—
<i>Uzorak</i>	—	—	0,020
<i>Hromogen</i>	1,0	1,0	1,0
Dobro promešati i pročitati inicijalnu apsorbanciju ( $A_1$ ).			
Zatim dodati:			
<i>Supstrat</i>	0,2	0,2	0,2
Promešati i pročitati apsorbanciju $A_2$ tačno posle 3 minuta. Izračunati promenu apsorbancije $\Delta A = A_2 - A_1$			

#### 3.2.5.5. Izračunavanje

Određivanje TAS-a je vršeno na analizatoru OLYMPUS AU 400. Aparat se kalibriše u dve tačke (Calibrator 1 je dejonizovana voda, a Calibrator 2 je standard koncentracije 2,5 mmol/L). Rezultat koji se dobija predstavlja koncentraciju ukupnog antioksidantnog statusa plazme izražen u mmol/L.

Metoda je linearna do koncentracije od 2,5 mmol/L. Uzorke čija koncentracija premašuje linearnost metode treba razblažiti sa 154 mmol/L NaCl i ponovo analizirati. Ovakvim postupkom dobijaju se za oko 20% viši rezultati, te zato ovaj postupak treba maksimalno izbegavati.

### 3.2.6. ODRAĐIVANJE PARAMETARA INFLAMACIJE I LIPIDNOG STATUSA

Određivanje CRP-a je vršeno imunoturbidimetrijskim testom na aparatu OLYMPUS AU 400, dok je fibrinogen određivan Claussovom metodom na Behringovom XP koagulacionom sistemu. Koncentracija IL-6 je određivana hemi-luminiscentnom metodom na aparatu Accses (Beckman-Coulter).

Ostali biohemijski i parametri lipidnog statusa određivani su standardnim laboratorijskim metodama na multikanalnom biohemijskom analizatoru Olympus AU 400. Koncentracija LDL-holesterola je određivana računskim putem u svim slučajevima kada je koncentracija triglicerida bila ispod 4,5 mmol/L, dok u slučajevima kada je  $LDL > 4,5$  mmol/L, određivanje je vršeno direktnim imunohemijskim određivanjem. Koncentracija non-HDL-holesterola vršeno je takođe računskim putem oduzimanjem koncentracije HDL-holesterola od koncentracije ukupnog holesterola. Određivanje apoproteina je vršeno standardnim imunohemijskim postupcima na Behringovom nefelometru.

Za određivanje subfrakcija HDL<sub>2</sub> i HDL<sub>3</sub>-holesterola korišćena je semi-mikro metoda po G.M. Kostneru. Dodavanjem rastvora polietilen glikola (PEG, RMM=20 000) različite koncentracije i različite pH vrednosti vršeno je selektivno taloženje pojedinih klasa lipoproteina. Dodavanjem rastvora A koji sadrži 9,5% (w/v) rastvora polietilen glikola u 0,1 mol/L Na-fosfatnom puferu pH=6,5, taložile su se čestice LDL-a i VLDL-a, a u supernatantu su ostale samo HDL čestice. Sa reagensom B, koji je sadržao 15 % (w/v) PEG-a u 0,1 mol/L Na-K-fosfatnom puferu pH=7,5, taložile su se čestice VLDL-a, LDL-a i HDL<sub>2</sub>, pri čemu u supernatantu ostajale samo čestice HDL<sub>3</sub>-holesterola. Koncentracije

ukupnog HDL i HDL<sub>3</sub>-holesterola u supernatantu su se određivale enzimskom metodom (CHOD-PAP) za holesterol, dok se koncentracija HDL<sub>2</sub>-holesterola izračunala matematičkim putem iz razlike ukupnog i HDL<sub>3</sub>-holesterola.

### 3.2.7. STATISTIČKE METODE

Za statističku obradu podataka korišćen je statistički program MedCalc® Ver. 9.4.0 firme Mariakerke, Belgium. U zavisnosti od distribucije varijabli korišćene su mere centralne tendencije: aritmetička sredina sa standardnom devijacijom i medijana sa interkvartilnim opsegom. Za procenu značajnosti razlike između više ispitanih grupa korišćena je ANOVA i Kruskal-Wallis-ov test, a za određivanje razlike između pojedinih grupa korišćeni su: Hi-kvadrat test ( $\chi^2$ ), Studentov t-test i Mann-Whitney U-test i Fišerov test tačne verovatnoće. Za utvrđivanje korelacije između pojedinih parametara korišćena je Pearsonova i Spearmanova korelacija, dok za procenu značajnosti povezanosti između parametara kao i povezanost parametara sa pojavom AMD-a korišćena je univarijantna logistična regresiona i multivarijantna regresiona analiza. Statistički značajne razlike su bile one koje su imale  $P < 0,05$ .

## 4. REZULTATI

### 4.1. DEMOGRAFSKI PODACI O ISPITANICIMA

U ovoj studiji ispitano je ukupno 197 ispitanika, starosti  $71 \pm 6,3$  godine (52–86); od toga 110 pacijenata sa senilnom degeneracijom makule starosti  $71,5 \pm 7,1$  god. i 87 zdravih ispitanika starosti  $70,5 \pm 5,07$  god.

Pacijenti su bili kompletno oftalmološki pregledani na Institutu za oftalmologiju Kliničkog centra Srbije, na odeljenju «Medical Retine», uključujući oštrinu vida, kolornu fotografiju fundusa i fluorescentnu angigrafiju. Prilikom pregleda svakog pacijenta uzimani su anamnestički i drugi habitualni podaci uključujući starost, telesnu težinu i visinu, fizičku aktivnost, pušenje, konzumiranje alkohola kao i familijarna istorija (postojanje slučajeva AMD-a u porodici) ove bolesti, kao i prisustvo drugih sistemskih bolesti (DM2, HTA itd).

Kontrolnu grupu su činili zdravi ispitanici, koji su se volonterski prijavili za učešće u studiji i koji su u vremenu trajanja studije bili potpuno zdravi bez ikakvih znakova akutnih patoloških stanja ili makulopatije. Među zdravim ispitanicima je takođe dijagnostikovano prisustvo arterijske hipertenzije (29 ispitanika, što čini 33,3%), dok je 14 ispitanika imalo tip 2 DM što predstavlja 16,1% ukupnih ispitanika kontrolne grupe. Jedanaest zdravih ispitanika (12,64%) je bilo gojazno ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ), 35 (40,2%) je imalo prekomernu težinu ( $BMI = 25-30 \text{ kg/m}^2$ ), dok je 31 ispitanik (35,6%) imao normalnu telesnu težinu ( $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ). Među ispitanicima bilo je 45 (51,7%) muškaraca i 42 (48,3%) žene. Zdravih pušača je bilo 36 tj. 41,4%.

Od celokupnog broja pacijenata sa AMD-om, 43,75% (42) su bili pušači, od kojih 15 pacijenata (15,6%) su bili bivši pušači. Šesdesetdevet AMD pacijenata (70,4%) je bilo na nekoj antihipertenzivnoj terapiji, od kojih čak 13 pacijenata (13,3%) je i dalje imalo visoku tenziju  $> 140/90 \text{ mmHg}$ . Dvadesetčetiri pacijenata (23,5%) je imalo tip 2 diabetesa (DM2). Od celokupnog broja pacijenata 72,7% (80) su činile žene, a 27,3% (30) su bili muškarci. Od ukupnog broja ispitanika sa AMD-om, 19% su činili gojazni ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ), 31,65% su bili prekomerne težine ( $BMI = 25-28 \text{ kg/m}^2$ ), a 40,5% su bili negojazni (mršavi)

(BMI<28 kg/m<sup>2</sup>. Polovina pacijenata sa AMD-om (50%) se bavila nekim sportom ili upražnjavali svakodnevne duge šetnje.

#### 4.1.1. KLASIFIKACIJA AMD PACIJENATA

Klasifikacija po Collemanu predviđa 3 razvojna stadijuma bolesti. Na osnovu vidne oštine, urađene kolorne fotografije očnog fundusa i fluoresceinske angiografije AMD pacijenti su podeljeni na one sa:

1. *ranom formom* AMD-a koji su imali veći broj malih druza, (<65 µm u promeru) ili druze srednje veličine (65–125µm) ili postojanje pigmentnih anomalija, kao i oni sa multiplim srednjim druzama sa ne-centralnom geografskom atrofijom ali bez kliničkih znakova bolesti; i one sa:
2. *Uznapredovanom formom* AMD koja postoji u formi tkz.

2a. *geografske atrofije* koja je centralno postavljena (suva forma) ili pak

2b. pojavom *eksudativne forme* AMD (horoidalna neovaskularizacija ili vlažna forma).

Tokom vršenja klasifikacije uvek se ispituju oba oka i najveće promene koje se zateknu bilo na oba oka ili na samo jednom oku određuju kojoj grupi (fazi bolesti) pacijent pripada. Pri tome može se desiti da je samo jedno oko zahvaćeno nekim promenama, ili pak da na jednom oku bude prisutna rana forma a na drugom neovaskularna (kasna) forma bolesti.

Od ukupnog broja ispitanih pacijenata, 91 pacijent (82,7%) je imao uznapredovanu formu bolesti; od toga 28 (30,77%) je imalo geografsku atrofiju centralno položenu na jednom ili oba oka, a ostatak od 63 (69,23%) je imalo horoidalnu neovaskularizaciju. Devetnaest pacijenata (17,3%) je imalo ranu formu bolesti.

## 4.2. ANALIZA ANTIOKSIDANTNOG STATUSA ISPITANIKA

### 4.2.1. ANALIZA NIVOVA ENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA

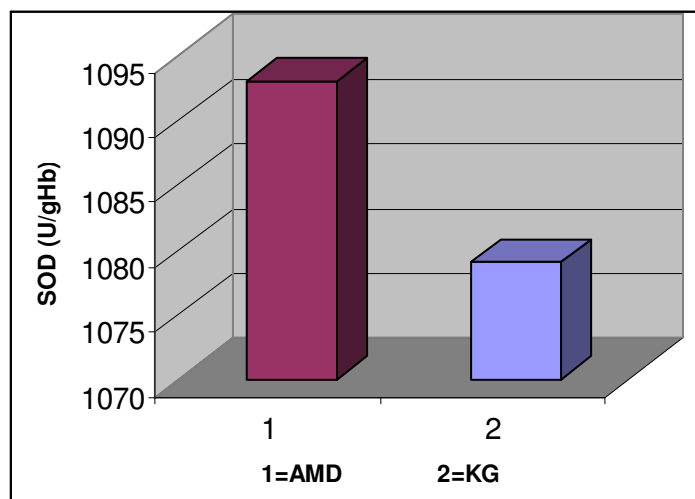
#### 4.2.1.1. Superoksid dizmutaza

Distribucija SOD u svim grupama je sledila Gaussovu krivu raspodele i dobijene vrednosti su bile ujednačene po svim ispitanim grupama (Tabela I). Najniže pojedinačne vrednosti (731 IU/gHb) su dobijene u grupi pacijenata sa uznapredovanom, vlažnom formom AMD-a, dok su maksimalne pojedinačne vrednosti (1438 IU/gHb) dobijene u kontrolnoj grupi ali i u grupi ispitanika sa kasnom-suvom formom bolesti. Srednje vrednosti SOD-a su bile slične u grupi svih pacijenata sa AMD-om i u KG ( $t$ -test=0,613;  $p$ =0.540) (Slika 12). Nikakva statistički značajna razlika nije dobijena u vrednostima SOD-a između pojedinih formi bolesti ( $F$ =1,18;  $P$ =0,313), ali je značajna razlika dobijena u vrednostima ovog parametra između ispitanika sa suvom formom i KG ( $t$ =1,993;  $p$ =0,049).

**Tabela I.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti SOD-a u ispitanim grupama

Ispitanici	SOD (IU/gHb)					
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
<i>KASNA AMD/SUVA</i>	<b>1169,4*</b>	173,1	1164	830	1438	0,531
<i>KASNA AMD/VLAŽNA</i>	1081,6	170,3	1047	731	1422	0,447
<i>RANA AMD</i>	1105,8	120,9	1129,5	795	1308	0,223
<i>AMD (SVI)</i>	1093,1	170,8	1084	731	1438	0,698
<i>KG</i>	1079,3	128,3	1073,5	826	1438	0,164

\*  $p < 0,05$  u odnosu na KG



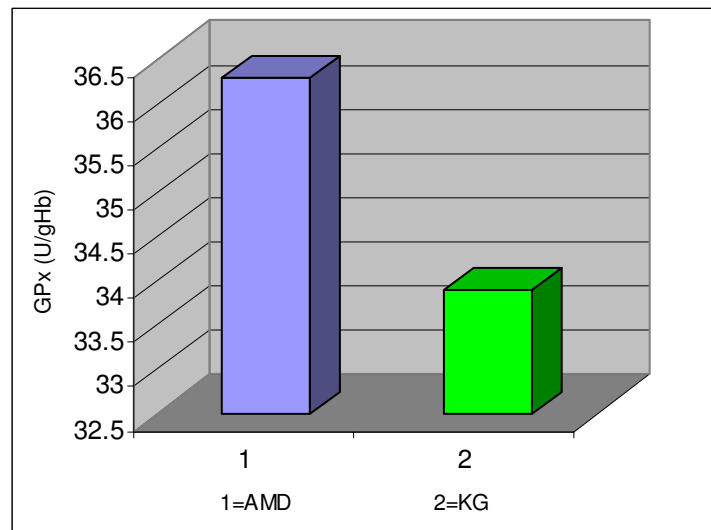
**Slika 12.** Srednje vrednosti SOD-a u grupama AMD i KG

#### 4.2.1.2. Glutation peroksidaza

Distribucija GPx-a je u svim grupama je sledila Gaussovu krivu raspodele osim u kontrolnoj grupi (Tabela II). Najniže pojedinačne vrednosti (16 IU/gHb) su dobijene u grupi pacijenata sa ranom formom AMD-a, kao i u KG, dok su maksimalne pojedinačne vrednosti (77 IU/gHb) dobijene u kontrolnoj grupi ali i u grupi ispitanika sa ranom formom bolesti (75 U/gHb). Srednje vrednosti GPx-a su bile slične u grupi svih pacijenata sa AMD-om i u KG ( $t$ -test=1,422;  $p$ =0.157) (slika 13). Nikakva statistički značajna razlika nije dobijena u vrednostima GPx-a između pojedinih formi bolesti ( $F$ =1,42;  $P$ =0,248), ali je značajna razlika dobijena u vrednostima ovog parametra između ispitanika sa ranom formom i KG ( $t$ =1,988;  $p$ =0,049).

**Tabela II.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti GPx-a u svim ispitanim grupama

Ispitanici	GPx (IU/gHb)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	39,8	10,8	40	21	56	0,887
KASNA AMD/VLAŽNA	34,9	10,0	33	19	59	0,265
RANA AMD	<b>38,9*</b>	14,4	41,5	16	75	0,666
AMD (SVI)	36,3	11,51	35	16	75	0,137
KG	33.9	9,66	33	16	77	<b>&lt;0,0001</b>
* p<0,05 u odnosu na KG						



**Slika 13.** Srednje vrednosti GPx-a u grupama AMD i KG

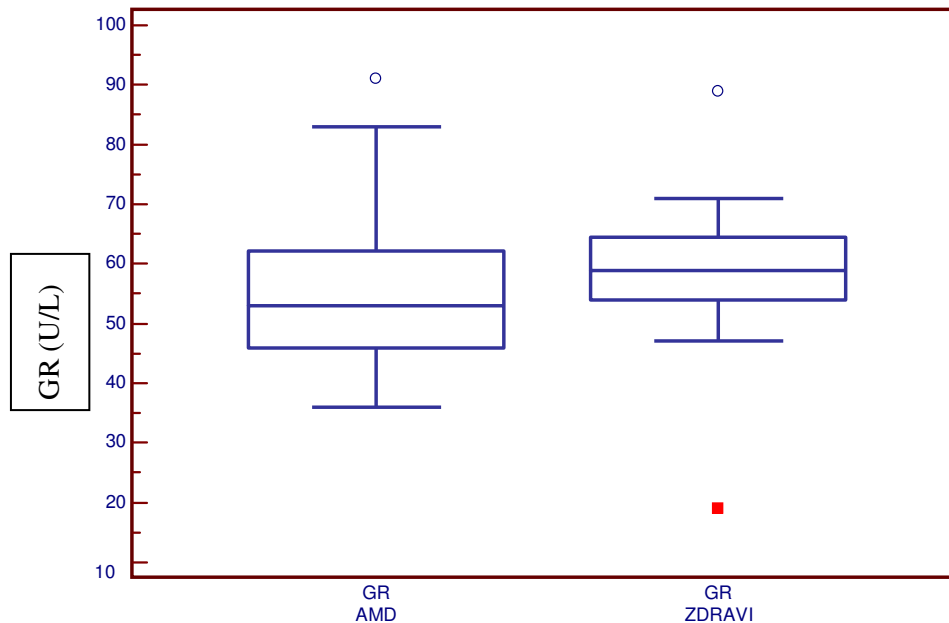


#### 4.2.1.3. Glutation reduktaza

Distribucija glutacione reduktaze u skoro svim ispitanim grupama (osim u grupi ispitanika sa ranom formom AMD-a) bila je neparametarska (Tabela III). S toga smo primenili Mann-Whitney U-test za utvrđivanje značajnosti razlike između grupe ispitanika sa AMD-om i KG ( $Z=1,80$ ;  $P=0,07$ ). Test je pokazao da postoji mala razlika u vrednosti GR-a između AMD grupe i KG koja je bila na granici značajnosti (slika 14). Najniže (36 U/L) i najveće (91 U/L) pojedinačne vrednosti su dobijene u grupi ispitanika sa vlažnom formom AMD-a. Nije dokazana značajna razlika u vrednostima GR-a između pojedinačnih patoloških grupa, ali je dobijena značajna razlika između grupe sa ranom formom AMD-a i KG ( $Z=2,046$ ;  $P=0,04$ ).

**Tabela III.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti GR-a u svim ispitanim grupama

Ispitanici	GR (U/L)						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	55,2	12,5	52	54,0 – 64,0	44	71	<b>0,015</b>
KASNA AMD/VLAŽNA	59,4	8,88	63	45,5 – 61,5	36	91	<b>0,024</b>
RANA AMD	<b>52,5*</b>	9,4	<b>51*</b>	46,0 – 58,8	39	74	0,395
AMD (SVI)	55,1	11,1	53	46,0 – 62,3	36	91	<b>0,011</b>
KG	58,5	13,2	59	54,0 – 64,5	19	89	<b>0,006</b>
* $p < 0,05$ u odnosu na KG							



**Slika 14.** Medijana vrednosti GR-a u AMD i KG

#### 4.2.2. ANALIZA NIVOVA NEENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA

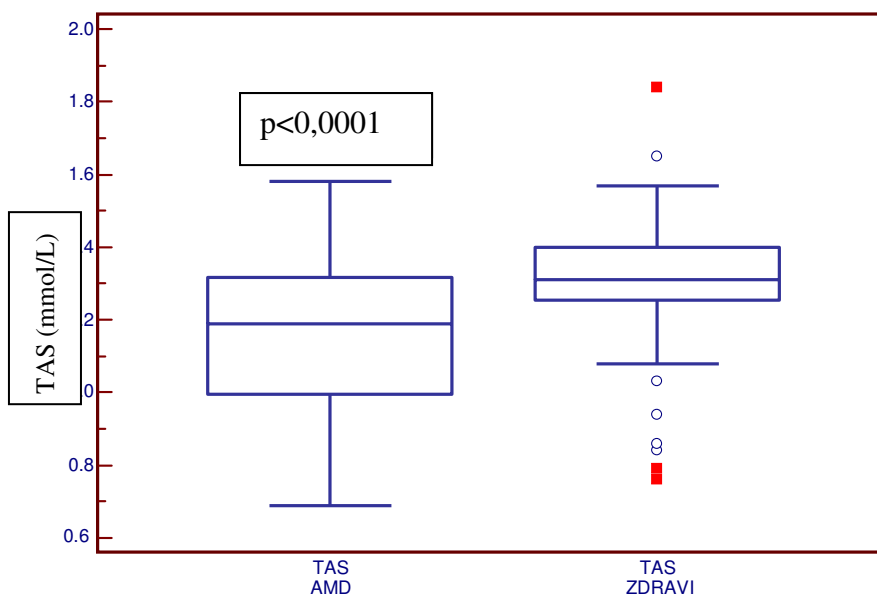
##### 4.2.2.1. Kumulativna vrednost neenzimskih antioksidanasa-TAS

Distribucija vrednosti TAS-a sledila je Gaussovu raspodelu u svim patološkim grupama osim u kontrolnoj grupi. Najniže vrednosti, kako pojedinačne tako i prosečne dobijene su u grupi AMD pacijenata sa vlažnom-eksudativnom formom, dok su maksimalne vrednosti, kako prosečne tako i pojedinačne dobijene u KG (Tabela IV). Dobijena je statistički značajna razlika između grupe svih pacijenata sa AMD-om i KG ( $t=6,49$ ;  $p<0,0001$ ) (slika 15), kao i između svih ispitanih podgrupa sa AMD-om i KG ( $F=15,33$ ;  $P<0,001$ ). Značajno niže vrednosti TAS-a su dobijene u podgrupi AMD-a sa suvom formom u odnosu na KG ( $t=3,51$ ;  $p=0,0007$ ), kao i u podgrupi sa vlažnom formom ( $t=9,08$ ;  $p<0,0001$ ) i u podgrupi sa ranom formom bolesti u odnosi na KG ( $t=3,36$ ;  $p=0,001$ ).

**Tabela IV.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti TAS-a po svim ispitanim grupama

Ispitanici	TAS (mmol/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	1,11*	0,17	1,12	0,78	1,36	0,610
KASNA AMD/VLAŽNA	1,02*	0,22	1,1	0,68	1,58	0,318
RANA AMD	1,18*	0,14	1,22	0,93	1,38	0,320
AMD (SVI)	1,13*	0,20	1,15	0,68	1,58	0,287
KG	1,31	0,17	1,31	0,76	1,84	0,005

\* p<0,05 u odnosu na KG



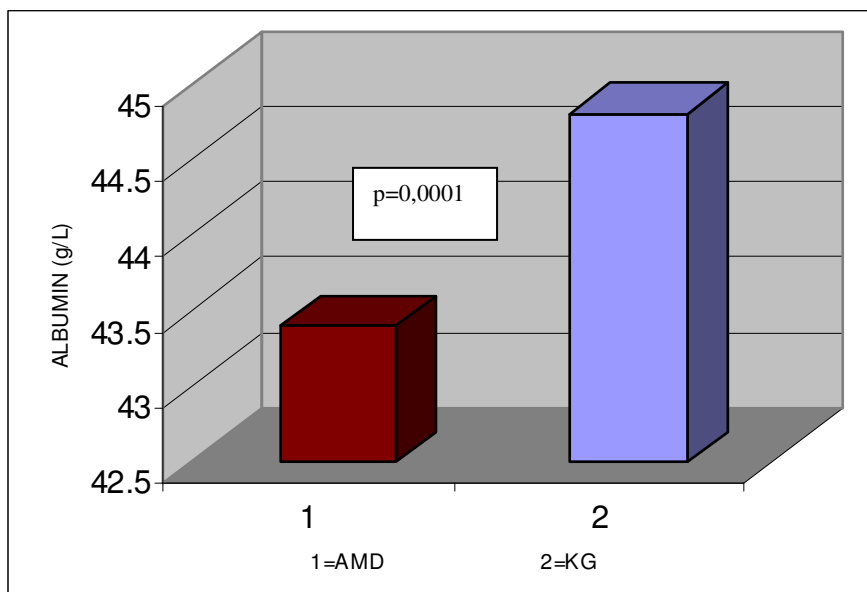
**Slika 15.** Medijana vrednosti TAS-a u grupama AMD i KG

#### 4.2.2.2. Analiza vrednosti albumina u ispitivanim grupama

Distribucija vrednosti albumina bila je normalna u svim patološkim grupama osim u kontrolnoj grupi. Najniže kao i najviše pojedinačne vrednosti dobijene su u KG, dok su najniže prosečne vrednosti dobijene u podgrupi ispitanika sa ranom formom AMD-a (Tabela V). Dobijena je statistička značajna razlika u srednjim vrednostima albumina između AMD i KG ( $t=3,981$ ;  $p=0,0001$ ) (slika 16). Dobijena je takođe značajna razlika između kasne-eksudativne forme AMD-a i KG ( $t=2,92$ ;  $p=0,004$ ) kao i između rane forme AMD i KG ( $t=3,557$ ;  $p=0,0006$ ).

**Tabela V.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti albumina po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Albumin (g/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	43,8	3,12	43	40	49	0,556
KASNA AMD/VLAŽNA	<b>43,6*</b>	2,6	44	37	51	0,503
RANA AMD	<b>42,8*</b>	2,19	43	39	49	0,08
AMD (SVI)	<b>43,36*</b>	2,57	43	37	51	0,539
KG	44,8	2,78	45	30	51	<b>&lt;0,0001</b>
* $p<0,05$ u odnosu na KG						



**Slika 16.** Srednje vrednosti albumina u grupama AMD i KG

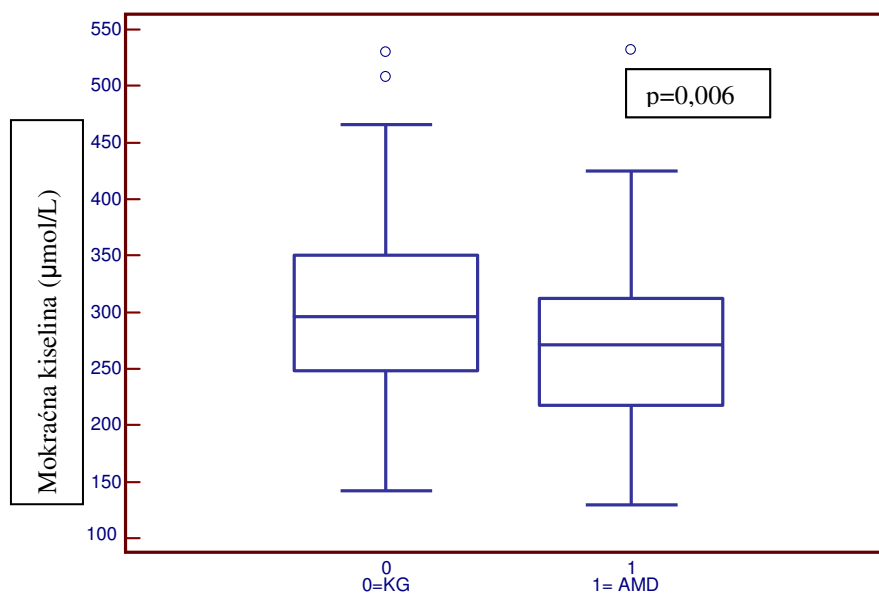
#### 4.2.2.3. Analiza vrednosti mokraćne kiseline u ispitivanim grupama

Distribucija vrednosti mokraćne kiseline je uglavnom bila neparametarska, osim u podgrupama kasne-suve i rane forme AMD-a. Najniže i najviše pojedinačne vrednosti dobijene su u podgrupi eksudativne AMD (Tabela VI), dok su najniže prosečne i medijana vrednosti dobijene u podgrupi kasne-suve forme AMD-a. Dobijena je statistički značajna razlika između grupe svih pacijenata sa AMD-om i KG ( $Z=2,76$ ;  $P=0,006$ ) (slika 17). Značajne razlike su dobijene u vrednostima mokraćne kiseline između grupe pacijenata sa eksudativnom formom AMD-a ( $Z=2,01$ ;  $P=0,044$ ) i ranom formom AMD-a u odnosu na KG ( $Z=1,978$ ;  $P=0,048$ ), dok je razlika između suve forme AMD-a i KG bila na granici značajnosti ( $Z=1,913$ ;  $P=0,055$ ).

**Tabela VI.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti mokraćne kiseline po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Mokraćna kiselina ( $\mu\text{mol/L}$ )						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	254,5	48,1	258,5*	234,0–287,0	158	332	0,508
KASNA AMD/VLAŽNA	274,9	73,2	272*	219,5–316,5	130	532	0,031
RANA AMD	265,2	59,5	270*	211,8–288,5	179	403	0,331
AMD (SVI)	271,5	68,5	271*	217,8–312,3	130	532	0,006
KG	302,1	74,6	295,5	248,0–350,0	142	530	0,027

\*  $p < 0,05$  u odnosu na KG



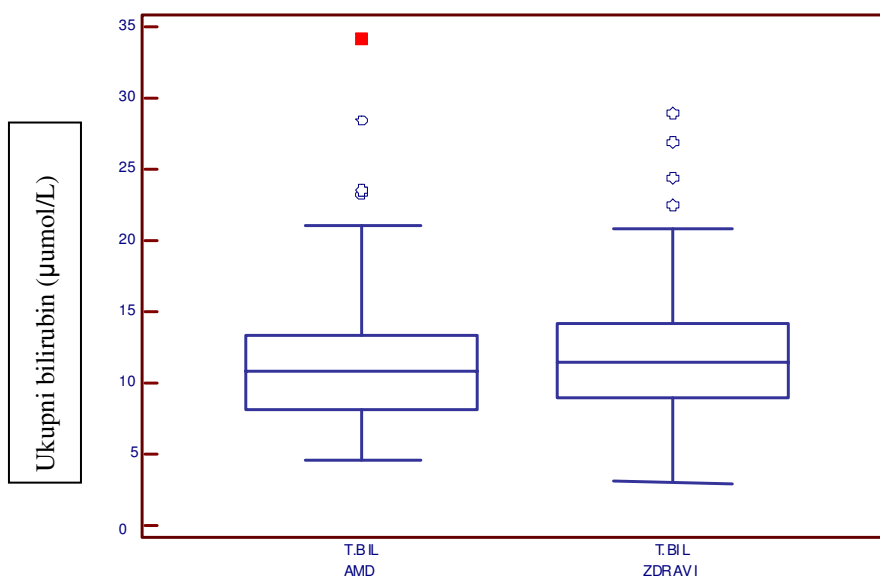
**Slika 17.** Medijane mokraćne kiseline u AMD i KG

#### 4.2.2.4. Analiza ukupnog i direktnog bilirubina u ispitivanim grupama

Vrednosti ukupnog i direktnog bilirubina su bile neparametarski distribuisane (osim u podgrupama rane AMD i suve forme za direktni bilirubin i u podgrupi suve forme za ukupni bilirubin). Najniže vrednosti medijana ukupnog i direktnog bilirubina dobijene su u podgrupi rane AMD dok su najniže pojedinačne vrednosti izmerene u kontrolnoj grupi (za ukupni bilirubin) (Tabela VII) i u podgrupi vlažne AMD (za direktni bilirubin) (Tabela VIII). Najveće pojedinačne vrednosti za oba parametra izmereno je u podgrupi vlažne forme AMD-a. Značajno je istaći da su najveće pojedinačne vrednosti po svim ispitanim grupama osim u podgrupi suve forme AMD-a bile iznad gornje granice referentnih vrednosti kako za ukupni tako i za direktni bilirubin. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednosti nijednog parametra između AMD i KG (slike 18 i 19), a takođe ni između pojedinačnih podgrupa međusobno, niti u odnosu na KG ( $p > 0,05$ ).

**Tabela VII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti ukupnog bilirubina po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Ukupni bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ )						
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Opseg</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
<i>KASNA AMD/SUVA</i>	10,60	4,69	10,15	7,1–11,2	4,9	21,0	0,096
<i>KASNA AMD/VLAŽNA</i>	11,82	5,15	11,20	8,2–13,7	4,6	34,2	<0,000
<i>RANA AMD</i>	10,68	4,11	9,70	7,8–13,2	5,5	23,3	0,005
<i>AMD (SVI)</i>	11,37	4,81	10,80	8,1–13,3	4,6	34,2	<0,000
<i>KG</i>	12,03	4,71	11,45	9,0–14,3	3,0	29,0	<0,000

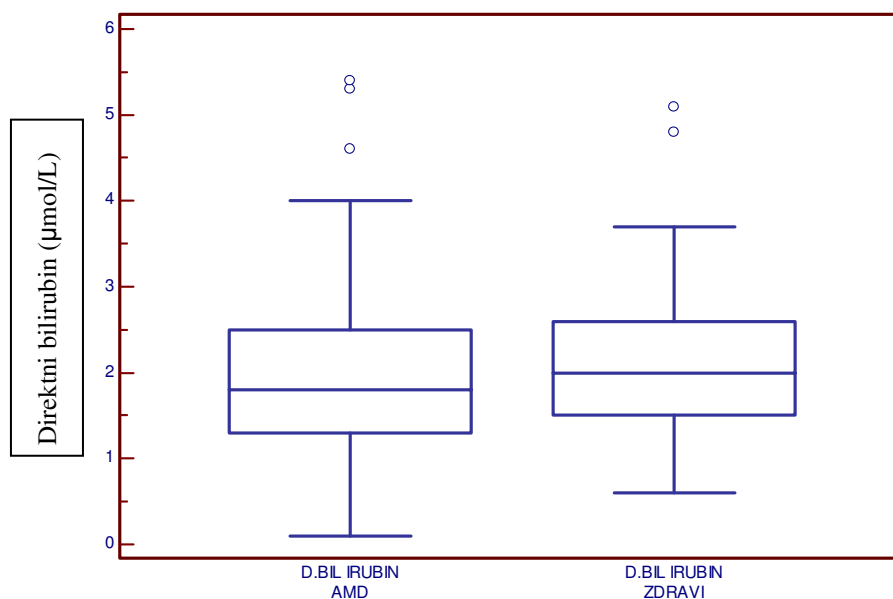


Slika 18. Medijane ukupnog bilirubina u grupama AMD i KG

Tabela VIII. Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti direktnog bilirubina po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Direktni bilirubin ( $\mu\text{mol/L}$ )						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	2,08	0,88	1,9	1,7–2,1	0,8	4,0	0,082
KASNA AMD/VLAŽNA	2,06	1,01	1,9	1,5–2,6	0,1	5,4	0,0002
RANA AMD	1,79	0,86	1,7	1,0–2,5	0,7	3,6	0,235
AMD (SVI)	1,98	0,96	1,8	1,3–2,5	0,1	5,4	0,0001
KG	2,12	0,88	2,0	1,5–2,6	0,6	5,1	0,0008





**Slika 19.** Srednje vrednosti direktnog bilirubina u grupama AMD i KG

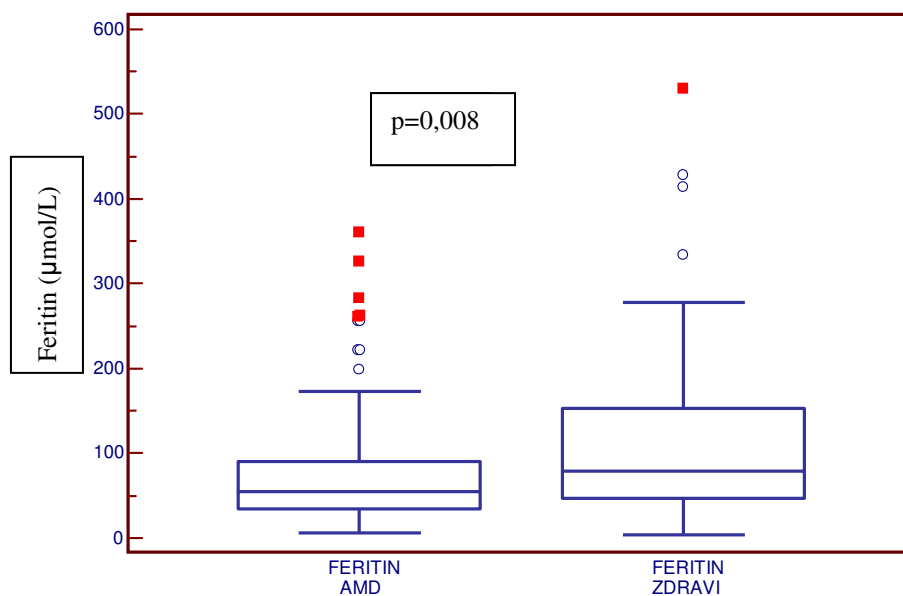
#### 4.2.2.5. Analiza vrednosti feritina u ispitivanim grupama

Distribucija feritina je bila neparametarska u svim ispitivanim grupama i podgrupama AMD-a (Tabela IX). Najniže pojedinačne kao i maksimalne pojedinačne vrednosti su dobijene u kontrolnoj grupi, dok su najniže medijana vrednosti dobijene u podgrupi kasne suve forme AMD-a. Značajno je istaći da su najveće pojedinačne vrednosti po svim ispitanim grupama i podgrupama bile iznad gornje granice referentnog opsega. Medijana vrednosti feritina u grupi svih pacijenata sa AMD-om su bile značajno niže u odnosu na kontrolnu grupu ( $Z=2,657$ ;  $P=0,008$ ) (slika 20). Značajno niže vrednosti su takođe dobijene u podgrupi vlažne forme AMD-a ( $Z=2,431$ ;  $P=0,015$ ), kao i u podgrupi suve forme u odnosu na KG ( $Z=2,635$ ;  $P=0,042$ ).

Tabela IX. Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti feritina po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Feritin ( $\mu\text{g/L}$ )						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	68,03	67,78	35,5*	27,0–121,3	15,0	222,0	0,028
KASNA AMD/VLAŽNA	81,99	74,74	55,2*	34,6–84,2	5,9	361,0	<0,000
RANA AMD	84,39	64,07	70,6	37,8–99,8	13,1	256,6	0,005
AMD (SVI)	82,90	75,05	55,4*	34,2–90,3	5,9	361,0	<0,000
KG	110,5	95,49	79,5	47,7–153,3	3,7	529,4	<0,000

\*  $p < 0,05$  u odnosu na KG



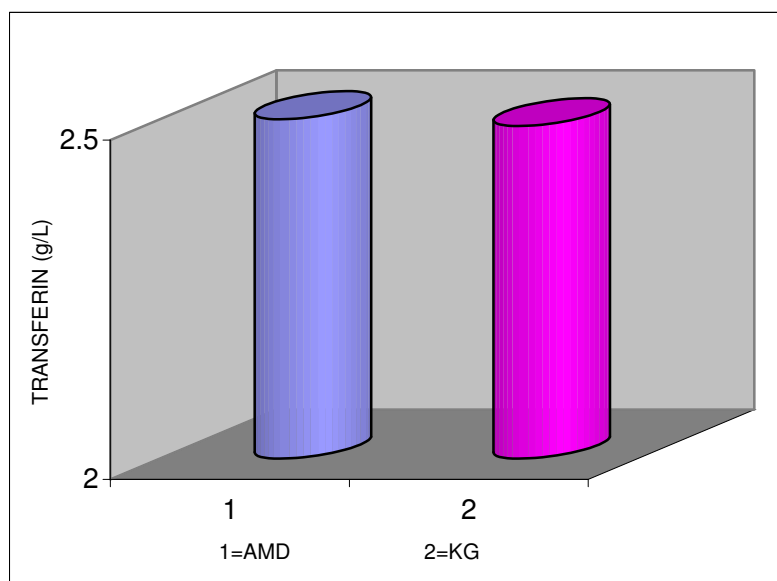
Slika 20. Medijane feritina u grupi AMD i KG

#### 4.2.2.6. Analiza vrednosti transferina u ispitivanim grupama

Distribucija transferina po svim ispitivanim grupama je bila normalna. Najveće prosečne i pojedinačne vrednosti dobijene su u podgrupi suve AMD (Tabela X), dok su najniže vrednosti (prosečne i pojedinačne) dobijene u podgrupi eksudativne AMD. Značajno je istaći da su minimalne pojedinačne vrednosti u podgrupi rane i eksudativne forme AMD-a kao i u kontrolnoj grupi bile niže od donje granice referentnog opsega (2,0 g/L), dok su najviše pojedinačne vrednosti u podgrupi suve forme AMD bile iznad gornje granice referentnih vrednosti (3,6 g/L). ANOVA testiranje je pokazalo da postoji značajna razlika među grupama ( $F=5,085$ ;  $P=0,002$ ). Nije dobijena statistički značajna razlika između grupe svih pacijenata sa AMD-om i KG ( $p=0,899$ ) (slika 21), ali je dobijena značajna razlika između podgrupe sa suvom formom bolesti i KG ( $t=3,427$ ;  $p=0,0009$ ) (tabela X), kao i između samih pojedinih podgrupa; između podgrupe sa uznapredovanom vlažnom i suvom formom AMD-a ( $t=3,539$ ;  $p=0,0007$ ) i između rane forme AMD-a i kasne suve forme ( $t=3,726$ ;  $p=0,0008$ ).

**Tabela X.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti transferina po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Transferin (g/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	2,92*	0,455	3,0	2,17	3,73	0,961
KASNA AMD/VLAŽNA	2,48♦	0,344	2,5	1,45	3,30	0,264
RANA AMD	2,42♦	0,304	2,4	1,96	3,21	0,233
AMD (SVI)	2,50	0,375	2,5	1,45	3,73	0,183
KG	2,49	0,358	2,4	1,82	3,39	0,064
* $p<0,05$ u odnosu na KG						
♦ $p<0,05$ u odnosu na suhu formu AMD-a						



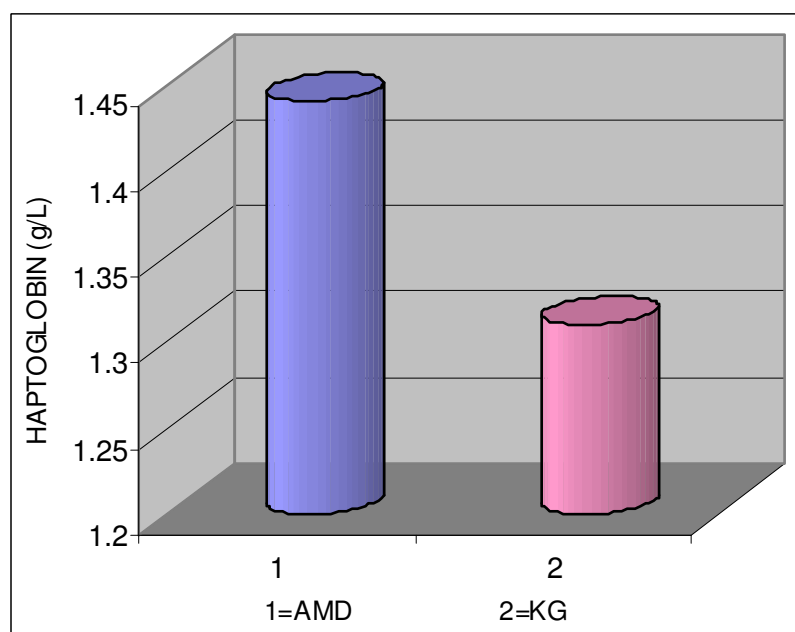
**Slika 21.** Srednje vrednosti transferina u grupama AMD i KG

#### 4.2.2.7. Analiza vrednosti haptoglobina u ispitivanim grupama

Vrednosti haptoglobina su bile normalno distribuisane u svim ispitivanim grupama. Najniže i najviše pojedinačne vrednosti su dobijene u podgrupi rane forme AMD-a, dok su najniže prosečne vrednosti izmerene u podgrupi sa suvom formom (Tabela XI). Najveće prosečne vrednosti su dobijene u kasnoj-eksudativnoj formi AMD-a. Nije dobijena nikakva značajna razlika između grupa ispitanika sa AMD-om i KG (slika 22), kao ni između pojedinačnih podgrupa AMD međusobno ili u odnosu na KG. Značajno je napomenuti da su maksimalne pojedinačne vrednosti u svim ispitanim grupama bile iznad gornje granice referentnih vrednosti (>2,3 g/L).

**Tabela XI.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti haptoglobina po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Haptoglobin (g/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	1,28	0,46	1,20	0,65	2,27	0,223
KASNA AMD/VLAŽNA	1,45	0,47	1,46	0,57	2,45	0,298
RANA AMD	1,41	0,63	1,49	0,35	2,58	0,682
AMD (SVI)	1,44	0,51	1,44	0,35	2,58	0,319
KG	1,31	0,53	1,32	0,3	2,32	0,691



**Slika 22.** Grafički prikaz srednjih vrednosti haptoglobina u grupama AMD i KG

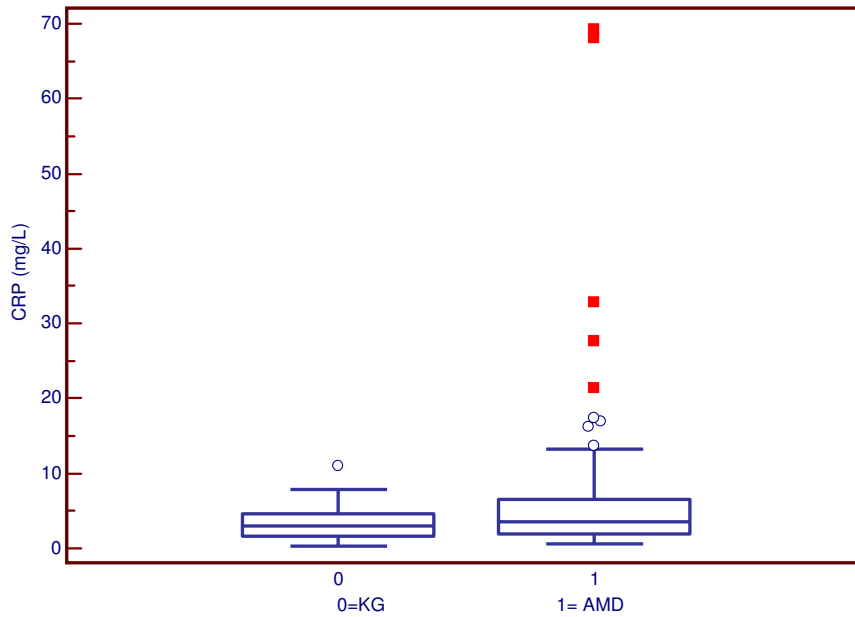
### 4.3. ANALIZA MARKERA INFLAMACIJE

#### 4.3.1. ANALIZA CRP-A

Distribucija CRP-a po svim ispitivanim grupama i podgrupama bila je neparametarska. Najniže pojedinačne vrednosti dobijene su u KG dok je najniža medijana bila u podgrupi rane forme AMD-a (Tabela XII). Najveća medijana, kao i najveće pojedinačne vrednosti dobijene su u grupi vlažne forme AMD-a. Značajna je konstatacija da su sve maksimalne pojedinačne vrednosti (u svim podgrupama) bile iznad gornje granice referentnog opsega (8 mg/L). Mann-Whitney U-testom dobijena razlika u vrednostima CRP-a između grupa AMD-a i KG je bila na granici značajnosti ( $Z=1,91$ ;  $p=0,056$ ) (slika 23). Dobijena je značajna razlika u vrednostima CRP-a između podgrupe sa vlažnom formom i KG ( $Z=1,90$ ;  $p=0,057$ ) koja je takođe bila na granici.

**Tabela XII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti CRP-a po svim ispitanim grupama

Ispitanici	CRP (mg/L)						
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Opseg</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
<i>KASNA AMD/SUVA</i>	4,09	3,31	3,65	1,70 – 5,00	1,1	12,5	0,0007
<i>KASNA AMD/VLAŽNA</i>	5,7	8,93	3,6*	2,10 – 6,10	0,6	69,2	<0,000
<i>RANA AMD</i>	6,21	8,18	2,4	1,63 – 7,75	0,8	32,9	<0,000
<i>AMD (SVI)</i>	6,07	10,27	3,5*	1,90 – 6,52	0,5	69,2	<0,000
<i>KG</i>	3,36	2,15	3,0	1,65 – 4,60	0,3	11,0	0,001



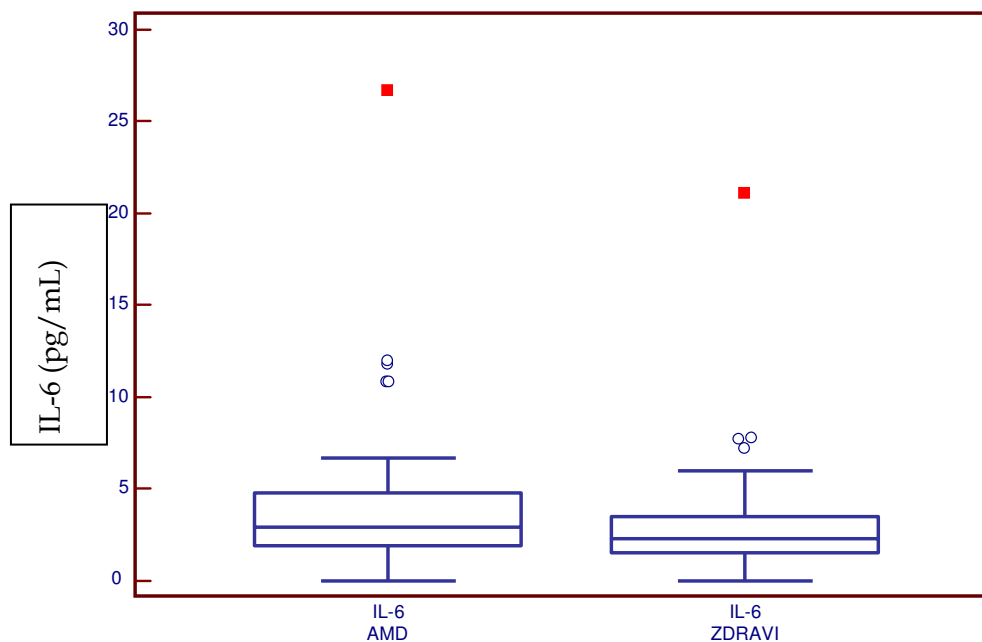
**Slika 23.** Medijane CRP-a u grupama AMD i KG

#### 4.3.2. ANALIZA INTERLEUKINA 6 (IL-6)

Distribucija IL-6 po svim ispitivanim grupama i podgrupama je bila neparametarska. Minimalne kao i maksimalne pojedinačne vrednosti su prevazilazile opseg referentnih vrednosti u svim grupama ispitanika (Ref. opseg: 1,9-6,5 pg/mL). Minimalne pojedinačne i medijana vrednosti dobijene su u KG, dok su maksimalne pojedinačne i medijana vrednosti dobijene u podgrupi suve forme AMD-a (Tabela XIII). Mann-Whitney U-test je pokazao da postoji mala razlika u vrednostima IL-6 između grupe svih AMD ispitanika i KG ( $Z=1.785$ ;  $P = 0.0743$ ) ali na granici značajnosti (slika 24). Nije dobijena statistički značajna razlika između pojedinačnih podgrupa ( $p=0,825$ ) niti između podgrupa i KG ( $p=0,471$ ).

**Tabela XIII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti IL-6 po svim ispitanim grupama

Ispitanici	IL-6 (pg/mL)						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	8,73	12,10	3,54	1,57 – 15,89	1,15	26,70	0,003
KASNA AMD/VLAŽNA	3,64	2,94	2,95	1,90 – 4,78	0,0	11,80	0,005
RANA AMD	3,32	2,77	2,82	1,68 – 3,88	0,8	11,99	<0,000
AMD (SVI)	4,16	4,44	2,93*	1,92 – 4,75	0,0	26,70	<0,000
KG	2,89	2,94	2,30	1,52 – 3,48	0,0	21,10	<0,000



**Slika 24.** Medijane IL-6 u grupama AMD i KG

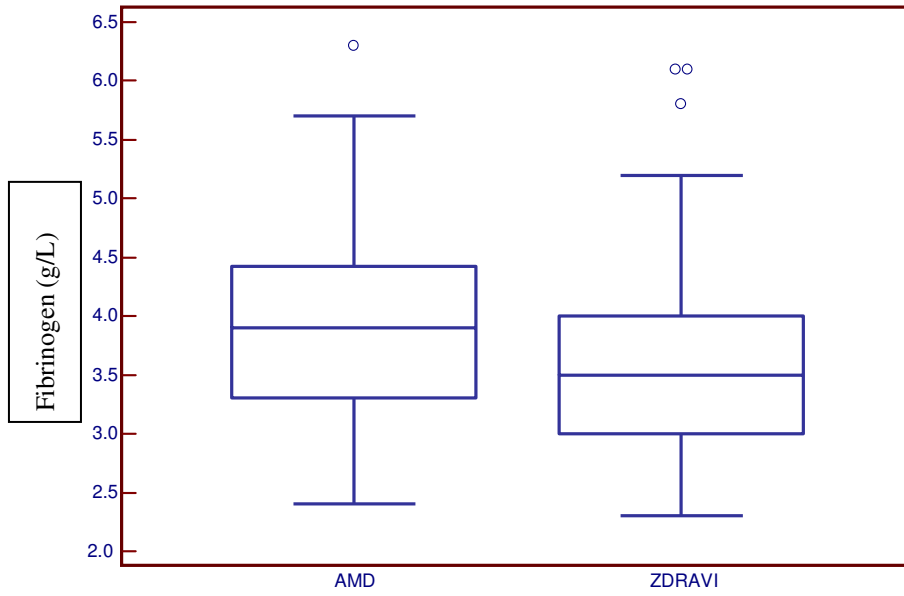


#### 4.3.3. ANALIZA FIBRINOGENA

Distribucija fibrinogena je bila normalna osim u KG i u podgrupi rane forme AMD-a. Najniže pojedinačne (2,3 g/L) i medijana vrednosti (3,5 g/L) dobijene su u KG, dok su najveće pojedinačne (6,3 g/L) i medijana vrednosti (3,9 g/L) dobijene u podgrupi rane forme AMD-a. Značajna je opservacija da su najveće pojedinačne vrednosti po svim ispitivanim grupama i podgrupama prevazilazile gornju granicu referentnog intervala. Dobijena je značajna razlika u vrednostima fibrinogena između AMD grupe i KG ( $Z=2,697$ ;  $P=0,007$ ) (slika 25), kao i između podgrupe sa vlažnom formom AMD-a i KG ( $Z=2,267$ ;  $P=0,023$ ).

**Tabela XIV.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti fibrinogena po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Fibrinogen (g/L)						
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Opseg</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
KASNA AMD/SUVA	3,5	0,91	3,65	2,6–4,3	2,4	4,3	0,157
KASNA AMD/VLAŽNA	<b>3,98*</b>	0,74	3,9	3,3–4,6	2,8	5,2	0,457
RANA AMD	3,91	0,93	3,9	3,3–4,0	2,4	6,3	<b>0,015</b>
AMD (SVI)	3,94*	0,81	3,9	3,3–4,3	2,4	6,3	0,221
KG	3,59	0,81	3,5	3,0–4,0	2,3	6,1	<b>0,000</b>
* $p < 0,05$ u odnosu na KG							



**Slika 25.** Medijane fibrinogena u grupama AMD i KG

#### 4.4. ANALIZA LIPIDNOG STATUSA ISPITANIKA

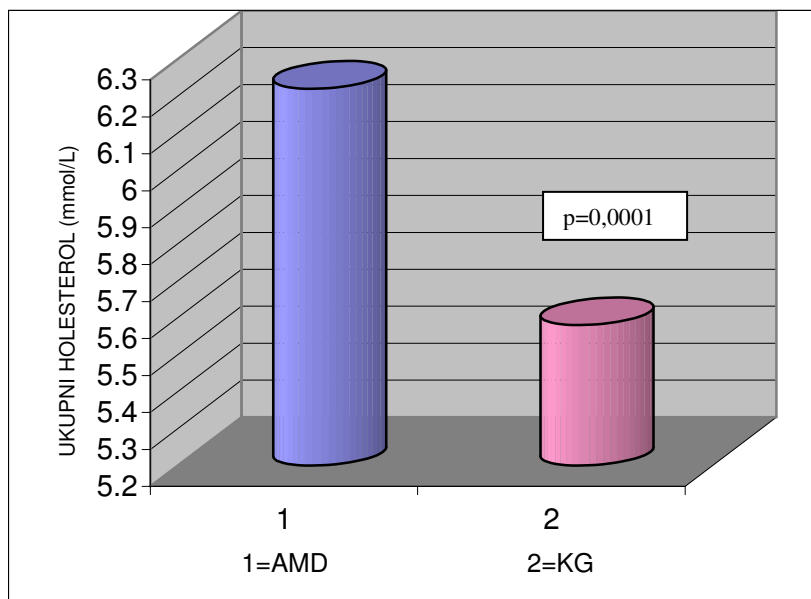
##### 4.4.1. ANALIZA LIPOPROTEINA

##### 4.4.1.1. Ukupni holesterol

Distribucija ukupnog holesterola je po svim ispitivanim grupama bila normalna. Srednje vrednosti ovog parametra po svim ispitivanim grupama su bile značajno iznad preporučenih i referentnih vrednosti (referentne vrednosti: <5,2 mmol/L). Najveće pojedinačne vrednosti su dobijene u podgrupi vlažne forme AMD-a, dok su najveće srednje vrednosti dobijene u podgrupi suve forme AMD-a. Najniže prosečne i pojedinačne vrednosti su dobijene u kontrolnoj grupi (Tabela XV). Dobijena je statistički značajna razlika u vrednostima holesterola između grupe svih AMD pacijenata i KG ( $t=4,08$ ;  $p=0,0001$ ) (slika 26), dok je ANOVA testom dobijena statistički značajna razlika između svih ispitivanih podgrupa u odnosu na KG ( $F=6,117$ ;  $P=0,001$ ). Značajna razlika je dobijena između KG i podgrupe sa vlažnom formom AMD-a ( $t=3,975$ ;  $p=0,0001$ ), i između KG i podgrupe sa ranom formom AMD-a ( $t=3,405$ ;  $p=0,001$ ). Nije dobijena značajna razlika između ispitivanih pojedinačnih AMD podgrupa.

**Tabela XV.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti ukupnog holesterola po svim ispitivanim grupama

Ispitanici	Ukupni holesterol (mmol/L)					
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
KASNA AMD/SUVA	5,90	0,96	5,58	4,43	7,1	0,512
KASNA AMD/VLAŽNA	<b>6,25*</b>	1,12	6,19	3,99	9,4	0,806
RANA AMD	<b>6,32*</b>	1,19	6,02	3,84	8,9	0,552
AMD (SVI)	<b>6,22*</b>	1,13	6,10	3,84	9,4	0,707
KG	5,58	0,84	5,71	3,05	7,4	0,094
* $p<0,05$ u odnosu na KG						



**Slika 26.** Srednje vrednosti ukupnog holesterola u AMD i KG

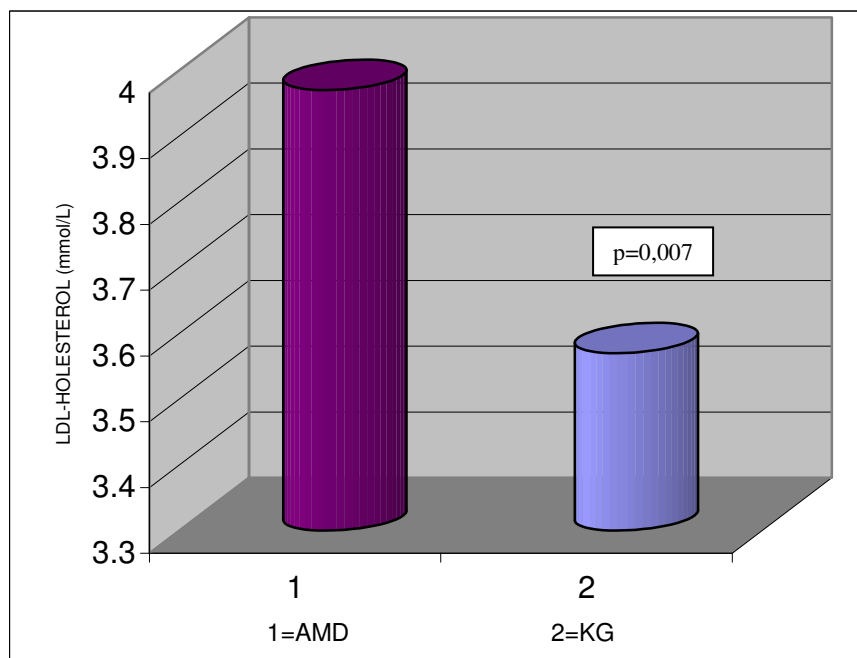
#### 4.4.1.2. LDL-holesterol

Distribucija LDL-holesterola po svim ispitivanim grupama i podgrupama je takođe bila normalna. Najniže prosečne vrednosti su dobijene u KG dok su najniže pojedinačne vrednosti dobijene u podgrupi vlažne forme AMD-a (Tabela XVI). Najveće prosečne (4,12 mmol/L) i pojedinačne vrednosti (6,94 mmol/L) dobijene u podgrupi rane forme AMD-a. Dobijena je statistički značajna razlika između grupe svih AMD pacijenata i KG u vrednostima LDL-holesterola ( $t=2,715$ ;  $p=0,007$ ), dok je ANOVA testom dobijena statistički značajna razlika između svih ispitivanih podgrupa i KG ( $F=2,911$ ;  $P=0,036$ ). Značajna statistička razlika je utvrđena između KG i podgrupe sa vlažnom formom AMD-a ( $t=2,189$ ;  $p=0,028$ ) (slika 27), kao i između KG i podgrupe sa ranom formom AMD-a ( $t=2,885$ ;  $p=0,0048$ ), dok između pojedinačnih podgrupa AMD-a nije dobijena statistički značajna razlika.

**Tabela XVI.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti LDL-holesterola po svim ispitanim grupama

Ispitanici	LDL-holesterol (mmol/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	3,73	0,78	3,62	2,20	4,60	0,653
KASNA AMD/VLAŽNA	3,95*	1,07	3,94	0,35	6,80	0,162
RANA AMD	4,12*	1,04	4,07	2,53	6,94	0,197
AMD (SVI)	3,97*	1,03	3,96	0,35	6,94	0,168
KG	3,57	0,86	3,68	0,95	5,23	0,202

\* p<0,05 u odnosu na KG



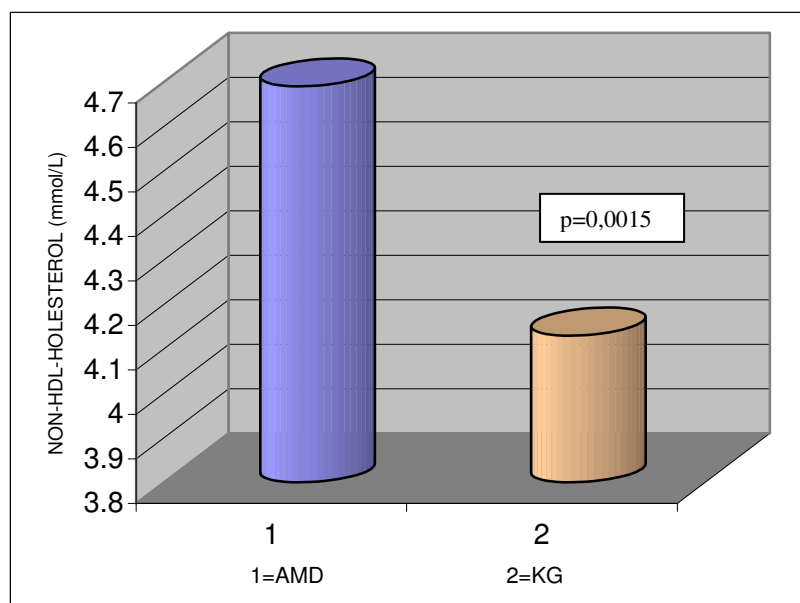
**Slika 27.** Prikaz srednjih vrednosti LDL-holesterola u AMD i KG

#### 4.4.1.3 Non-HDL-holesterol

Distribucija vrednosti non-HDL-holesterola je sledila Gaussovu raspodelu po svim ispitivanim grupama i podgrupama. Najniže prosečne vrednosti su dobijene u KG dok su najniže pojedinačne vrednosti dobijene u podgrupi vlažne forme AMD-a kao i u grupi svih ispitanika sa AMD-om (Tabela XVII). Najveće prosečne (4,89 mmol/L) i pojedinačne vrednosti (7,83 mmol/L) dobijene u podgrupi rane forme AMD-a. Dobijena je statistički značajna razlika između grupe svih AMD pacijenata i KG u vrednostima non-HDL-holesterola ( $t=3,18$ ;  $p=0,0015$ ) (slika 28), dok je ANOVA testom dobijena statistički značajna razlika između svih ispitivanih podgrupa i KG ( $F=4,997$ ;  $p=0,002$ ). Značajna statistička razlika je utvrđena između KG i podgrupe sa vlažnom formom AMD-a ( $t=2,87$ ;  $p=0,004$ ), kao i između KG i podgrupe sa ranom formom AMD-a ( $t=2,53$ ;  $p=0,011$ ), dok između pojedinačnih podgrupa AMD-a nije dobijena statistički značajna razlika.

**Tabela XVII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti non-HDL-holesterola po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Non-HDL-holesterol (mmol/L)					
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
KASNA AMD/SUVA	4,28	0,97	4,07	2,42	5,65	0,798
KASNA AMD/VLAŽNA	<b>4,66*</b>	1,09	4,67	1,58	7,65	0,772
RANA AMD	<b>4,89*</b>	1,22	4,51	2,87	7,83	0,237
AMD (SVI)	<b>4,69*</b>	1,12	4,61	1,58	7,83	0,424
KG	4,13	0,82	4,23	2,0	5,65	0,434
* $p<0,05$ u odnosu na KG						



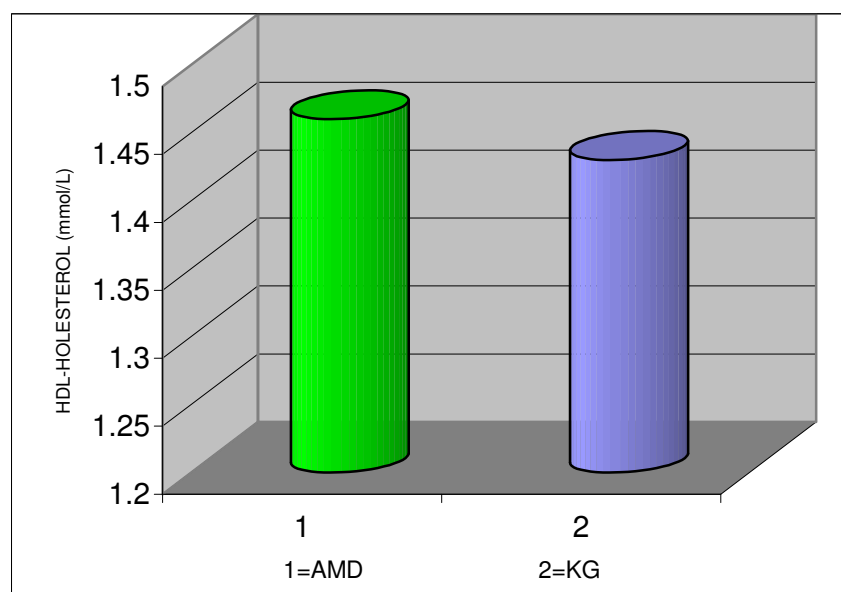
**Slika 28.** Grafički prikaz vrednosti non-HDL-holesterola u AMD i KG

#### 4.4.1.4. Ukupni HDL-holesterol

Vrednosti HDL-holesterola bile su normalno distribuisane po svim ispitivanim grupama i podgrupama. Najniže i najveće pojedinačne vrednosti su zabeležene u KG, dok su najniže srednje vrednosti izmerene u podgrupi AMD-a sa ranom formom bolesti, a najveće srednje vrednosti su dobijene u podgrupi sa eksudativnom formom AMD-a (tabela XVIII). Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima ukupnog HDL-holesterola niti između grupe svih AMD pacijenata i KG ( $t=0,680$ ;  $P=0,497$ ) (slika 29), niti između pojedinačnih podgrupa AMD-a u odnosu na KG ( $F=0,698$ ;  $p=0,554$ ).

**Tabela XVIII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti HDL-holesterola po svim ispitanim grupama

Ispitanici	HDL-holesterol (mmol/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	1,43	0,37	1,28	0,94	2,03	0,417
KASNA AMD/VLAŽNA	1,50	0,34	1,49	0,90	2,35	0,245
RANA AMD	1,42	0,31	1,40	0,89	1,94	0,393
AMD (SVI)	1,46	0,34	1,44	0,89	2,35	0,120
KG	1,43	0,35	1,41	0,78	2,48	0,085



**Slika 29.** Prikaz srednjih vrednosti HDL-holesterola u grupama svih AMD i KG



#### 4.4.1.5. HDL<sub>2</sub>-holesterol

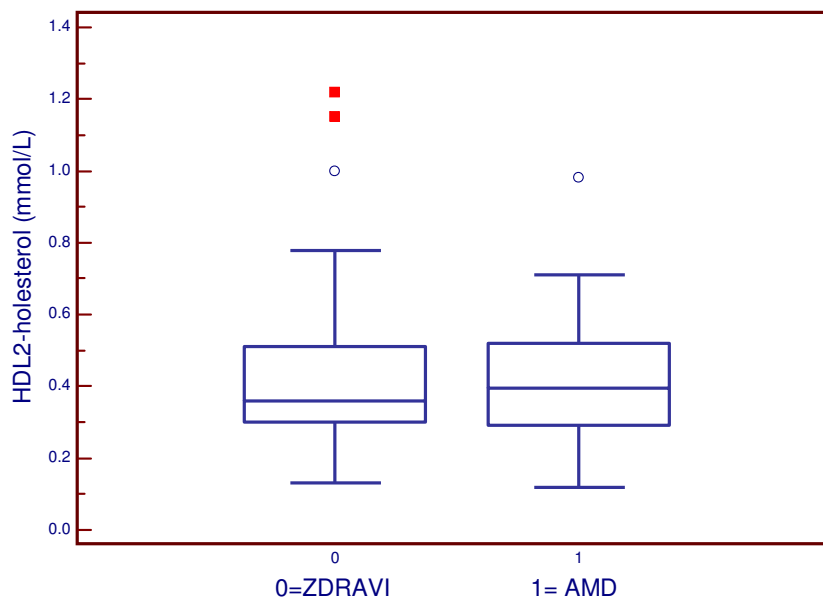
Vrednosti HDL<sub>2</sub>-holesterola bile su normalno distribuisane u svim ispitivanim podgrupama osim u kontrolnoj grupi (tabela XIX). Najniže, kako pojedinačne (0,12 mmol/L) tako i srednje vrednosti (0,38 mmol/L) dobijene su u podgrupi AMD sa eksudativnom formom bolesti, dok su najveće pojedinačne vrednosti dobijene u KG (1,22 mmol/L). Najveće srednje vrednosti su dobijene u podgrupi geografske atrofije (suva forma AMD-a). Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima HDL<sub>2</sub>-holesterola između KG i grupe svih pacijenata sa AMD-om ( $Z=0,164$ ;  $p=0,870$ ) (slika 30), ali je dobijena značajna razlika između pojedinih podgrupa kako između sebe tako i u odnosu na KG ( $F=2,790$ ;  $p=0,043$ ). Dobijena je statistički značajna razlika u vrednostima HDL<sub>2</sub>-holesterola između podgrupe AMD-a sa geografskom atrofijom (suva forma AMD) i KG ( $Z=1,928$ ;  $P=0,05$ ), ali takođe i između podgrupa sa eksudativnom formom AMD-a i geografske atrofije ( $t=3,18$ ;  $p=0,0027$ ), kao i između podgrupa rane i kasne-suve forme AMD-a ( $t=2,507$ ;  $p=0,021$ ).

Interesantno je zapažanje da su prosečne vrednosti HDL<sub>2</sub>-holesterola u podgrupi AMD pacijenata sa suvom formom bolesti bile značajno veće od prosečnih vrednosti u KG, dok su srednje vrednosti ovog parametra u podgrupi AMD pacijenata sa vlažnom formom bolesti bile značajno niže od srednjih vrednosti u KG

**Tabela XIX.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti HDL<sub>2</sub>-holesterola po svim ispitanim grupama

Ispitanici	HDL <sub>2</sub> -holesterol (mmol/L)					
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	0,60*	0,25	0,63	0,33	0,98	0,248
KASNA AMD/VLAŽNA	0,38*♦	0,15	0,37	0,12	0,63	0,357
RANA AMD	0,42	0,13	0,4	0,14	0,67	0,839
AMD (SVI)	0,41	0,17	0,39	0,12	0,98	0,062
KG	0,42	0,19	0,36	0,13	1,22	<0,000

\* p<0,05 u odnosu na KG  
♦ p<0,05 u odnosu na suhu formu AMD



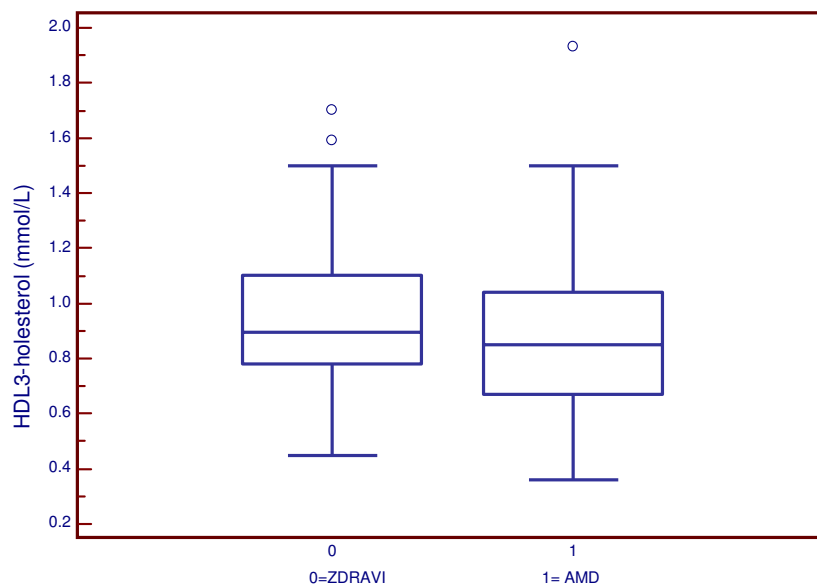
**Slika 30.** Medijane HDL<sub>2</sub>-holesterola u grupama AMD i KG

#### 4.4.1.6. HDL<sub>3</sub>-holesterol

Distribucija vrednosti HDL<sub>3</sub>-holesterola bila je neparametarska, osim u podgrupi rane forme AMD-a (tabela XX). Najniže (0,36 mmol/L) i najviše pojedinačne (1,93 mmol/L) vrednosti HDL<sub>3</sub>-holesterola zabeležene su u podgrupi pacijenata sa kasnom-eksudativnom formom AMD-a. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima ovog parametra između grupe svih AMD pacijenata i KG ( $Z=1,725$ ;  $p=0,084$ ) (slika 31), niti između pojedinačnih podgrupa AMD međusobno (Kruskal-Wallis test= $2,246$ ;  $p=0,522$ ), a takođe ni između pojedinačnih podgrupa u odnosu na KG ( $p= 0,949$ ).

**Tabela XX.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti HDL<sub>3</sub>-holesterola po svim ispitanim grupama

Ispitanici	HDL <sub>3</sub> -holesterol (mmol/L)						
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Opseg</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
<b>KASNA AMD/SUVA</b>	0,91	0,28	0,84	0,74–0,96	0,63	1,43	<b>0,047</b>
<b>KASNA AMD/VLAŽNA</b>	0,89	0,31	0,85	0,64–1,05	0,36	1,93	<b>0,006</b>
<b>RANA AMD</b>	0,89	0,25	0,83	0,70–0,99	0,56	1,32	0,263
<b>AMD (SVI)</b>	0,88	0,29	0,85	0,67–1,04	0,36	1,93	<b>0,001</b>
<b>KG</b>	0,94	0,24	0,89	0,78–1,10	0,45	1,70	<b>0,038</b>



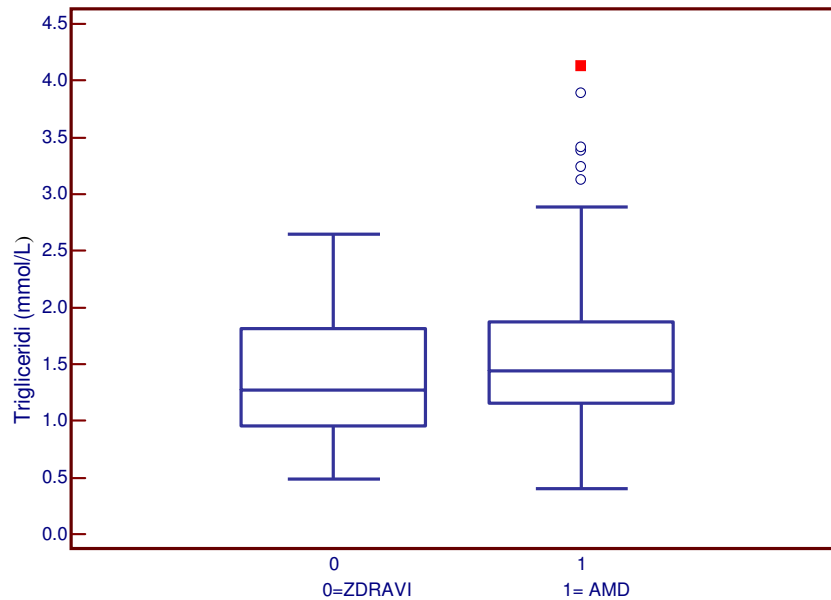
**Slika 31.** Medijana vrednosti HDL3-holesterola u grupama AMD i KG

#### 4.4.1.7. Trigliceridi

Distribucija triglicerida je uglavnom bila neparametarska, osim u kontrolnoj grupi i u podgrupi kasne-suve AMD (geografska atrofija). Najniže pojedinačne vrednosti su izmerene u podgrupi vlažne AMD (eksudativna forma), dok su najniže srednje i medijana vrednosti dobijene u KG (tabela XXI). Najveće pojedinačne i srednje vrednosti su dobijene u podgrupi AMD pacijenata sa ranom formom bolesti. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima triglicerida između AMD i KG ( $Z=1,66$ ;  $p=0,097$ ) (slika 32), kao ni između pojedinačnih podgrupa ( $p=0,448$ ).

**Tabela XXI.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti triglicerida po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Trigliceridi (mmol/L)						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	1,58	0,40	1,49	1,26–1,58	1,25	2,35	0,103
KASNA AMD/VLAŽNA	1,56	0,62	1,43	1,16–1,82	0,40	3,89	<0,0001
RANA AMD	1,66	0,84	1,41	1,11–1,87	0,75	4,13	0,0025
AMD (SVI)	1,60	0,68	1,44	1,16–1,88	0,40	4,13	<0,0001
KG	1,41	0,53	1,27	0,95–1,82	0,49	2,65	0,148



**Slika 32.** Vrednosti medijana triglicerida u grupama AMD i KG

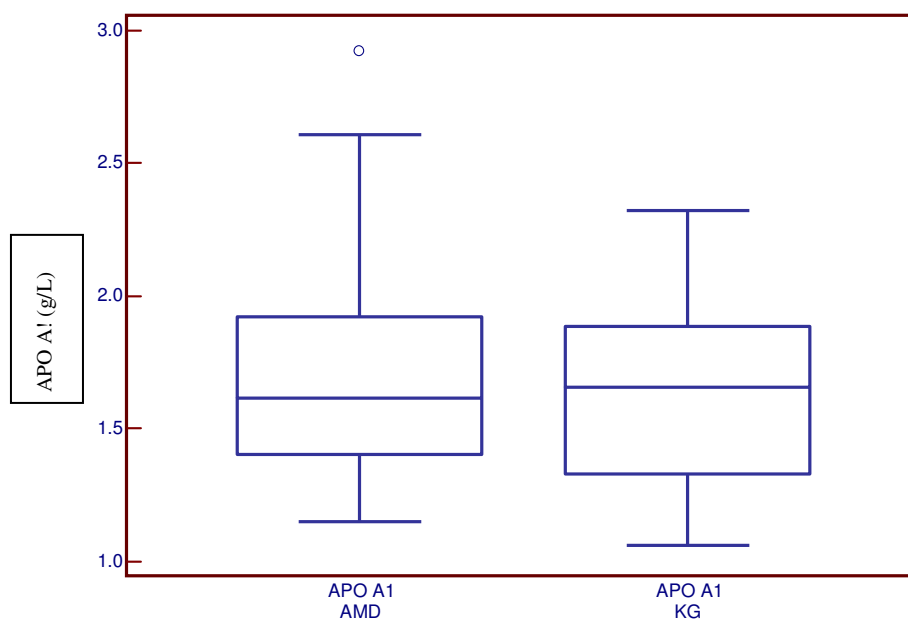
#### 4.4.2. ANALIZA APOPROTEINA

##### 4.4.2.1. Apolipoprotein A1

Distribucija vrednosti apoproteina A1 je uglavnom bila normalna u ispitivanim grupama i podgrupama osim u podgrupi suve AMD (geografska atrofija) a samim tim i u grupi svih pacijenata sa AMD-om. Najniže pojedinačne (1,06 g/L) i srednje (1,62 g/L) vrednosti dobijene su u kontrolnoj grupi (tabela XXII) dok su najveće pojedinačne vrednosti iznerene u podgrupi suve AMD. Najveće srednje a i medijana vrednosti su dobijene u podgrupi eksudativne forme AMD-a. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima apoproteina A1 između AMD i KG ( $p=0,196$ ) (slika 33) niti između pojedinačnih podgrupa ( $p=0,745$ ).

**Tabela XXII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti apolipoproteina A1 po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Apolipoprotein A1 (g/L)						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	1,70	0,48	1,59	1,38–1,70	1,19	2,92	0,0008
KASNA AMD/VLAŽNA	1,71	0,34	1,66	1,44–1,97	1,16	2,61	0,192
RANA AMD	1,65	0,32	1,60	1,36–1,90	1,17	2,48	0,281
AMD (SVI)	1,69	0,35	1,62	1,40–1,92	1,15	2,92	0,0024
KG	1,62	0,35	1,66	1,33–1,88	1,06	2,32	0,303



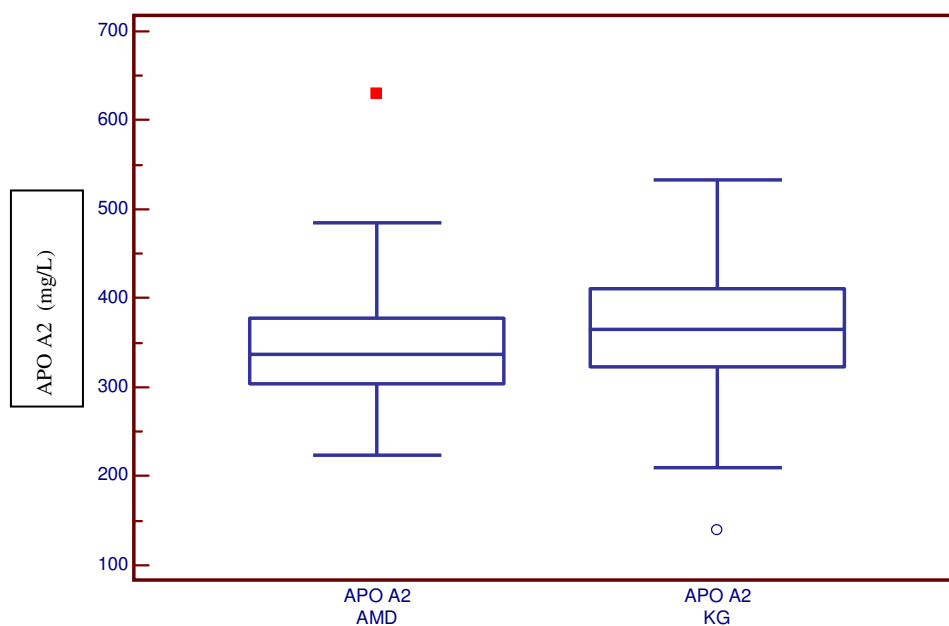
**Slika 33.** Srednje vrednosti apoproteina A1 u grupama AMD i KG

#### 4.4.2.2. Apolipoprotein A2

Distribucija apoproteina A2 je bila neparametarska samo u podgrupi rane AMD, a samim tim i u grupi svih pacijenata sa AMD-om. Najniže pojedinačne vrednosti su izmerene u kontrolnoj grupi (139,5 mg/L), dok su najniže prosečne vrednosti izmerene u podgrupi suve AMD (335,7 mg/L) (tabela XXIII). Najveće srednje vrednosti su dobijene u kontrolnoj grupi (361,9 mg/L) dok su najveće pojedinačne vrednosti dobijene u podgrupi rane AMD (630 mg/L). Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima apo A2 između grupa AMD i KG ( $p=0,118$ ) (slika 34), kao ni između pojedinačnih podgrupa AMD ( $p=0,614$ ) (tabela XXIII).

**Tabela XXIII.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti apolipoproteina A2 po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Apolipoprotein A2 (mg/L)						
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Opseg</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
<b>KASNA AMD/SUVA</b>	335,7	63,2	340	273,5 – 390,0	261	447	0,573
<b>KASNA AMD/VLAŽNA</b>	352,9	57,2	340	314,8 – 383,9	260	485	0,072
<b>RANA AMD</b>	341,3	79,1	322	290,3 – 365,0	241	630	<b>&lt;0,0001</b>
<b>AMD (SVI)</b>	346,7	63,8	337	304,2 – 388,4	223	630	<b>&lt;0,0001</b>
<b>KG</b>	361,9	65,8	366	322,5 – 411,0	140	533	0,095



**Slika 34.** Grafički prikaz srednjih vrednosti Apo A2 u grupama AMD i KG

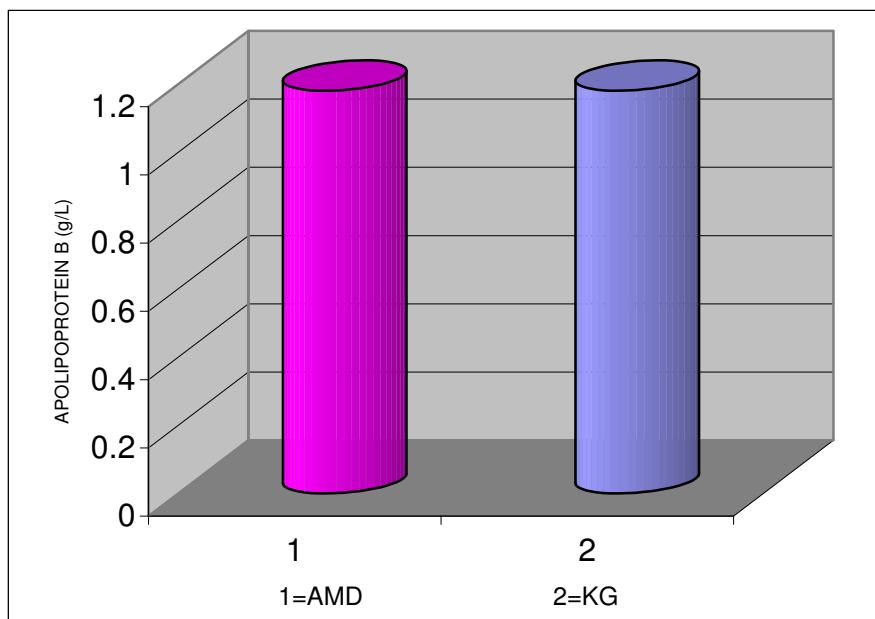


#### 4.4.2.3. Apolipoprotein B

Distribucija apoproteina B sledila je Gaussovu krivulju raspodele u svim grupama i podgrupama. Najmanje (0,57 g/L) kao i najveće (1,92 g/L) pojedinačne vrednosti apo B izmerene su u podgrupi rane AMD (tabela XXIV), dok su najveće srednje vrednosti (1,19 g/L) dobijene u podgrupi rane AMD. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima Apo B između grupa AMD i KG ( $p=0,919$ ) (slika 35) kao ni između pojedinačnih podgrupa AMD-a ( $p=0,984$ ) (tabela XXIV).

**Tabela XXIV.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti apolipoproteina B po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Apolipoprotein B (g/L)						
	$\bar{X}$	<i>SD</i>	<i>Mediana</i>	<i>Opseg</i>	<i>Min.vr.</i>	<i>Max.vr.</i>	<i>Norm. distrib.</i>
<i>KASNA AMD/SUVA</i>	1,17	0,21	1,15	1,00–1,37	0,88	1,47	0,506
<i>KASNA AMD/VLAŽNA</i>	1,18	0,27	1,15	0,98–1,37	0,70	1,85	0,241
<i>RANA AMD</i>	1,19	0,32	1,15	1,03–1,33	0,57	1,92	0,276
<i>AMD (SVI)</i>	1,18	0,27	1,15	0,99–1,36	0,57	1,92	0,183
<i>KG</i>	1,18	0,25	1,17	1,00–1,36	0,64	1,77	0,532



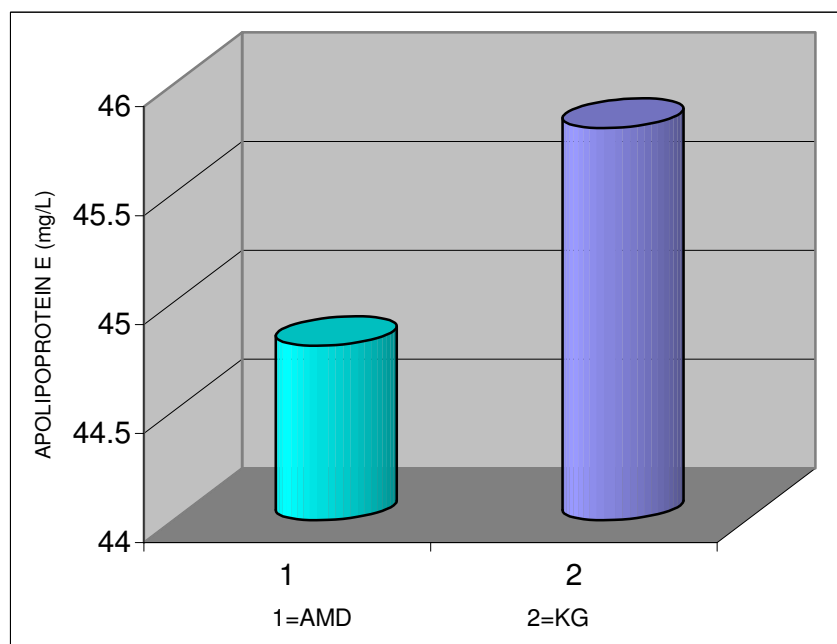
**Slika 35.** Prikaz srednjih vrednosti apoproteina B u grupama AMD i KG

#### 4.4.2.4. Apolipoprotein E

Distribucija apolipoproteina E je bila normalna u svim podgrupama AMD-a osim u kontrolnoj grupi (tabela XXV). Najmanje (13,2 mg/L) kao i najveće (88,7 mg/L) pojedinačne vrednosti izmerene su u kontrolnoj grupi. Najniže srednje vrednosti Apo E su dobijene u podgrupi eksudativne forme AMD-a, dok su najveće srednje vrednosti izmerene u podgrupi rane forme AMD-a. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima Apo E između AMD i KG ( $p=0,552$ ) (slika 36), kao ni između podgrupa AMD ( $p=0,365$ ), niti između pojedinih podgrupa AMD-a i kontrolne grupe ( $p=0,622$ ) (tabela XXV).

**Tabela XXV.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti apolipoproteina E po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Apolipoprotein E (mg/L)						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	44,9	8,92	43,9	40,8–49,0	32,0	61,5	0,783
KASNA AMD/VLAŽNA	43,8	9,96	44,5	37,5–48,9	21,6	70,0	0,608
RANA AMD	47,4	11,1	47,0	38,9–51,7	40,3	75,0	0,187
AMD (SVI)	44,8	10,3	44,9	38,0–49,3	21,6	75,0	0,280
KG	45,8	14,2	43,9	36,2–53,9	13,2	88,7	<b>0,033</b>



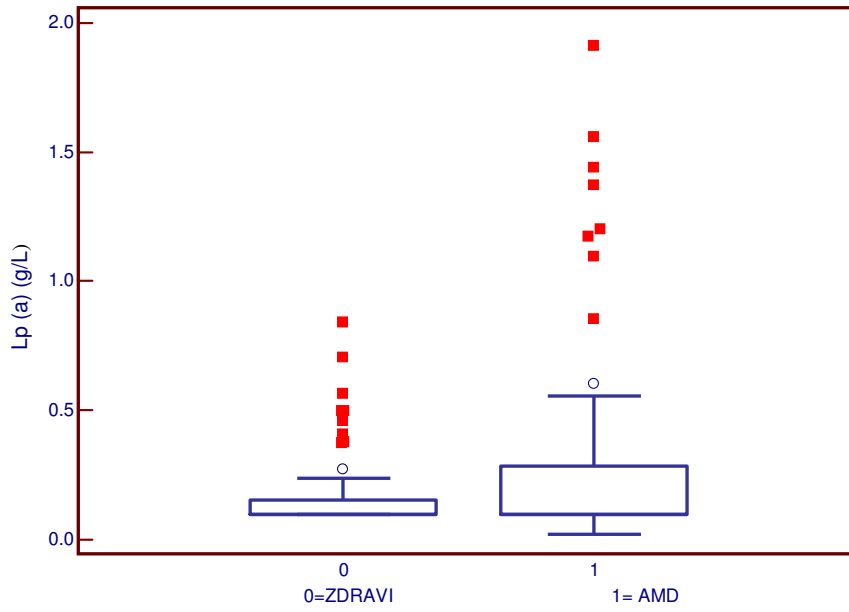
**Slika 36.** Prikaz srednjih vrednosti apoproteina E u grupama AMD i KG

#### 4.4.2.5. Lipoprotein (a)

Distribucija lipoproteina (a) bila je neparametarska u svim ispitivanim grupama i podgrupama (tabela XXVI). Najmanje (0,020 g/L) kao i najveće (1,91 g/L) pojedinačne vrednosti izmerene su u podgrupi kasne-suve AMD, dok je najniža medijana dobijena u kontrolnoj grupi i u podgrupi eksudativne AMD (0,098 g/L). Najveća medijana je dobijena u podgrupi suve forme AMD (0,16 g/L). Nije dobijena statistički značajna razlika između AMD i KG u vrednostima Lp(a) ( $p=0,723$ ) (slika 37), niti između pojedinačnih AMD podgrupa ( $p=0,925$ ) (tabela XXVI).

**Tabela XXVI.** Srednje, minimalne, maksimalne i medijana vrednosti lipoproteina (a) po svim ispitanim grupama

Ispitanici	Lipoprotein (a) (g/L)						
	$\bar{X}$	SD	Mediana	Opseg	Min.vr.	Max.vr.	Norm. distrib.
KASNA AMD/SUVA	0,44	0,62	0,160	0,043–0,49	0,020	1,91	0,006
KASNA AMD/VLAŽNA	0,26	0,36	0,098	0,098–0,22	0,024	1,56	<0,0001
RANA AMD	0,18	0,15	0,120	0,098–0,20	0,023	0,56	0,007
AMD (SVI)	0,26	0,36	0,098	0,098–0,29	0,024	1,91	<0,0001
KG	0,17	0,15	0,098	0,098–0,16	0,098	0,842	<0,0001



Slika 37. Medijane Lp(a) u grupama AMD i KG

## 4.5. KORELACIJE

### 4.5.1. KORELACIJE IZMEĐU ENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA I PARAMETARA INFLAMACIJE

Primenom Spearmanove korelacije dobili smo niz značajnih korelacija između enzimskih antioksidanasa i markera inflamacije. Tako npr. u grupi svih pacijenata sa AMD-om dobili smo negativnu i značajnu korelaciju između GPx-a i CRP-a ( $p=0,041$ ) (tabela XXVII), dok u kontrolnoj grupi negativnu korelaciju između GPx-a i IL-6 ( $p=0,054$ ) a pozitivnu između GR-a i fibrinogena, ali na granici značajnosti ( $p=0,076$ ).

**Tabela XXVII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između antioksidantnih enzima i parametara inflamacije

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>SOD&amp;CRP</i> $\rho$	-0,064	-0,055	0,200	-0,148	0,071
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>SOD&amp; IL-6</i> $\rho$	-0,014	<b>0,612</b>	0,400	-0,244	0,130
<i>p</i>	N.S	<b>0,066</b>	N.S	N.S	N.S
<i>SOD &amp; FIB.</i> $\rho$	0,230	0,279	0,800	0,321	0,157
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GPx&amp; CRP</i> $\rho$	<b>-0,222</b>	-0,089	-0,243	<b>-0,254</b>	-0,094
<i>p</i>	<b>0,041</b>	N.S	N.S	<b>0,076</b>	N.S
<i>GPx &amp; IL-6</i> $\rho$	0,091	0,365	-0,60	-0,174	<b>-0,249</b>
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,054</b>
<i>GPx &amp; FIB.</i> $\rho$	-0,037	-0,176	0,316	0,127	-0,068
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; CRP</i> $\rho$	0,066	-0,077	-0,306	0,155	-0,186
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; IL-6</i> $\rho$	-0,058	0,187	-0,50	-0,227	-0,246
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; FIB.</i> $\rho$	0,230	<b>0,609</b>	0,80	0,087	<b>0,407</b>
<i>p</i>	N.S	<b>0,035</b>	N.S	N.S	<b>0,076</b>

Statistički značajnu i pozitivnu korelaciju smo dobili takođe između GR-a i fibrinogena u grupi rane forme AMD-a ( $p=0,035$ ), kao i između SOD-a i IL-6, ali na granici značajnosti ( $p=0,066$ ). Negativna korelacija je dobijena u grupi eksudativne AMD između GPx-a i CRP-a ali na granici značajnosti ( $p=0,076$ ).

#### 4.5.2. KORELACIJE IZMEĐU NE-ENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA I PARAMETARA INFLAMACIJE

**Tabela XXVIII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između ne-enzimskih antioksidanasa i parametara inflamacije

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>TAS &amp; CRP</i> $\rho$	0,085	-0,149	0,042	0,113	0,135
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>TAS &amp; IL-6</i> $\rho$	-0,202	<b>-0,633</b>	<b>-0,999</b>	0,156	-0,127
<i>p</i>	N.S	<b>0,045</b>	<b>0,083</b>	N.S	N.S
<i>TAS &amp; FIB.</i> $\rho$	-0,152	-0,235	0,40	-0,257	-0,161
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Alb. &amp; CRP</i> $\rho$	-0,125	-0,171	0,128	-0,180	-0,015
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Alb. &amp; IL-6</i> $\rho$	<b>-0,339</b>	-0,474	-0,738	-0,152	-0,179
<i>p</i>	<b>0,022</b>	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Alb. &amp; FIB.</i> $\rho$	-0,164	-0,285	0,105	-0,073	-0,116
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;CRP</i> $\rho$	0,149	-0,08	-0,067	<b>0,292</b>	<b>0,268</b>
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	<b>0,02</b>	<b>0,016</b>
<i>Ac.Ur.&amp;IL-6</i> $\rho$	0,145	-0,104	-0,40	<b>0,398</b>	0,028
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	<b>0,047</b>	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;FIB.</i> $\rho$	-0,096	-0,339	-0,80	0,140	0,019
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>D.Bil.&amp;CRP</i> $\rho$	<b>-0,185</b>	-0,245	-0,549	-0,096	0,076
<i>p</i>	<b>0,059</b>	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>D.Bil.&amp;IL-6</i> $\rho$	0,198	0,06	0,894	0,223	-0,022
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>D.Bil.&amp;FIB.</i> $\rho$	-0,243	-0,198	-0,316	-0,283	-0,068
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

Što se tiče neenzimskih antioksidanasa i parametara inflamacije, dobijeno je niz negativnih korelacija između TAS-a i IL-6 u grupi rane AMD ( $p=0,045$ ) (tabela XXVIII) i u grupi geografske atrofije ali na granici značajnosti. Srednje jaka negativna korelacija između albumina i IL-6 dobijena je u grupi svih pacijenata sa AMD-om ( $p=0,022$ ), dok je korelacija između CRP-a i direktnog bilirubina u istoj grupi bila slaba i negativna i na granici značajnosti ( $p=0,059$ ).

Pozitivne korelacije između mokraćne kiseline i CRP-a ( $p=0,02$ ) tj. IL-6 ( $p=0,047$ ) dobijene su u grupi vlažne AMD, dok je u kontrolnoj grupi pozitivna i značajna korelacija dobijena takođe između mokraćne kiseline i CRP-a ( $p=0,016$ ).

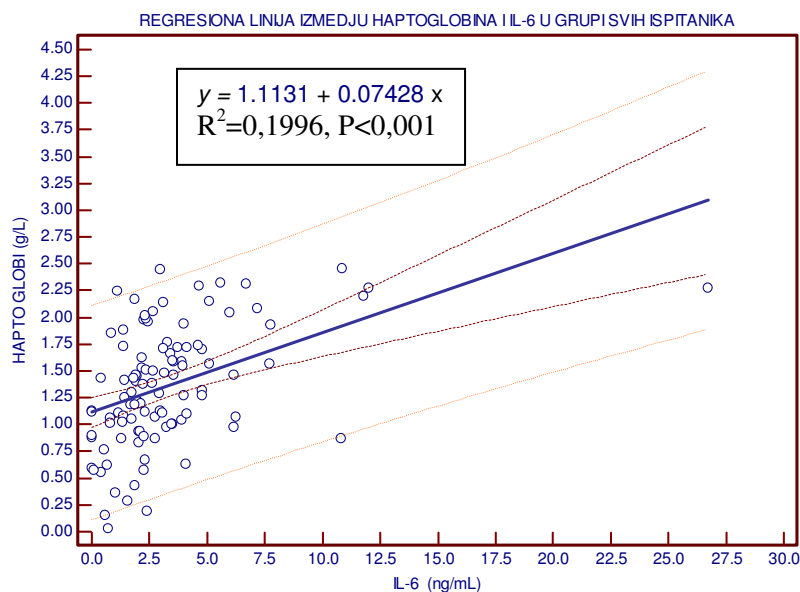
**Tabela XXIX.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između neenzimskih antioksidanasa i parametara inflamacije

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>Ferit.&amp;CRP</i> $\rho$ <i>p</i>	0,139 N.S	-0,173 N.S	<b>-0,794</b> <b>0,017</b>	<b>0,426</b> <b>0,001</b>	<b>0,206</b> <b>0,062</b>
<i>Ferit.&amp;IL-6</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,326</b> <b>0,035</b>	0,515 N.S	-0,60 N.S	<b>0,533</b> <b>0,009</b>	0,081 N.S
<i>Ferit.&amp;FIB.</i> $\rho$ <i>p</i>	0,214 N.S	0,113 N.S	0,20 N.S	0,204 N.S	-0,167 N.S
<i>Trns.&amp;CRP</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,063 N.S	-0,101 N.S	<b>0,576</b> <b>0,084</b>	-0,154 N.S	-0,095 N.S
<i>Trns.&amp;IL-6</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,201 N.S	-0,248 N.S	0,20 N.S	-0,263 N.S	-0,03 N.S
<i>Trns.&amp;FIB.</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,107 N.S	-0,268 N.S	0,80 N.S	0,101 N.S	<b>0,195</b> <b>0,078</b>
<i>Hpt. &amp; CRP</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,389</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,426</b> <b>0,057</b>	0,442 N.S	<b>0,429</b> <b>0,001</b>	<b>0,303</b> <b>0,006</b>
<i>Hpt. &amp; IL-6</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,441</b> <b>0,004</b>	<b>0,903</b> <b>0,007</b>	<b>1,0</b> <b>0,083</b>	0,280 N.S	<b>0,489</b> <b>&lt;0,001</b>
<i>Hpt.&amp; FIB.</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,565</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,724</b> <b>0,009</b>	0,20 N.S	<b>0,503</b> <b>0,025</b>	<b>0,566</b> <b>&lt;0,001</b>

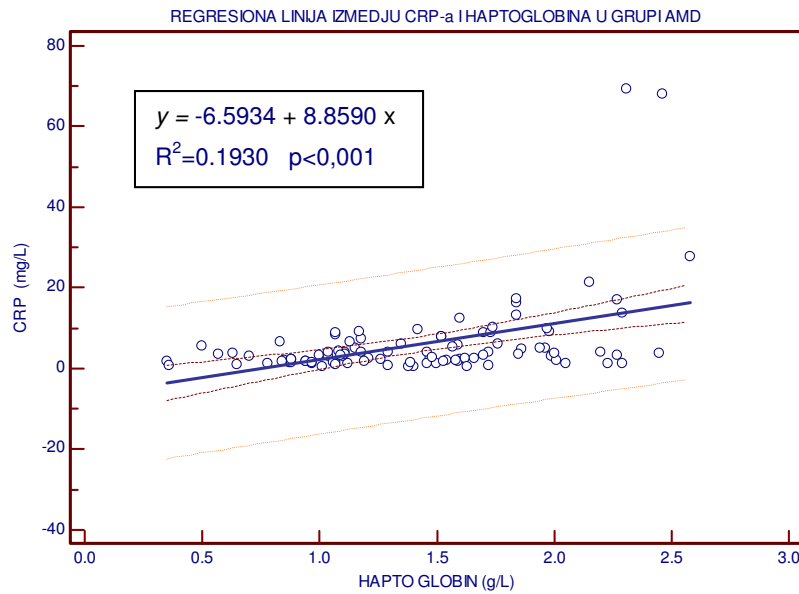


Vrlo jake pozitivne korelacije su dobijene između haptoglobina i svih markera inflamacije kako u AMD grupi i u kontrolnoj tako i u podgrupi rane forme AMD-a (tabela XXIX), dok je u podgrupi vlažne forme AMD-a pozitivna i dosta jaka korelacija dobijena između haptoglobina i CRP ( $p=0,001$ ) (slika 39) odnosno između haptoglobina i fibrinogena ( $p=0,025$ ). U podgrupi suve AMD haptoglobin je visoko korelisao sa IL-6 ali na granici značajnosti (slika 38).

Feritin je pozitivno korelisao sa CRP-om u kontrolnoj grupi ( $p=0,062$ ) i podgrupi vlažne AMD ( $p=0,001$ ) kao i sa IL-6 ( $p=0,009$ ) u istoj podgrupi, dok je u podgrupi suve AMD negativno i visoko je korelisao sa CRP-om ( $p=0,017$ ). Transferin je pozitivno korelisao sa CRP-om samo u podgrupi suve AMD ali na granici značajnosti ( $p=0,084$ ).



**Slika 38.** Regresiona linija između haptoglobina i IL-6 sa 95% IP i 95% PI u grupi svih ispitanika



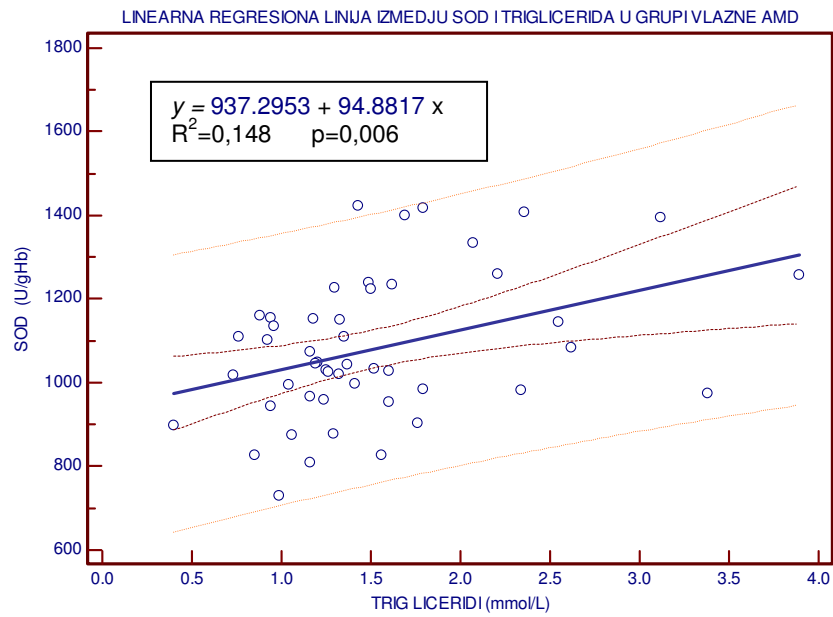
**Slika 39.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između CRP-a i haptoglobina u grupi AMD

#### 4.5.3. KORELACIJA IZMEĐU ENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA I PARAMETARA LIPIDNOG STATUSA

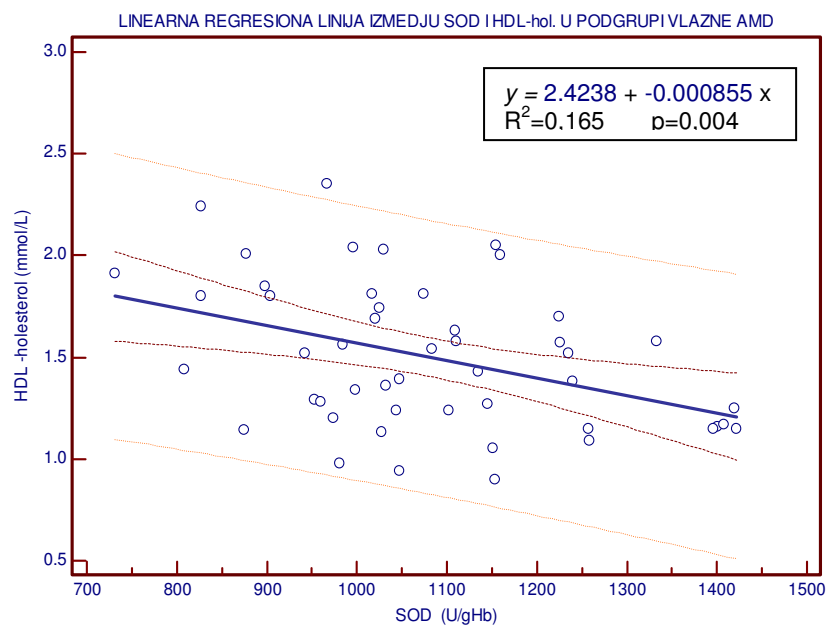
Inverzna i statistički značajna korelacija je dokumentovana između SOD-a i HDL-holesterola ( $p=0,011$ ) (tabela XXX) u podgrupi vlažne AMD (slika 41) kao i u grupi svih pacijenata sa AMD-om ( $p=0,08$ ) ali na granici značajnosti. Srednje jaku pozitivnu korelaciju ( $\rho=0,480$ ) ali na granici značajnosti dobili smo između SOD-a i HDL<sub>2</sub>-holesterola u podgrupi rane forme AMD-a. Između SOD-a i triglicerida je dobijena takođe pozitivna korelacija i to u podgrupi vlažne ( $p=0,01$ ) (slika 40) i rane AMD ( $p=0,03$ ). Između SOD-a i Lp(a) dobijena je negativna i srednje jaka korelacija u podgrupi vlažne AMD ( $p=0,012$ ).

**Tabela XXX.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između SOD-a i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>SOD&amp;HOL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,084 N.S	0,271 N.S	0,233 N.S	<b>-0,240</b> <b>0,097</b>	<b>-0,227</b> <b>0,067</b>
<i>SOD&amp;HDL</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,196</b> <b>0,08</b>	0,144 N.S	0,367 N.S	<b>-0,369</b> <b>0,011</b>	-0,098 N.S
<i>SOD&amp;HDL<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,024 N.S	<b>0,480</b> <b>0,096</b>	0,429 N.S	-0,152 N.S	-0,16 N.S
<i>SOD&amp;HDL<sub>3</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,041 N.S	-0,006 N.S	0,429 N.S	0,058 N.S	0,018 N.S
<i>SOD&amp;LDL</i> $\rho$ <i>p</i>	0,028 N.S	0,223 N.S	0,233 N.S	-0,125 N.S	-0,076 N.S
<i>SOD&amp;TRIG.</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,243</b> <b>0,03</b>	0,148 N.S	-0,326 N.S	<b>0,372</b> <b>0,01</b>	0,088 N.S
<i>SOD&amp;ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,143 N.S	0,293 N.S	0,042 N.S	-0,252 N.S	-0,122 N.S
<i>SOD&amp;ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,083 N.S	-0,165 N.S	0,117 N.S	-0,107 N.S	-0,155 N.S
<i>SOD&amp;ApoB</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,032 N.S	0,116 N.S	0,117 N.S	-0,162 N.S	-0,02 N.S
<i>SOD&amp;ApoE</i> $\rho$ <i>p</i>	0,045 N.S	0,549 N.S	-0,45 N.S	0,007 N.S	0,082 N.S
<i>SOD&amp;Lp(a)</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,186 N.S	0,138 N.S	0,059 N.S	<b>-0,393</b> <b>0,012</b>	0,029 N.S



**Slika 40.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između SOD i triglicerida u grupi vlažne AMD



**Slika 41.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između SOD i HDL-holesterola u grupi vlažne AMD

Slaba pozitivna korelacija je dobijena u KG između GPx i HDL-holesterola ( $p=0,012$ ), dok je pozitivna značajna korelacija između GPx-a i HDL<sub>3</sub>-holesterola dobijena u svim grupama i podgrupama (slika 42), osim u podgrupi suve forme AMD-a (tabela XXXI). Visoko značajna negativna korelacija dobijena je između GPx i LDL-holesterola u podgrupi suve AMD ( $p=0,033$ ). Pozitivna korelacija je dobijena između GPx i Apo A<sub>1</sub> u podgrupi rane AMD i grupe svih pacijenata sa AMD-om, a negativna između GPx-a i Apo A<sub>2</sub> u podgrupi suve AMD kao i između GPx-a i Apo B u grupi svih pacijenata sa AMD-om ali na granici značajnosti ( $p=0,05$ ).

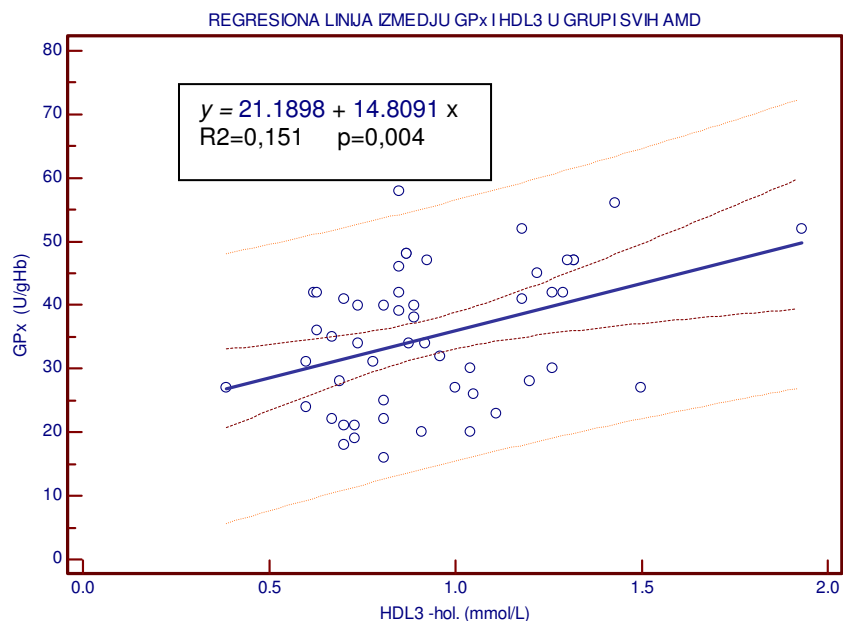
**Tabela XXXI.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između GPx-a i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>GPx &amp; HOL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,07 N.S	0,004 N.S	-0,460 N.S	-0,039 N.S	0,116 N.S
<i>GPx &amp; HDL</i> $\rho$ <i>p</i>	0,117 N.S	0,308 N.S	-0,159 N.S	0,134 N.S	<b>0,278</b> <b>0,012</b>
<i>GPx &amp; HDL<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,131 N.S	0,215 N.S	<b>-0,812</b> <b>0,07</b>	0,156 N.S	0,145 N.S
<i>GPx &amp; HDL<sub>3</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,360</b> <b>0,01</b>	<b>0,697</b> <b>0,016</b>	-0,029 N.S	<b>0,393</b> <b>0,037</b>	<b>0,220</b> <b>0,049</b>
<i>GPx &amp; LDL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,144 N.S	-0,208 N.S	<b>-0,753</b> <b>0,033</b>	-0,119 N.S	0,127 N.S
<i>GPx &amp; TRIG.</i> $\rho$ <i>p</i>	0,09 N.S	-0,052 N.S	0,227 N.S	0,142 N.S	-0,178 N.S
<i>GPx &amp; ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,225</b> <b>0,052</b>	<b>0,475</b> <b>0,05</b>	-0,092 N.S	<b>0,261</b> <b>0,083</b>	0,184 N.S
<i>GPx &amp; ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,076 N.S	-0,197 N.S	<b>-0,686</b> <b>0,052</b>	0,171 N.S	-0,086 N.S
<i>GPx &amp; ApoB</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,225</b> <b>0,052</b>	-0,232 N.S	-0,552 N.S	-0,224 N.S	-0,024 N.S
<i>GPx &amp; ApoE</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,057 N.S	0,109 N.S	<b>-0,594</b> <b>0,093</b>	-0,119 N.S	-0,036 N.S
<i>GPx &amp; Lp(a)</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,062 N.S	0,052 N.S	-0,294 N.S	-0,085 N.S	-0,078 N.S

Dve izuzetno jake i značajne pozitivne korelacije između GR i LDL-holesterola ( $p=0,042$ ) kao i između GR i Apo E ( $p=0,038$ ) dobijene su u podgrupi suve AMD (tabela XXXII), dok je korelacija između GR-a i HDL<sub>2</sub>-holesterola bila takođe pozitivna i jaka ( $\rho=0,900$ ) ali na granici značajnosti ( $p=0,072$ ). U kontrolnoj grupi su takođe dobijene dve korelacije, jedna pozitivna između GR i Apo A<sub>1</sub> ( $\rho=0,408$ ) i jedna negativna između GR-a i ukupnog holesterola ( $\rho=-0,532$ ) ali na granici značajnosti ( $p=0,07$ )

**Tabela XXXII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između GR-a i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>		<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>GR &amp; HOL</i>	$\rho$	0,028	-0,068	0,631	0,065	<b>-0,532</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,077</b>
<i>GR &amp; HDL</i>	$\rho$	0,048	-0,014	0,234	0,117	0,309
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; HDL<sub>2</sub></i>	$\rho$	0,262	0,366	<b>0,900</b>	0,094	0,009
	<i>p</i>	N.S	N.S	<b>0,072</b>	N.S	N.S
<i>GR &amp; HDL<sub>3</sub></i>	$\rho$	-0,060	-0,278	-0,300	0,076	0,288
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; LDL</i>	$\rho$	0,056	-0,033	<b>0,829</b>	-0,026	-0,141
	<i>p</i>	N.S	N.S	<b>0,042</b>	N.S	N.S
<i>GR &amp; TRIG.</i>	$\rho$	-0,217	-0,117	-0,155	-0,271	0,002
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; ApoA<sub>1</sub></i>	$\rho$	-0,105	-0,047	0,218	0,024	<b>0,408</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,078</b>
<i>GR &amp; ApoA<sub>2</sub></i>	$\rho$	-0,01	0,017	0,631	-0,025	-0,017
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; ApoB</i>	$\rho$	-0,123	-0,146	0,505	-0,182	0,061
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>GR &amp; ApoE</i>	$\rho$	<b>0,284</b>	0,326	<b>0,847</b>	0,203	-0,006
	<i>p</i>	<b>0,049</b>	N.S	<b>0,038</b>	N.S	N.S
<i>GR &amp; Lp(a)</i>	$\rho$	0,006	0,078	0,054	-0,004	-0,275
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S



**Slika 42.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između GPx i HDL<sub>3</sub>-hol u grupi AMD

#### 4.5.4. KORELACIJA IZMEĐU NE-ENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA I LIPIDNIH PARAMETARA

Pozitivne i značajne korelacije su dobijene između TAS-a i HDL<sub>3</sub>-holesterola u podgrupama rane i kasne-eksudativne forme AMD-a kao i u grupi svih pacijenata sa AMD-om (tabela XXXIII), dok je jaka negativna i značajna korelacija dobijena između TAS-a i triglicerida u podgrupi kasne-suve forme AMD-a ( $p=0,011$ ). Slabe ali negativne korelacije su dobijene u kontrolnoj grupi između TAS-a i HDL-holesterola ( $p=0,04$ ) tj. HDL<sub>2</sub>-holesterola ( $p=0,037$ ), kao i između TAS-a i LDL-holesterola ali na granici značajnosti ( $p=0,066$ ).

**Tabela XXXIII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenta korelacije između TAS-a i lipo/apoproteina

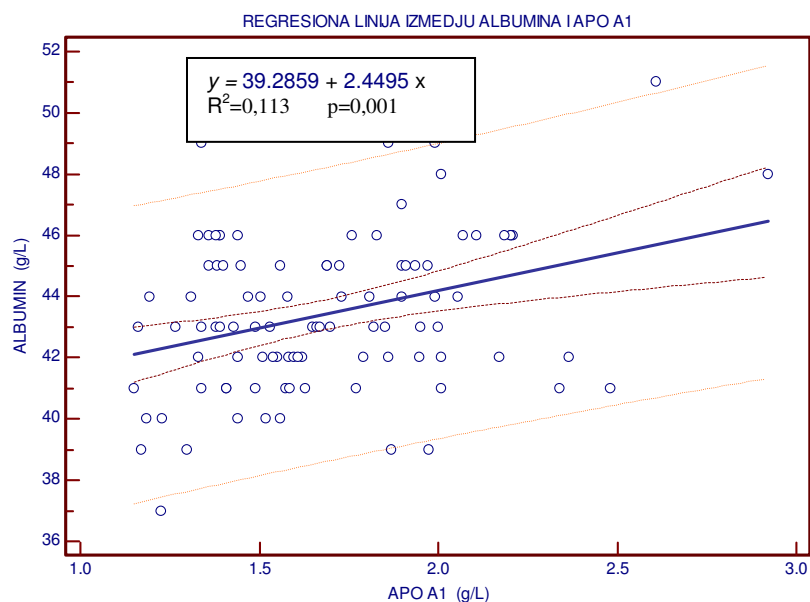
<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>TAS &amp; HOL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,111 N.S	-0,024 N.S	0,115 N.S	-0,178 N.S	-0,179 N.S
<i>TAS &amp; HDL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,093 N.S	0,238 N.S	0,321 N.S	-0,199 N.S	<b>-0,227</b> <b>0,04</b>
<i>TAS &amp; HDL<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,078 N.S	-0,018 N.S	-0,143 N.S	0,041 N.S	<b>-0,234</b> <b>0,037</b>
<i>TAS &amp; HDL<sub>3</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,370</b> <b>0,003</b>	<b>0,642</b> <b>0,016</b>	0,429 N.S	<b>0,317</b> <b>0,051</b>	-0,183 N.S
<i>TAS &amp; LDL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,046 N.S	-0,008 N.S	-0,188 N.S	-0,103 N.S	<b>-0,215</b> <b>0,066</b>
<i>TAS &amp; TRIG.</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,130 N.S	-0,340 N.S	<b>-0,851</b> <b>0,011</b>	-0,049 N.S	0,160 N.S
<i>TAS &amp; ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,125 N.S	-0,176 N.S	-0,097 N.S	-0,124 N.S	-0,069 N.S
<i>TAS &amp; ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,100 N.S	0,389 N.S	0,455 N.S	0,032 N.S	0,120 N.S
<i>TAS &amp; ApoB</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,065 N.S	-0,142 N.S	-0,055 N.S	-0,052 N.S	0,028 N.S
<i>TAS &amp; ApoE</i> $\rho$ <i>p</i>	0,05 N.S	0,035 N.S	0,152 N.S	-0,008 N.S	0,093 N.S
<i>TAS &amp; Lp(a)</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,076 N.S	-0,138 N.S	0,091 N.S	-0,045 N.S	-0,093 N.S

Slaba i srednje jaka pozitivna korelacija je dobijena između koncentracije albumina i HDL-holesterola u grupi svih AMD pacijenata ( $p=0,029$ ) i u podgrupi rane AMD ( $p=0,035$ ) (tabela XXXIV) kao i između albumina i Apo A1 u istim grupama i u podgrupi vlažne AMD ( $p=0,039$ ) (slika 43). Pozitivne i srednje jake korelacije su dobijene između albumina i Apo A2 u grupama AMD-a ( $p=0,001$ ) i KG ( $p=0,037$ ) kao i u podgrupi vlažne AMD ( $p=0,001$ ).



**Tabela XXXIV.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenta korelacije između albumina i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA- SUVA AMD</i>	<i>KASNA- VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>Alb. &amp; HOL</i> $\rho$ <i>p</i>	0,145 N.S	0,057 N.S	0,269 N.S	0,157 N.S	0,112 N.S
<i>Alb. &amp; HDL</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,211</b> <b>0,029</b>	<b>0,421</b> <b>0,035</b>	0,428 N.S	0,142 N.S	0,059 N.S
<i>Alb. &amp; HDL<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,094 N.S	0,130 N.S	0,667 N.S	0,045 N.S	0,005 N.S
<i>Alb. &amp; HDL<sub>3</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,102 N.S	0,212 N.S	-0,058 N.S	0,095 N.S	0,121 N.S
<i>Alb. &amp; LDL</i> $\rho$ <i>p</i>	0,161 N.S	-0,035 N.S	0,330 N.S	<b>0,211</b> <b>0,085</b>	0,072 N.S
<i>Alb. &amp; TRIG.</i> $\rho$ <i>p</i>	0,021 N.S	-0,211 N.S	0,055 N.S	0,037 N.S	0,048 N.S
<i>Alb. &amp; ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,252</b> <b>0,014</b>	<b>0,434</b> <b>0,052</b>	0,019 N.S	<b>0,266</b> <b>0,039</b>	0,169 N.S
<i>Alb. &amp; ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	<b>0,356</b> <b>0,001</b>	0,119 N.S	0,428 N.S	<b>0,442</b> <b>0,001</b>	<b>0,229</b> <b>0,037</b>
<i>Alb. &amp; ApoB</i> $\rho$ <i>p</i>	0,049 N.S	-0,090 N.S	<b>0,593</b> <b>0,075</b>	-0,018 N.S	0,117 N.S
<i>Alb. &amp; ApoE</i> $\rho$ <i>p</i>	0,015 N.S	0,251 N.S	0,092 N.S	-0,084 N.S	0,147 N.S
<i>Alb. &amp; Lp(a)</i> $\rho$ <i>p</i>	0,021 N.S	0,210 N.S	0,436 N.S	-0,180 N.S	0,112 N.S



**Slika 43.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između albumina i Apo A1

Izuzetno jaka i negativna korelacija je dobijena između mokraćne kiseline i HDL-holesterola ( $p=0,027$ ) u podgrupi suve AMD, dok su u kontrolnoj grupi dobijene srednje slabe i takođe negativne korelacije između mokraćne kiseline i ukupnog holesterola ( $p=0,03$ ), HDL-holesterola ( $p=0,025$ ), HDL<sub>2</sub>-holesterola ( $p=0,012$ ) i LDL-holesterola ( $p=0,034$ ) (tabela XXXV).

Slaba i negativna korelacija je dobijena između ukupnog bilirubina i apoproteina Apo B ( $p=0,035$ ) i Apo E ( $p=0,007$ ) u grupi svih AMD (tabela XXXV) i u podgrupi vlažne AMD ( $p=0,028$ ).

**Tabela XXXV.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između mokraćne kiseline i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>Ac.Ur.&amp;HOL</i> $\rho$	-0,148	-0,102	<b>-0,552</b>	-0,143	<b>-0,267</b>
<i>p</i>	N.S	N.S	<b>0,098</b>	N.S	<b>0,03</b>
<i>Ac.Ur.&amp;HDL</i> $\rho$	0,036	0,064	<b>-0,636</b>	0,065	<b>-0,244</b>
<i>p</i>	N.S	N.S	<b>0,056</b>	N.S	<b>0,025</b>
<i>Ac.Ur.&amp;HDL<sub>2</sub></i> $\rho$	-0,099	-0,222	-0,657	-0,029	<b>-0,282</b>
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,012</b>
<i>Ac.Ur.&amp;HDL<sub>3</sub></i> $\rho$	0,005	0,088	-0,371	-0,014	-0,168
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;LDL</i> $\rho$	-0,117	-0,208	-0,273	-0,068	<b>-0,246</b>
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,034</b>
<i>Ac.Ur.&amp;TRIG.</i> $\rho$	-0,063	0,068	-0,152	-0,124	0,106
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$	0	-0,120	<b>-0,736</b>	0,109	0,029
<i>p</i>	N.S	N.S	<b>0,027</b>	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$	0,027	-0,048	-0,321	0,103	0,012
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;ApoB</i> $\rho$	-0,01	0,005	-0,467	0,066	-0,047
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;ApoE</i> $\rho$	-0,109	0,150	-0,236	-0,205	-0,059
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Ac.Ur.&amp;Lp(a)</i> $\rho$	0,025	-0,193	-0,049	0,121	-0,101
<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

Direktni bilirubin je takođe negativno korelisao sa svim lipo- i apo-proteinskim parametrima u svim ispitivanim grupama. Tako npr. slabe korelacije su dobijene između direktnog bilirubina i ukupnog holesterola u grupama AMD ( $p=0,011$ ) i KG ( $p=0,037$ ), kao i između direktnog bilirubina i LDL-holesterola ( $p=0,016$ ;  $p=0,03$ ), Apo B ( $p=0,014$ ;  $p=0,003$ ) i Apo E ( $p=0,002$ ;  $p=0,011$ ) u istim grupama (tabela XXXVII). Jaku i negativnu korelaciju smo dobili između direktnog bilirubina i Apo B u grupi kasne-suve AMD ( $p=0,028$ ) (slika 44) i direktnog bilirubina i Apo E ( $p=0,008$ ) u podgrupi vlažne AMD.

**Tabela XXXVI.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između ukupnog bilirubina i lipo/apoproteina

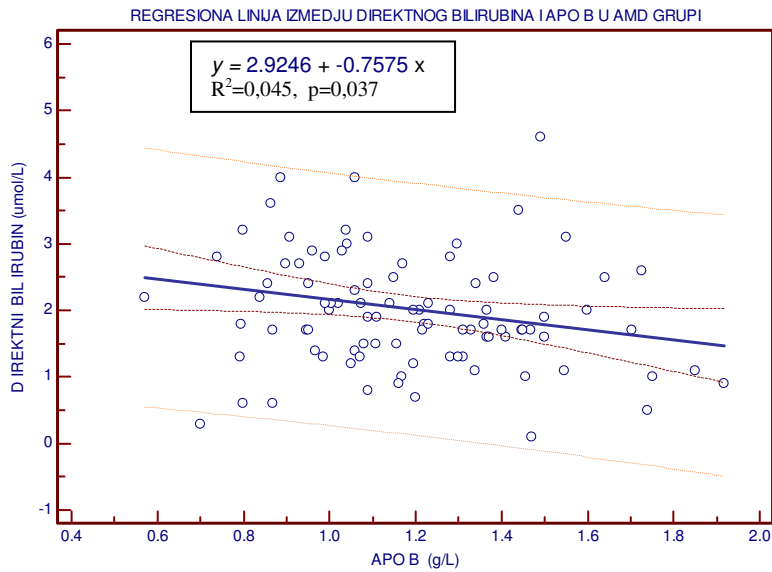
<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>T.Bil.&amp;HOL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,133 N.S	-0,187 N.S	0,426 N.S	-0,116 N.S	0,171 N.S
<i>T.Bil.&amp;HDL</i> $\rho$ <i>p</i>	0,016 N.S	0,140 N.S	<b>0,620</b> <b>0,063</b>	-0,059 N.S	-0,014 N.S
<i>T.Bil.&amp;HDL<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,193 N.S	0,176 N.S	0,029 N.S	<b>-0,271</b> <b>0,095</b>	0,11 N.S
<i>T.Bil.&amp;HDL<sub>3</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,218</b> <b>0,084</b>	-0,135 N.S	0,058 N.S	-0,203 N.S	0,174 N.S
<i>T.Bil.&amp;LDL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,088 N.S	-0,224 N.S	0,17 N.S	-0,048 N.S	-0,145 N.S
<i>T.Bil.&amp;TRIG.</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,092 N.S	-0,273 N.S	-0,293 N.S	0,064 N.S	<b>-0,198</b> <b>0,089</b>
<i>T.Bil.&amp;ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,048 N.S	0,266 N.S	0,232 N.S	0,054 N.S	0,008 N.S
<i>T.Bil.&amp;ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,051 N.S	0,198 N.S	0,061 N.S	-0,107 N.S	-0,143 N.S
<i>T.Bil.&amp;ApoB</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,217</b> <b>0,035</b>	<b>-0,398</b> <b>0,078</b>	-0,073 N.S	-0,115 N.S	-0,145 N.S
<i>T.Bil.&amp;ApoE</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,280</b> <b>0,007</b>	-0,228 N.S	0,03 N.S	<b>-0,287</b> <b>0,028</b>	-0,079 N.S
<i>T.Bil.&amp;Lp(a)</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,101 N.S	0,224 N.S	-0,006 N.S	<b>-0,233</b> <b>0,071</b>	-0,015 N.S

Jake negativne korelacije smo dobili između direktnog bilirubina i LDL-olesterola ( $\rho = -0,555$ ), Apo A<sub>2</sub> ( $\rho = -0,598$ ) i Lp(a) ( $\rho = -0,618$ ), ali na granici značajnosti u podgrupi suve AMD.

Srednje jaka negativna korelacija j dobijena između direktnog bilirubina i triglicerida ( $p = 0,002$ ) u kontrolnoj grupi i u podgrupi rane AMD ( $p = 0,085$ ) ali na granici značajnosti.

**Tabela XXXVII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijena korelacije između direktnog bilirubina i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>	<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA- SUVA AMD</i>	<i>KASNA- VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>D.Bil.&amp;HOL</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,245</b> <b>0,011</b>	-0,243 N.S	-0,354 N.S	<b>-0,208</b> <b>0,086</b>	<b>-0,257</b> <b>0,037</b>
<i>D.Bil.&amp;HDL</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,03 N.S	0,248 N.S	-0,213 N.S	-0,125 N.S	0,028 N.S
<i>D.Bil.&amp;HDL<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,158 N.S	0,159 N.S	-0,559 N.S	-0,232 N.S	0,082 N.S
<i>D.Bil.&amp;HDL<sub>3</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,181 N.S	-0,302 N.S	-0,383 N.S	-0,159 N.S	-0,048 N.S
<i>D.Bil.&amp;LDL</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,232</b> <b>0,016</b>	-0,323 N.S	<b>-0,555</b> <b>0,096</b>	-0,161 N.S	<b>-0,252</b> <b>0,03</b>
<i>D.Bil.&amp;TRIG.</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,121 N.S	<b>-0,344</b> <b>0,085</b>	0,171 N.S	-0,027 N.S	<b>-0,355</b> <b>0,002</b>
<i>D.Bil.&amp;ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	0,035 N.S	<b>0,419</b> <b>0,061</b>	-0,229 N.S	-0,013 N.S	0,067 N.S
<i>D.Bil.&amp;ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ <i>p</i>	-0,145 N.S	0,210 N.S	<b>-0,598</b> <b>0,073</b>	-0,202 N.S	-0,102 N.S
<i>D.Bil.&amp;ApoB</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,252</b> <b>0,014</b>	<b>-0,409</b> <b>0,067</b>	<b>-0,732</b> <b>0,028</b>	-0,380 N.S	<b>-0,328</b> <b>0,003</b>
<i>D.Bil.&amp;ApoE</i> $\rho$ <i>p</i>	<b>-0,329</b> <b>0,002</b>	-0,301 N.S	-0,073 N.S	<b>-0,344</b> <b>0,008</b>	<b>-0,286</b> <b>0,011</b>
<i>D.Bil.&amp;Lp(a)</i> $\rho$ <i>p</i>	-0,161 N.S	0,169 N.S	<b>-0,618</b> <b>0,064</b>	<b>-0,229</b> <b>0,076</b>	-0,02 N.S



**Slika 44.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između direktnog bilirubina i Apo B

Feritin je pozitivno i značajno korelisao sa koncentracijom Apo B u podgrupi vlažne AMD ( $p=0,015$ ) (tabela XXXVIII) i sa Lp(a) u podgrupi rane AMD ( $p=0,017$ ). Slaba i negativna korelacija je dobijena između feritina i HDL<sub>2</sub>-holesterola u podgrupi vlažne AMD i u grupi svih pacijenata sa AMD-om, ali na granici značajnosti

**Tabela XXXVIII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između feritina i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>		<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>Holesterol</i>	$\rho$	-0,004	-0,097	-0,139	0,1	-0,116
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>HDL-hol.</i>	$\rho$	-0,11	0,14	-0,091	-0,168	-0,177
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>HDL<sub>2</sub>-hol.</i>	$\rho$	<b>-0,242</b>	0,27	0,086	<b>-0,293</b>	-0,053
	$p$	<b>0,07</b>	N.S	N.S	<b>0,087</b>	N.S
<i>HDL<sub>3</sub>-hol.</i>	$\rho$	-0,03	-0,183	0,086	0,051	-0,132
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>LDL-hol.</i>	$\rho$	-0,037	-0,162	-0,309	0,111	-0,103
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Trigliceridi</i>	$\rho$	0,018	0,211	-0,353	-0,009	-0,182
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>ApoA<sub>1</sub></i>	$\rho$	-0,142	0,006	-0,304	-0,107	-0,099
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>ApoA<sub>2</sub></i>	$\rho$	0	-0,07	-0,2	0,071	-0,06
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>ApoB</i>	$\rho$	0,122	0,045	-0,406	<b>0,323</b>	-0,014
	$p$	N.S	N.S	N.S	<b>0,015</b>	N.S
<i>ApoE</i>	$\rho$	0,052	0,226	0,079	0,071	-0,164
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Lp(a)</i>	$\rho$	0,072	<b>0,578</b>	-0,334	0,082	0,072
	$p$	N.S	<b>0,017</b>	N.S	N.S	N.S

Jaka i pozitivna korelacija je dobijena između transferina i ukupnog holesterola ( $p=0,047$ ) tj. LDL-holesterola ( $p=0,037$ ) u grupi suve forme AMD, kao i između transferina i Apo A<sub>2</sub> ( $p=0,03$ ) tj. Apo B ( $p=0,052$ ) (tabela XXXIX). Značajna i jaka pozitivna korelacija je dobijena između transferina i Apo E ( $p=0,026$ ) u podgrupi rane AMD, dok je negativna i srednje jaka korelacija između istih parametara dobijena u podgrupi vlažne AMD.

**Tabela XXXIX.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između transferina i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i> <i>Transferin &amp;</i>	<i>AMD</i> <i>(svi)</i>	<i>RANA</i> <i>AMD</i>	<i>KASNA-</i> <i>SUVA AMD</i>	<i>KASNA-</i> <i>VLAŽNA</i> <i>AMD</i>	<i>KG</i>
<i>Holesterol</i> $\rho$ $p$	0,09 N.S	0,242 N.S	<b>0,661</b> <b>0,047</b>	-0,017 N.S	0,155 N.S
<i>HDL-hol.</i> $\rho$ $p$	0,004 N.S	-0,038 N.S	0,479 N.S	-0,044 N.S	0,059 N.S
<i>HDL<sub>2</sub>-hol.</i> $\rho$ $p$	0,203 N.S	-0,215 N.S	0,657 N.S	0,188 N.S	-0,024 N.S
<i>HDL<sub>3</sub>-hol.</i> $\rho$ $p$	0,036 N.S	0,309 N.S	-0,257 N.S	-0,051 N.S	-0,031 N.S
<i>LDL-hol.</i> $\rho$ $p$	0,105 N.S	0,190 N.S	<b>0,697</b> <b>0,037</b>	0,017 N.S	-0,045 N.S
<i>Trigliceridi</i> $\rho$ $p$	0,155 N.S	<b>0,355</b> <b>0,096</b>	0,03 N.S	0,096 N.S	0,103 N.S
<i>ApoA<sub>1</sub></i> $\rho$ $p$	<b>0,226</b> <b>0,033</b>	0,230 N.S	0,517 N.S	<b>0,242</b> <b>0,068</b>	0,171 N.S
<i>ApoA<sub>2</sub></i> $\rho$ $p$	0,165 N.S	0,267 N.S	<b>0,721</b> <b>0,03</b>	0,146 N.S	<b>0,203</b> <b>0,066</b>
<i>ApoB</i> $\rho$ $p$	0,138 N.S	0,344 N.S	<b>0,648</b> <b>0,052</b>	-0,002 N.S	0,09 N.S
<i>ApoE</i> $\rho$ $p$	-0,068 N.S	<b>0,544</b> <b>0,026</b>	<b>0,60</b> <b>0,072</b>	<b>-0,259</b> <b>0,052</b>	0,139 N.S
<i>Lp(a)</i> $\rho$ $p$	0,059 N.S	0,143 N.S	0,280 N.S	-0,039 N.S	0,012 N.S



**Tabela XL.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između haptoglobina i lipo/apoproteina

<i>Parametri</i>		<i>AMD</i> <i>(svi)</i>	<i>RANA</i> <i>AMD</i>	<i>KASNA-</i> <i>SUVA AMD</i>	<i>KASNA-</i> <i>VLAŽNA</i> <i>AMD</i>	<i>KG</i>
<i>Holesterol</i>	$\rho$	0,064	0,071	0,127	0,058	<b>0,296</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,017</b>
<i>HDL-hol.</i>	$\rho$	<b>-0,202</b>	<b>-0,611</b>	-0,006	-0,15	0,034
	<i>p</i>	<b>0,043</b>	<b>0,006</b>	N.S	N.S	N.S
<i>HDL<sub>2</sub>-hol.</i>	$\rho$	-0,06	0,252	0,086	-0,112	-0,046
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>HDL<sub>3</sub>-hol.</i>	$\rho$	-0,161	-0,265	<b>-0,771</b>	-0,038	0,09
	<i>p</i>	N.S	N.S	<b>0,083</b>	N.S	N.S
<i>LDL-hol.</i>	$\rho$	0,063	0,255	0,430	0,032	<b>0,223</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,058</b>
<i>Trigliceridi</i>	$\rho$	<b>0,228</b>	0,268	0,505	<b>0,234</b>	<b>0,447</b>
	<i>p</i>	<b>0,022</b>	N.S	N.S	<b>0,057</b>	<b>&lt;0,001</b>
<i>ApoA<sub>1</sub></i>	$\rho$	-0,181	<b>-0,441</b>	0,231	-0,18	0,052
	<i>p</i>	N.S	<b>0,069</b>	N.S	N.S	N.S
<i>ApoA<sub>2</sub></i>	$\rho$	-0,197	<b>-0,467</b>	-0,091	-0,207	0,109
	<i>p</i>	N.S	<b>0,054</b>	N.S	N.S	N.S
<i>ApoB</i>	$\rho$	0,141	0,064	0,139	<b>0,216</b>	<b>0,307</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	<b>0,095</b>	<b>0,006</b>
<i>ApoE</i>	$\rho$	-0,006	-0,021	0,20	0,008	0,190
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Lp(a)</i>	$\rho$	0,169	0,023	-0,085	<b>0,281</b>	-0,01
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	<b>0,03</b>	N.S

Najveći broj korelacija između haptoglobina i lipo/apoproteinskih parametara je dobijen u kontrolnoj grupi (tabela XL). Haptoglobin je pozitivno korelisao sa ukupnim holesterolom ( $p=0,017$ ), LDL-holesterolom ( $p=0,058$ ), trigliceridima ( $p<0,001$ ) i Apo B ( $p=0,006$ ) u kontrolnoj grupi. Negativna korelacija između haptoglobina i HDL-holesterola ( $p=0,006$ ) odnosno haptoglobina i Apo A<sub>2</sub> ( $p=0,054$ ) je zabeležena u podgrupi rane forme AMD. U grupi svih pacijenata sa AMD-om dobijena je negativna korelacija između haptoglobina i HDL-holesterola ( $p=0,043$ ) a pozitivna između haptoglobina i triglicerida ( $p=0,022$ ).

#### 4.5.5. KORELACIJE IZMEĐU ENZIMSKIH I NEENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA

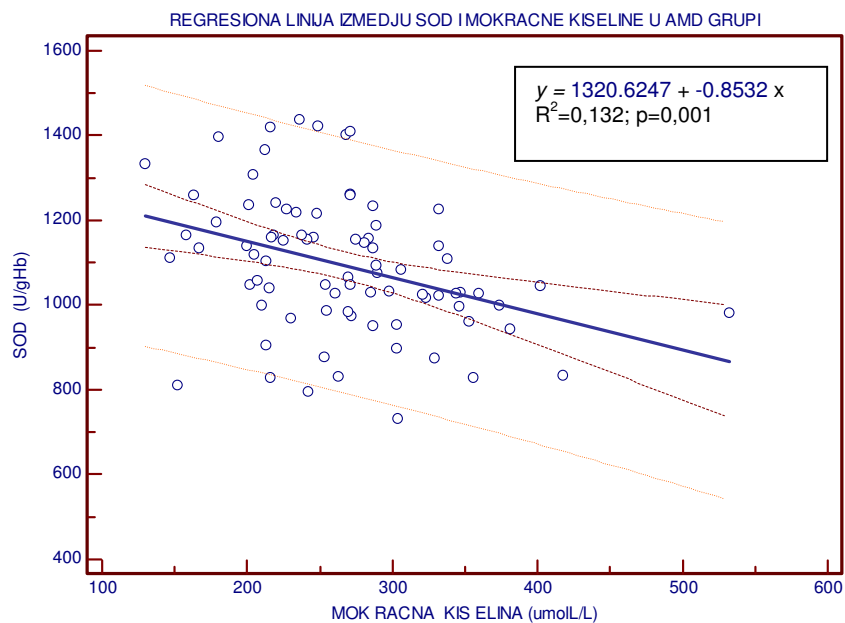
Negativna i visokoznačajna korelacija je dokazana između SOD-a i mokraćne kiseline i to u grupi svih pacijenata sa AMD-om ( $p < 0,001$ ) (slika 45) i u podgrupi vlažne AMD ( $p = 0,005$ ) i u dok je negativna i jaka korelacija između SOD-a i TAS-a dokazana samo u ranoj formi AMD-a ( $p = 0,016$ ) (tabela XLI). Slaba i pozitivna korelacija je dobijena između transferina i SOD-a u grupi svih ispitanika sa AMD.

**Tabela XLI.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između SOD-a i neenzimskih antioksidanasa

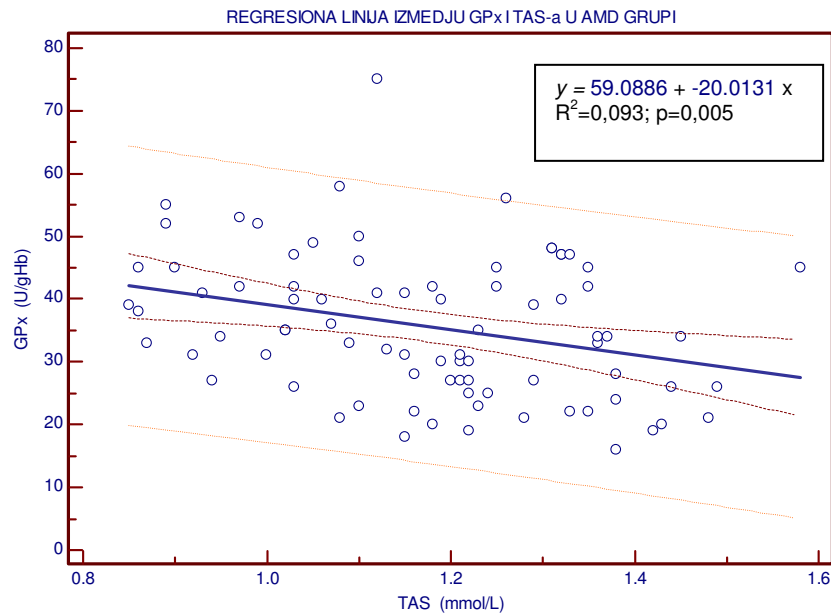
<i>Parametri SOD &amp;</i>		<i>AMD (svi)</i>	<i>RANA AMD</i>	<i>KASNA-SUVA AMD</i>	<i>KASNA-VLAŽNA AMD</i>	<i>KG</i>
<i>TAS</i>	$\rho$	-0,167	<b>-0,568</b>	0,100	0,07	-0,019
	$p$	N.S	<b>0,016</b>	N.S	N.S	N.S
<i>Albumin</i>	$\rho$	0,036	-0,106	0,059	-0,017	-0,052
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Mok.kiselina</i>	$\rho$	<b>-0,411</b>	-0,381	-0,433	<b>-0,401</b>	-0,013
	$p$	<b>&lt;0,001</b>	N.S	N.S	<b>0,005</b>	N.S
<i>Dir.bilirub.</i>	$\rho$	0,025	0,256	-0,252	-0,081	-0,025
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Feritin</i>	$\rho$	-0,112	0,316	-0,20	-0,135	-0,089
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Transferin</i>	$\rho$	<b>0,254</b>	0,052	0,05	0,167	0,062
	$p$	<b>0,027</b>	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Haptoglobin</i>	$\rho$	0,041	0,115	0,20	0,075	0,035
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

Srednje jaka i pozitivna korelacija je dobijena između SOD-a i GPx-a kako u grupi svih pacijenata sa AMD-om ( $\rho = 0,338$ ;  $p = 0,002$ ) tako i u KG ( $\rho = 0,507$ ;  $p = 0,027$ ), a zatim i u podgrupama rane ( $\rho = 0,450$ ;  $p = 0,05$ ) i kasne-vlažne AMD ( $\rho = 0,242$ ;  $p = 0,094$ ). Negativna, slaba korelacija je dobijena između vrednosti SOD-a i starosti ispitanika sa AMD-om ( $\rho = -0,285$ ;  $p = 0,012$ ) ali srednje

jaka u podgrupi vlažne AMD ( $\rho=-0,405$ ;  $p=0,005$ ), kao i između SOD-a i ukupnih proteina u istoj podgrupi ( $\rho= -0,551$ ;  $p<0,001$ ) tj. u grupi svih pacijenata sa AMD-om ( $\rho=-0,319$ ;  $p=0,004$ ) (ovi rezultati nisu tabelarno prikazani).



**Slika 45.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između SOD-a i mokraćne kiseline u AMD grupi



**Slika 46.** Regresiona linija sa 95% IP i 95% PI između TAS-a i GPx-a u grupi AMD

**Tabela XLII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između GPx-a i neenzimskih antioksidanasa

Parametri GPx &		AMD (svi)	RANA AMD	KASNA- SUVA AMD	KASNA- VLAŽNA AMD	KG
TAS	$\rho$	<b>-0,314</b>	-0,334	-0,201	<b>-0,346</b>	-0,167
	$p$	<b>0,005</b>	N.S	N.S	<b>0,016</b>	N.S
Albumin	$\rho$	-0,044	-0,217	-0,249	0,167	-0,113
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
Mok.kiselina	$\rho$	-0,022	0,027	-0,033	-0,069	-0,162
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
Dir.bilirub.	$\rho$	0,167	-0,022	<b>0,734</b>	0,088	-0,059
	$p$	N.S	N.S	<b>0,038</b>	N.S	N.S
Feritin	$\rho$	0,139	<b>0,500</b>	0,159	0,011	-0,118
	$p$	N.S	<b>0,039</b>	N.S	N.S	N.S
Transferin	$\rho$	0,051	-0,307	<b>-0,695</b>	0,231	0,076
	$p$	N.S	N.S	<b>0,049</b>	N.S	N.S
Haptoglobin	$\rho$	-0,01	0,051	-0,142	0,097	-0,084
	$p$	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

Glutation peroksidaza (GPx) je negativno korelisala sa TAS-om u podgrupi pacijenata sa vlažnom formom AMD (p=0,016) ali i u grupi svih pacijenata sa AMD-om (p=0,005) (slika 46). U podgrupi suve forme AMD-a, GPx je pozitivno korelisao sa direktnm bilirubinom (p=0,038), a negativno sa transferinom (p=0,049), dok je sa feritinom pozitivno korelisao u podgrupi rane forme AMD-a (p=0,039). Pozitivnu i srednje jaku korelaciju između GPx-a i GR-a smo dobili u KG ( $\rho=0,416$ ; p=0,069) a jaku i negativnu u podgrupi suve forme AMD-a ( $\rho= -0,865$ ; p=0,034). Takođe, jaka i negativna korelacija je dobijena između GPx-a i starosti ( $\rho= -0,844$ ; p=0,017) u podgrupi suve AMD, dok je slaba i na granici značajnosti dobijena u kontrolnoj grupi ( $\rho= -0,212$ ; p=0,054).

**Tabela XLIII.** Vrednosti Spearmanovih koeficijenata korelacije između GR-a i neenzimskih antioksidanasa

<i>Parametri</i> <i>GR &amp;</i>		<i>AMD</i> <i>(svi)</i>	<i>RANA</i> <i>AMD</i>	<i>KASNA-</i> <i>SUVA AMD</i>	<i>KASNA-</i> <i>VLAŽNA</i> <i>AMD</i>	<i>KG</i>
<i>TAS</i>	$\rho$	-0,221	-0,256	0,036	-0,238	<b>0,479</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,037</b>
<i>Albumin</i>	$\rho$	0,003	0,211	0,257	-0,157	-0,059
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Mok.kiselina</i>	$\rho$	-0,154	-0,065	-0,234	-0,267	0,308
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Dir.bilirub.</i>	$\rho$	-0,052	0,092	-0,409	-0,164	0,287
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Feritin</i>	$\rho$	0,014	0,363	0,180	-0,127	<b>-0,441</b>
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	<b>0,054</b>
<i>Transferin</i>	$\rho$	-0,13	-0,345	0,667	-0,239	0,378
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S
<i>Haptoglobin</i>	$\rho$	0,025	0,04	-0,09	0,045	0,012
	<i>p</i>	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

Značajne korelacije između GR-a i neenzimskih antioksidanasa su dobijene samo u kontrolnoj grupi, i to pozitivnu i srednje jaku između GR-a i TAS-a ( $p=0,037$ ) i negativnu između GR-a i feritina ( $p=0,054$ ). Pozitivna i srednje jaka korelacija je dobijena u KG između GR-a i SOD-a ( $\rho=0,507$ ;  $p=0,027$ ) a negativnu i izuzetno jaku između GR-a i GPx-a u podgrupi suve AMD ( $\rho= -0,865$ ;  $p=0,035$ ). Pozitivna i direktna korelacija je dobijena između GR-a i starosti u podgrupi suve-uznapredovane AMD ( $\rho=0,844$ ;  $p=0,039$ ).

## 4.6. ASOCIJACIJE

### 4.6.1. KRETANJE INFLAMATORNIH I ANTIOKSIDANTNIH MARKERA U ZAVISNOSTI OD PORASTA LIPOPROTEINSKIH PARAMETARA

U cilju analiziranja povezanosti lipoproteinskih parametara i markera inflamacije, svi ispitanici iz obe grupe (AMD i KG) su podeljeni na 3 podgrupe u zavisnosti od vrednosti ukupnog i HDL holesterola i na 4 podgrupe u zavisnosti od vrednosti LDL holesterola i triglicerida. Za formiranje podgrupa korišćena je ATP III NCEP klasifikacija po kojoj su pacijenti podeljeni na osnovu vrednosti ukupnog i HDL- holesterola na podgrupe pacijenata sa preporučenim vrednostima, visoko-rizičnim i kritičnim vrednostima holesterola, dok na osnovu vrednosti LDL-holesterola i triglicerida podela je izvršena na 4 podgrupe. tj. na one pacijente koje imaju preporučene vrednosti, prihvatljive, visoko-rizične i kritične vrednosti ovih lipoproteina (Tabela XLIV). Rezultati su pokazali da najveći procenat AMD pacijenata ima kritične vrednosti ukupnog holesterola (50,6%) u odnosu na kontrolnu grupu (23,4%), kao i LDL-holesterola (23,73% u odnosu na 3,95% u KG), non-HDL-holesterola (40,51% u odnosu na 19,04% u KG) i triglicerida (12,58% u odnosu na 6,58% u KG), dok je procenat ispitanika sa preporučenim vrednostima ukupnog holesterola (25%) LDL-holesterola (9,2%) i non-HDL-holesterola (20,63%) bio veći u kontrolnoj grupi u odnosu na AMD grupu (19%, 6,5% i 7,59%).

Interesantno je istaći da je veći procenat AMD pacijenata (40,5%) imao preporučene vrednosti HDL-holesterola ( $>1,55$  mmol/L) u odnosu na KG (35,7%). U grupi AMD pacijenata 74,68% ispitanika je imalo poremećaj lipidnog statusa i to 44,3% u vidu 2a hiperlipoproteinemije, 24,05% je imalo tip 2b HLP dok je 6,33% pacijenata imalo tip 4 HLP. Poremećaj lipidnog statusa je pronađen i medju ispitanicima kontrolne grupe ali u manjem procentu u odnosu na AMD pacijente. Od ukupnog broja ispitanika KG, njih 24 (27,86%) je imalo normalan lipidni status tj. preporučene vrednosti lipidnih parametara, dok je 28 ispitanika (32,2%) imalo tip 2a HLP, 30 ispitanika (34,48%) imalo tip 2b HLP a 4 ispitanika (4,59%) je imalo tip 4 HLP. Više od polovine AMD

ispitanika (51,4%) je imalo CRP>3 mg/L; od toga 18 pacijenata (16,51%) je imalo CRP>8 mg/L, dok je u KG 55,26% imalo CRP<3 mg/L.

**Tabela XLIV.** Procenat ispitanika sa preporučenim, prihvatljivim i visokim vrednostima lipoproteina na osnovu ATP III NCEP klasifikacije

<b>Lipidni parametri</b>	<b>Dobijene vrednosti lipoproteina</b>	<b>AMD (%) n = 110</b>	<b>CG (%) n = 87</b>
<b>Ukupni holesterol</b> (mmol/L): <i>preporučene vrednosti</i>	<5,16	19,0	25,0
<i>visok rizik</i>	5,16–6,18	30,4	51,6
<i>kritične vrednosti</i>	>6,19	50,6	23,4
<b>LDL-holesterol</b> (mmol/L) <i>preporučene vrednosti</i>	<2,58	6,5	9,2
<i>prihvatljive vrednosti</i>	2,58–4,11	41,56	65,8
<i>visok rizik</i>	4,12–4,90	28,57	21,05
<i>kritične vrednosti</i>	>4,91	23,37	3,95
<b>HDL-holesterol</b> (mmol/L) <i>preporučene vrednosti</i>	>1,55	43,0	34,2
<i>visok rizik</i>	1,03–1,55	49,4	52,9
<i>kritične vrednosti</i>	<1,03	7,6	12,9
<b>Non-HDL-holesterol</b> (mmol/L) <i>preporučene vrednosti</i>	<3,36	7,59	20,63
<i>prihvatljive vrednosti</i>	3,37–4,10	21,51	17,46
<i>visok rizik</i>	4,11–4,90	30,38	42,85
<i>kritične vrednosti</i>	>4,90	40,51	19,04
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L) <i>preporučene vrednosti</i>	<1,7	70,51	68,42
<i>granične vrednosti</i>	1,70–2,25	16,67	25,0
<i>visok rizik</i>	2,26–5,64	12,82	6,58
<i>vrlo visoke vrednosti</i>	>5,65	–	–



**4.6.1.1. Vrednosti inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama ukupnog holesterola**

**Tabela XLV.** Lipoproteinski i antioksidantni parametri u grupama ispitanika podjeljeni po vrednostima ukupnog holesterola

Parametri	AMD Grupa I	AMD Grupa II	AMD Grupa III	KG Grupa I	KG Grupa II	KG Grupa III	P
Apo A1 (g/L) <sup>a</sup>	1,54 ± 0,29	1,59 ± 0,28	1,80 ± 0,37	1,35 ± 0,33	1,67 ± 0,29	1,72 ± 0,24	<0,001 <sup>c</sup>
Apo A2 (mg/L) <sup>b</sup>	302,8 284,4–357,6	338,7 293,3–367,2	348,3 318,9–390,0	301,2 274–330,4	369,7 340,4–408,8	382,5 337,4–429,9	0,007 <sup>d</sup>
Apo B (g/L) <sup>b</sup>	0,91 0,86–0,98	1,08 1,02–1,14	1,39 1,3–1,5	0,92 0,82–1,01	1,1 1,05–1,15	1,31 1,21–1,40	<0,001 <sup>d</sup>
Apo E (mg/L) <sup>b</sup>	38,4 30,3–44,9	42,9 36,4–48,4	48,9 41,6–54,3	35,8 27,4–39,8	39,8 36,9–50,1	44,7 35,4–52,6	0,001 <sup>d</sup>
Lp (a) (g/L) <sup>b</sup>	0,127 0,098–0,165	0,148 0,098–0,197	0,189 0,133–0,269	0,144 0,109–0,189	0,150 0,116–0,193	0,129 0,098–0,172	0,205 <sup>d</sup>
T.hol. (mmol/L) <sup>b</sup>	4,7 4,2–5,0	5,7 5,5–5,9	7,1 6,8–7,3	4,4 4,2–4,9	5,7 5,6–5,9	6,6 6,4–6,9	<0,001 <sup>d</sup>
HDL-hol. (mmol/L) <sup>a</sup>	1,19 ± 0,25	1,47 ± 0,32	1,57 ± 0,33	1,25 ± 0,35	1,44 ± 0,34	1,47 ± 0,29	0,001 <sup>c</sup>
HDL <sub>2</sub> -hol. (mmol/L) <sup>a</sup>	0,36±0,15	0,37±0,15	0,47±0,17	0,34±0,11	0,43±0,18	0,42±0,15	0,071 <sup>c</sup>
HDL <sub>3</sub> -hol. (mmol/L) <sup>a</sup>	0,697±0,18	0,901±0,28	0,94±0,31	0,77±0,2	0,96±0,28	0,978±0,2	0,014 <sup>c</sup>
LDL-hol. (mmol/L) <sup>b</sup>	2,71 2,43–2,93	3,66 (3,34–3,69)	4,6 (4,25–5,23)	2,65 (2,24–2,84)	3,6 (3,32–3,88)	4,32 (3,85–4,53)	<0,001 <sup>d</sup>
non-HDL-h (mmol/L) <sup>b</sup>	3,44 3,23–3,65	4,15 3,97–4,32	5,52 5,29–5,76	3,22 2,97–3,47	4,28 4,12–4,45	5,11 4,86–5,36	<0,001 <sup>d</sup>
Trigliceridi (mmol/L) <sup>b</sup>	1,37 1,16–1,83	1,33 0,99–1,79	1,59 1,27–1,88	0,97 0,7–1,49	1,27 0,96–1,75	1,67 1,0–1,87	0,048 <sup>d</sup>
CRP (mg/L) <sup>b</sup>	4,12 2,13–7,9	3,06 2,19–4,28	4,69 3,45–6,50	2,43 1,67–3,53	3,04 2,34–3,73	3,53 2,28–4,74	0,015 <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup>	3,02 1,34–4,69	3,62 2,04–6,15	2,45 1,99–4,46	2,54 1,54–3,22	2,28 1,75–3,49	2,33 1,53–3,24	0,456 <sup>d</sup>
Fibrinogen (g/L) <sup>a</sup>	3,74±0,88	3,8±0,87	4,18±0,71	3,77±1,12	3,53±0,7	3,67±0,81	0,226 <sup>c</sup>
SOD (U/gHb) <sup>a</sup>	1064±172	1068±142	1140±172	1117±128	1051±112	1046±128	0,117 <sup>c</sup>
GPx (U/gHb) <sup>a</sup>	37,2±15,2	37,5±10,2	34,98±11,1	30,3±7,5	33,4±9,98	34,3±6,7	0,207 <sup>c</sup>
GR (U/L) <sup>a</sup>	56±16,7	55,1±10,51	54,6±9,74	66,3±19,85	59,4±7,3	53,5±4,95	0,587 <sup>c</sup>
TAS (mmol/L) <sup>a</sup>	1,18±0,22	1,12±0,19	1,10±0,2	1,33±0,13	1,305±0,16	1,29±0,14	< 0,0001 <sup>c</sup>

**Legenda za tabele XLV i XLVI: Grupa I:** Ukupni holesterol <5,16 mmol/L; **Grupa II:** Holesterol = 5,16–6,18 mmol/L; **Grupa III:** holesterol >6,18 mmol/L; <sup>a</sup> –Aritmetička sredina ± SD; <sup>b</sup>–medijana i opseg; <sup>c</sup>–razlika dobijena ANOVA testom između svih 6 testiranih podgrupa; <sup>d</sup>– razlika dobijena Kruskal-Wallisovim testom između svih 6 podgrupa

Podelom pacijenata po grupama rastućih koncentracija ukupnog holesterola, dobijeno je da sa porastom koncentracije ukupnog holesterola raste paralelno i koncentracija CRP-a ( $P=0,015$ ) (Tabela XLV), što se najbolje vidi u kontrolnoj grupi.

Sa porastom koncentracije ukupnog holesterola raste i koncentracija LDL-holesterola ( $P<0,001$ ), HDL-holesterola, non-HDL holesterola, APo A1 i Apo A2 u obe grupe ispitanika (AMD i KG). Koncentracije CRP $<3$  mg/L nisu pokazivale ovakvo kretanje koncentracija zavisno od porasta koncentracije holesterola, dok je CRP $>3$  mg/L pokazivao porast koncentracije samo u podgrupama kontrolne grupe ( $P=0,087$ ) i to je bilo na granici značajnosti. Sa porastom koncentracije ukupnog holesterola po grupama, snižavale su se aktivnosti enzimskih antioksidanasa SOD-a i GR-a, ali bez statističke značajnosti, dok je TAS dobio statističku potvrdu u obe ispitane grupe ( $P<0,0001$ ). Sniženje aktivnosti enzimskih antioksidanasa prati i sniženje koncentracija neenzimskih antioksidanasa: ukupnog i direktnog bilirubina ( $P=0,237$  i  $P=0,013$ ), i mokraćne kiseline ( $P=0,003$ ), dok je koncentracija haptoglobina imala rastući trend, ali samo u kontrolnoj grupi je dobilo i statističku potvrdu ( $P=0,021$ ) (Tabela XLVI).

**Tabela XLVI.** Neenzimski antioksidansi u grupama ispitanika podjeljeni po grupama holesterola

<i>Parametri</i>	<i>AMD Grupa I</i>	<i>AMD Grupa II</i>	<i>AMD Gruap III</i>	<i>KG Gruap I</i>	<i>KG Grupa II</i>	<i>KG Grupa III</i>	<i>P</i>
<i>Albumin (g/L)<sup>a</sup></i>	43,16±2,08	43,05±2,5	43,65±2,78	44,2±2,60	45,18±2,24	44,17±4,26	<b>0.025<sup>c</sup></b>
<i>T.Bilirubin (μmol/L)<sup>b</sup></i>	11,35 9,20-13,7	11,05 8,1-13,8	10,4 7,9-12,3	13,65 10,5-14,5	11,5 9,3-13,85	9,6 8,1-14,15	0,237 <sup>d</sup>
<i>D. Bilirubin (μmol/L)<sup>b</sup></i>	2,1 1,7-2,78	2,1 1,3-2,7	1,7 1,2-2,05	2,45 1,9-3,0	2,05 1,6-2,7	1,6 1,37-2,12	<b>0.013<sup>d</sup></b>
<i>Mok. kisel. (μmol/L)<sup>a</sup></i>	287,8±89,6	277,4±65,6	261,2±61,1	335,7±71,1	303,5±74,9	272,3±50,4	<b>0,003<sup>c</sup></b>
<i>Transferin (g/L)<sup>a</sup></i>	2,54±0,32	2,53±0,41	2,44±0,35	2,48±0,38	2,46±0,39	2,57±0,32	0,753 <sup>c</sup>
<i>Feritin (pg/mL)<sup>b</sup></i>	51,2 32,8-73,9	76,5 36,6-127,0	51,6 33,2-80,6	115,3 59,8-156,1	74,3 48,4-166,5	64 33,15-140,2	0.137 <sup>d</sup>
<i>Haptoglobin (g/L)<sup>a</sup></i>	1,25±0,5	1,51±0,51	1,54±0,5	1,1±0,65	1,34±0,55	1,49±0,47	<b>0.021<sup>c</sup></b>

#### 4.6.1.2. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama triglicerida.

S obzirom da na osnovu ATP III NCEP klasifikacije nisu uzorkovani ispitanici sa vrednostima triglicerida >5,65 mmol/L, vršena je podela u obema grupama na po tri podgrupe. Podgrupe su oformljene na osnovu vrednosti triglicerida <1,7 mmol/L (Grupa I); 1,7-2,25 mmol/L (Grupa II) i 2,26-5,64 mmol/L (Grupa III).

Sa porastom koncentracije triglicerida u grupama AMD i KG, rasla je i koncentracija ukupnog holesterola (P<0,001), non-HDL-holesterola (P<0,001), Apo B i Apo E apoproteina (P<0,001) kao i koncentracija ukupnog CRP-a, i to obe podgrupe CRP-a (CRP<3 mg/L i CRP>3 mg/L) ali statistička potvrda je dobijena samo u podgrupi CRP>3 mg/L (P=0,007) (Tabela XLVII).

**Tabela XLVII.** Biohemijski parametri po grupama ispitanika na osnovu vrednosti triglicerida

Parametri	AMD Grupa I	AMD Grupa II	AMD Grupa III	CG Grupa I	CG Grupa II	CG Grupa III	P
Apo A1 (g/L) <sup>a</sup>	1,71±0,36	1,72±0,31	1,53±0,29	1,66±0,34	1,58±0,29	1,79±0,15	0,360 <sup>c</sup>
Apo A2 (mg/L) <sup>b</sup>	338,3 310,5–378,5	334,1 297–361	324 268–390	354,5 316,8–415,2	374,2 337,2–403,6	396,8 343–447,5	0,233 <sup>d</sup>
Apo B (g/L) <sup>a</sup>	1,15±0,25	1,24±0,27	1,31±0,33	1,09±0,21	1,33±0,2	1,12±0,31	<b>0,001<sup>c</sup></b>
Apo E (mg/L) <sup>a</sup>	42,08±9,75	46,93±7,16	53,6±11,2	41,05±12,01	47,1±10,6	52,8±8,71	<b>0,001<sup>c</sup></b>
T.Hol (mmol/L) <sup>a</sup>	6,11±1,08	6,25±1,19	6,70±1,09	5,44±0,86	5,87±0,56	6,25±0,59	<b>&lt;0,001<sup>c</sup></b>
HDL-h (mmol/L) <sup>a</sup>	1,52±0,34	1,44±0,30	1,22±0,24	1,53±0,36	1,45±0,23	1,33±0,21	<b>0,008<sup>c</sup></b>
HDL2-h (mmol/L) <sup>a</sup>	0,42±0,17	0,36±0,13	0,38±0,18	0,46±0,22	0,38±0,17	0,49±0,13	0,464 <sup>c</sup>
HDL3-h (mmol/L) <sup>a</sup>	0,93±0,33	0,82±0,18	0,73±0,15	1,02±0,24	0,89±0,17	0,92±0,16	<b>0,022<sup>c</sup></b>
LDL-h (mmol/L) <sup>a</sup>	3,96 ± 0,99	4,22 ± 1,03	3,81 ± 1,15	3,53 ± 0,79	3,94 ± 0,74	3,56 ± 0,65	<b>0,05<sup>c</sup></b>
Lp(a) (mg/L) <sup>b</sup>	0,098 0,098–0,298	0,098 0,07–0,362	0,11 0,097–0,169	0,098 0,098–0,201	0,098 0,098–0,111	0,098 0,098–0,104	0,928 <sup>d</sup>
non HDLh (mmol/L) <sup>a</sup>	4,59 ± 1,01	4,89 ± 1,25	5,22 ± 1,13	3,98 ± 0,79	4,61 ± 0,58	4,81 ± 0,71	<b>&lt;0,001<sup>c</sup></b>
Triglicerid (mmol/L) <sup>b</sup>	1,24 (1,17–1,32)	1,95 (1,85–2,05)	2,70 (2,38–3,03)	1,12 (1,03–1,21)	1,92 (1,85–1,99)	2,51 (2,31–2,70)	<b>&lt;0,001<sup>d</sup></b>
CRP (mg/L) <sup>b</sup>	2,6 (1,5–6,6)	3,55 (1,8–5,2)	4,65 (2,7–6,0)	2,61 (1,95–5,38)	2,9 (1,6–4,35)	4,5 (2,0–7,8)	0,337 <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup>	2,9 1,64–4,69	2,45 2,20–9,80	3,85 1,72–5,44	2,24 1,03–3,0	2,21 1,65–5,38	2,61 1,91–3,35	0,380 <sup>d</sup>
Fibrinogen (g/L) <sup>b</sup>	3,8 3,2–4,2	4,0 3,93–4,47	4,25 3,95–4,5	3,5 3,0–3,9	3,75 3,3–4,60	2,9 2,8–4,05	0,180 <sup>d</sup>
SOD (U/gHb) <sup>a</sup>	1080±153,7	1129±170	1124±185	1082,8±142	1067±118,4	1054±96,5	0,799 <sup>c</sup>
GPx (U/gHb) <sup>b</sup>	34,5 28–45	36,5 25–41	35 26–47	35 29–41	32,5 28–37	24 21,8–31,5	0,514 <sup>d</sup>
GR (U) <sup>a</sup>	55,8±10,5	54,9±16,3	51,6±7,2	61±13,98	56,7±16,9	56,5±0,71	0,744 <sup>c</sup>
TAS (mmol/L) <sup>a</sup>	1,14±0,2	1,03±0,176	1,17±0,19	1,26±0,17	1,34±0,10	1,37±0,19	<b>&lt;0,000<sup>c</sup></b>

Legenda za tabele XLVII XLVIII. Grupa I: trigliceridi<1,7 mmol/L; Grupa II: 1,7–2,25 mmol/L; Grupa III: 2,26–5,64 mmol/L; <sup>a</sup>-aritmetička sredina ± SD; <sup>b</sup>-medijana i opseg; <sup>c</sup>-razlika dobijena ANOVA testom; <sup>d</sup>-razlika dobijena Kruskal-Wallisovim testom.

Na osnovu rastućih koncentracija triglicerida, u obe ispitane grupe snižavala se koncentracija HDL-holesterola ( $P=0,018$ ), i to u obe njegove frakcije, ali značajniji pad je imala HDL<sub>3</sub> subfrakcija ( $P=0,022$ ). Sa rastućim koncentracijama triglicerida, enzimski antioksidansi imaju tendenciju porasta u grupi AMD a trend opadanja u KG, dok GR i TAS pokazuju tendenciju opadanja u obe ispitane grupe (AMD i KG) ali statistička potvrda je dobijena samo za TAS ( $P<0,0001$ ).

**Tabela XLVIII.** Neenzimski antioksidansi u grupama ispitanika podeljeni po grupama triglicerida

<i>Parametri</i>	<i>AMD Grupa I</i>	<i>AMD Grupa II</i>	<i>AMD Grupa III</i>	<i>KG Grupa I</i>	<i>KG Grupa II</i>	<i>KG Grupa III</i>	<i>P</i>
<i>Albumin (g/L) <sup>a</sup></i>	435±2,82	43,2±2,24	42,87±1,78	44,75±3,07	44,84±2,43	45,4±1,95	<b>0,035</b> <sup>c</sup>
<i>T.Bilirubin (μmol/L) <sup>b</sup></i>	11,0 8,95-13,75	9,5 8,0-12,55	9,3 7,12-12,45	12,2 9,3-14,5	11,9 8,05-13,40	9,9 8,1-12,48	0,285 <sup>d</sup>
<i>D. Bilirubin (μmol/L) <sup>b</sup></i>	1,9 1,6-2,7	1,8 1,05-2,45	1,5 1,15-2,15	2,15 1,7-2,9	1,8 1,48-2,28	1,5 1,33-2,0	<b>0,013</b> <sup>d</sup>
<i>Mok. kiselina (μmol/L) <sup>a</sup></i>	250,1±67,1	270,7±59,0	300,1±100,1	290,8±66,5	298,9±741,8	337,4±115,9	<b>0,059</b> <sup>c</sup>
<i>Transferin (g/L) <sup>a</sup></i>	2,49±0,39	2,48±0,25	2,55±0,44	2,46±0,38	2,49±0,37	2,68±0,23	0,825 <sup>c</sup>
<i>Feritin (pg/mL) <sup>b</sup></i>	34,3 21,5-72,1	53,1 35,5-84,0	129,1 55,2-222,0	78,1 50,1-159,3	79,5 39,3-123,5	61,4 36,8-187,8	<b>0,024</b> <sup>d</sup>
<i>Haptoglobin (g/L) <sup>a</sup></i>	1,37±0,51	1,56±0,51	1,62±0,47	1,21±0,55	1,55±0,35	1,58±0,48	<b>0,021</b> <sup>c</sup>

Bilirubini (ukupni i direktni) imaju tendenciju opadanja u obe ispitane grupe ali je statistička potvrda dobijena samo za direktni bilirubin ( $P=0,013$ ), dok haptoglobin i mokraćna kiselina imaju tendenciju porasta u obema grupama ( $P=0,021$  i  $P=0,059$ ). Koncentracije feritina rastu u AMD grupi sa rastućim koncentracijama triglicerida a opadaju u kontrolnoj grupi ( $P=0,024$ ), dok koncentracije transferina ima tendenciju porasta u obema grupama ali bez statističke značajnosti.

#### 4.6.1.3. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama LDL-holesterola

Sa rastućim koncentracijama LDL-holesterola rastu i koncentracije Apo A1 ( $P=0,048$ ), Apo A2 ( $P=0,039$ ), Apo B ( $P<0,001$ ), ukupnog holesterola ( $P<0,001$ ) ukupnog HDL-holesterola ( $P=0,035$ ), non-HDL holesterola ( $P<0,001$ ) i HDL<sub>2</sub>-holestrola ( $P=0,018$ ) (Tabela XLIX). Parametri inflamacije: CRP, IL-6 i fibrinogen pokazuju rastući trend ali, bez statističke značajnosti, dok enzimski antioksidansi: GPx i GR imaju opadajući trend u AMD a rastući trend u kontrolnoj grupi. TAS je imao opadajući trend u obema grupama ispitanika i to je bilo statistički značajno ( $P<0,000$ ). Porast vrednosti LDL-hol. po grupama prate i vrednosti albumina ( $P=0,003$ ) i haptoglobina ali na granici značajnosti ( $P=0,09$ ), dok koncentracije ukupnog i direktnog bilirubina imaju opadajući trend (statistička potvrda je dobijena samo za direktni bilirubin  $P=0,036$ ). Vrednosti mokraćne kiseline takođe se snižavaju sa porastom koncentracija LDL-holesterola ( $P=0,054$ ).

**Tabela XLIX.** Lipo- i apo-proteinski parametri po grupama ispitnika na osnovu vrednosti LDL-holesterola

Parametri	AMD Grupa I	AMD Grupa II	AMD Grupa III	AMD Grupa IV	KG Grupa I	KG Grupa II	KG Grupa III	KG Grupa IV	P
Apo A1 (g/L) <sup>a</sup>	1,58±0,23	1,61±0,33	1,77±0,37	1,77±0,37	1,35±0,34	1,61±0,33	1,68±0,23	1,75±0,47	<b>0,048<sup>c</sup></b>
Apo A2(mg/L) <sup>a</sup>	295,9±61,5	343,9±74,1	359,3±50,6	351,1±49,6	297,4±35,1	360,9±74,3	373,9±52,2	385,8±38,0	<b>0,039<sup>c</sup></b>
Apo B (g/L) <sup>a</sup>	0,83±0,17	1,02±0,15	1,29±0,17	1,53±0,20	0,83±0,17	1,1±0,18	1,32±0,15	1,43±0,21	<b>&lt;0,001<sup>c</sup></b>
Apo E (mg/L) <sup>b</sup>	32,1 25-38,3	41,7 36,9-47,3	49 41,4-55,2	46,3 42-49,3	35,7 30,6-45,5	40 36-49,5	42,4 36,4-61,2	59,9 49,7-68,5	<b>0,013<sup>d</sup></b>
T.Hol (mmol/L) <sup>b</sup>	4,13 4,0-4,37	5,65 5,19-5,98	6,74 6,31-7,08	7,65 7,26-7,85	4,33 3,78-4,82	5,61 5,18-5,89	6,52 6,33-6,78	-	<b>&lt;0,001<sup>d</sup></b>
HDLh(mmol/L) <sup>a</sup>	1,07±0,19	1,45±0,33	1,53±0,30	1,53±0,36	1,22±0,38	1,435±0,36	1,41±0,27	1,60±0,35	<b>0,035<sup>c</sup></b>
HDL <sub>2</sub> h(mmol/L) <sup>a</sup>	0,32±0,06	0,36±0,14	0,516±0,18	0,36±0,106	0,316±0,11	0,45±0,20	0,37±0,13	0,51±0,199	<b>0,018<sup>c</sup></b>
HDL <sub>3</sub> -h (mmol/L) <sup>b</sup>	0,635 0,60-0,67	0,81 0,63-0,95	0,94 0,76-1,08	0,81 0,71-0,87	0,63 0,54-0,86	0,895 0,78-1,10	0,89 0,758-1,1	0,98 0,85-1,21	0,130 <sup>d</sup>
LDL-h(mmol/L) <sup>a</sup>	2,03±0,77	3,41±0,44	4,39±0,23	5,47±0,54	1,99±0,54	3,43±0,47	4,48±0,18	5,09±0,13	<b>&lt;0,0001</b>
Lp(a) (mg/L) <sup>b</sup>	0,084 0,024-0,098	0,123 0,098-0,210	0,098 0,097-0,506	0,166 0,098-0,520	0,098 0,098-0,098	0,098 0,098-0,266	0,098 0,098-0,785	0,103 0,098-0,115	0,109 <sup>d</sup>
non HDL-h (mmol/L)	3,05 2,87-3,40	4,16 3,77-4,51	5,07 4,73-5,27	6,02 5,67-6,36	3,11 2,69-3,27	4,12 3,58-4,57	4,96 4,74-5,32	-	<b>&lt;0,001<sup>d</sup></b>
Trigliceridi (mmol/L) <sup>b</sup>	1,37 1,17-2,07	1,35 1,09-1,96	1,44 1,26-1,81	1,58 1,19-1,82	1,25 0,85-1,34	1,28 0,96-1,84	1,15 0,94-1,75	1,97 1,44-2,03	0,438 <sup>d</sup>

**Legenda za tabele XLIX i L:**

a-aritmetička sredina ±SD; b-medijana sa opsegom; c- razlika medju grupama dobijena ANOVA testom; d-razlika medju grupama dobijena Kruskal-Wallis-ovim testom; Grupa I-LDL-hol<2,58 mmol/L; Grupa II-LDL-hol.=2,58-4,11 mmol/L; Grupa III-LDL-hol.=4,12-4,90 mmol/L; Grupa IV- LDL-h>4,90 mmol/L.

**Tabela 1.** Enzimski i neenzimski antioksidansi i parametri inflamacije po grupama ispitanika na osnovu vrednosti LDL-hol.

Parametri	AMD Grupa I	AMD Grupa II	AMD Grupa III	AMD Grupa IV	KG Grupa I	KG Grupa II	KG Grupa III	KG Grupa IV	P
CRP (mg/L) <sup>b</sup>	1,3 1,195–2,85	3,1 1,5–6,1	3,05 1,8–5,85	3,9 1,5–9,8	2,9 1,55–6,75	3,0 1,6–4,62	4,5 2,03–5,15	1,9 1,56–4,65	0,214 <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup>	2,64 1,63–3,88	3,54 1,77–6,15	2,51 2,01–4,72	2,97 1,83–3,91	1,95 0,65–3,22	2,37 1,73–3,96	2,73 2,11–3,47	2,21 0,85–3,22	0,654 <sup>d</sup>
Fibrinogen (g/L) <sup>a</sup>	4,3±0,71	3,8±0,95	4,06±0,68	4,07±0,31	3,35±0,68	3,61±0,88	3,78±0,76	3,4±0,41	0,385 <sup>d</sup>
Albumin (g/L) <sup>a</sup>	43±3,5	43,02±2,1	43,2±2,9	44,6±2,8	45,1±2,9	45±2,4	43,3±4,0	46±3,16	<b>0,003<sup>c</sup></b>
T.Bilirub. (μmol/L) <sup>a</sup>	10,67±3,2	12,12±5,61	10,08±2,8	11,9±5,2	16,6±8,7	12,6±4,5	11,6±3,7	9,65±5,1	0,425 <sup>c</sup>
D. Bilirubin (μmol/L) <sup>a</sup>	2,34±0,57	2,15±1,09	1,9±1,05	1,65±0,52	2,95±1,42	2,15±0,8	2,13±0,7	1,4±0,7	<b>0,036<sup>c</sup></b>
Mok. kis. (μmol/L) <sup>a</sup>	291±131	276±64	271±67	257,5±55,1	342,4±89	303,1±72,7	285,6±58,1	254,5±103	<b>0,054<sup>c</sup></b>
Transferin (g/L) <sup>a</sup>	2,55±0,23	2,45±0,34	2,54±0,52	2,57±0,28	2,59±0,31	2,44±0,38	2,58±0,35	2,46±0,3	0,731 <sup>c</sup>
Feritin (pg/mL) <sup>b</sup>	54,3 51,2–63,8	55,6 33,4–90,5	51,7 34,8–101,4	65,97 33,6–113,4	101,6 53,4–186,6	86,2 48,5–160,6	75,3 39,8–143,4	74,3 45,3–88,4	0,338 <sup>d</sup>
Haptoglobin (g/L) <sup>a</sup>	1,3±0,5	1,39±0,52	1,44±0,5	1,55±0,51	0,84±0,5	1,34±0,55	1,44±0,51	1,38±0,2	0,092 <sup>c</sup>
SOD (U/gHb) <sup>a</sup>	1022,3±221	1116,2±167	1103±139	1048±141	1063±101	1075±119	1076±174	1148±177	0,631 <sup>c</sup>
GPx (U/gHb) <sup>a</sup>	40,4±10,8	37,5±11,0	35,0±10,6	33,3±10,8	32,3±9,2	33,04±7,6	34,5±8,34	39,8±25,1	0,635 <sup>c</sup>
GR (U/L) <sup>b</sup>	59 50–69,5	60 50–63,8	52 45,5–59,0	51,5 30–57,5	55 53,4–59,6	58 55–63,75	59 57,1–62,5	60 57–63	0,200 <sup>d</sup>
TAS (mmol/L) <sup>a</sup>	1,20±0,24	1,17±0,20	1,18±0,18	1,05±0,19	1,38±0,11	1,31±0,14	1,29±0,23	1,2±0,3	<b>&lt;0,000<sup>c</sup></b>



#### 4.6.1.4. Kretanje inflamatornih i antioksidantnih parametara sa rastućim koncentracijama HDL-holesterola

Sa snižavanjem koncentracija HDL-holesterola po grupama dolazi do snižavanja aktivnosti SOD-a u AMD grupi i do porasta aktivnosti u KG (P=0,089) (Tabela LI). Aktivnosti GPx i GR se takođe snižavaju u obema grupama podjednako ali to nije bilo statistički potvrđeno, dok koncentracije TAS-a rastu u obema grupama, i to je bilo statistički značajno (P<0,0001). Sa snižavanjem koncentracija HDL-a rastu koncentracije mokraćne kiseline (P=0,022) i feritina (P=0,009) u obema grupama, dok je koncentracija haptoglobina rasla u AMD a snižavala se u KG (P=0,019).

**Tabela LI.** Enzimski i neenzimski antioksidansi u grupama ispitanika podeljeni po grupama HDL-holesterola

<i>Parametri</i>	<i>AMD Grupa I</i>	<i>AMD Grupa II</i>	<i>AMD Grupa III</i>	<i>KG Grupa I</i>	<i>KG Grupa II</i>	<i>KG Grupa III</i>	<i>P</i>
<i>SOD (U/gHb) <sup>a</sup></i>	1128±166,4	1058±147,6	1008±118,1	1067±133	1071±126	1150,5±116	0,089 <sup>c</sup>
<i>GPx (U/gHb) <sup>b</sup></i>	35,5 27,0–42,0	33 27,3–45,0	27,0 23,0–47,0	38,0 28,5–41,0	33,0 29–37	27,0 22,7–33,3	0,148 <sup>d</sup>
<i>GR (U/L) <sup>b</sup></i>	52,5 46,0–59,5	52,5 46,0–63,0	54 54–54	63,0 57,3–66,0	58,0 51,8–64,8	56 52,0–60,0	0,808 <sup>d</sup>
<i>TAS (mmol/L) <sup>a</sup></i>	1,11±0,196	1,13±0,21	1,15±0,16	1,27±0,196	1,32±0,15	1,38±0,13	<0,0001 <sup>c</sup>
<i>Albumin (g/L) <sup>a</sup></i>	43,86±2,82	43,3±2,28	41,25±2,43	45,14±3,69	44,58±2,25	45,27±2,28	0,001 <sup>c</sup>
<i>T.Bilirubin (µmol/L) <sup>b</sup></i>	10,9 7,97–12,3	11,0 8,1–14,3	9,2 8,4–12,1	12,1 8,9–15,5	10,8 9,2–14,0	11,3 9,5–14,8	0,447 <sup>d</sup>
<i>D. Bilirubin (µmol/L) <sup>b</sup></i>	1,7 1,43–2,50	2,0 1,3–2,55	2,05 1,50–2,15	2,1 1,67–3,0	1,70 1,47–2,43	2,4 1,45–2,97	0,432 <sup>c</sup>
<i>Mok. kiselina (µmol/L) <sup>a</sup></i>	265,5±61,6	271,1±65,4	314±112	290,8±86,9	306,5±66,8	319,8±74,5	0,022 <sup>c</sup>
<i>Transferin (g/L) <sup>a</sup></i>	2,54±0,40	2,48±0,35	2,31±0,25	2,56±0,42	2,55±0,25	2,43±0,33	0,373 <sup>c</sup>
<i>Feritin (pg/mL) <sup>b</sup></i>	52,1 35,57–81,65	53,05 32,1–89,8	136,2 74,57–205,3	62,8 38,57–129,2	82,85 59,4–156,2	87,3 51,2–171,9	0,0092 <sup>d</sup>
<i>Haptoglobin (g/L) <sup>a</sup></i>	1,24±0,51	1,58±0,45	1,54±0,6	1,33±0,47	1,34±0,57	1,2±0,55	0,019 <sup>c</sup>

**Legenda za tabele LI i LII:** **Grupa I:** HDL-h>1,55 mmol/L, **Grupa II:** HDL= 1,03–1,55 mmol/L; **Grupa III:** HDL-h<1,03 mmol/L; <sup>a</sup> –Aritmetička sredina ± SD; <sup>b</sup>–medijana i opseg; <sup>c</sup>–razlika dobijena ANOVA testom između svih 6 testiranih podgrupa; <sup>d</sup>– razlika dobijena Kruskal-Wallisovim testom između svih 6 podgrupa.

**Tabela LII.** Lipoproteinski i inflamatorni parametri u grupama ispitanika podjeljen po grupama HDL-holesterola

<i>Parametr i</i>	<i>AMD Grupa I</i>	<i>AMD Grupa II</i>	<i>AMD Grupa III</i>	<i>CG Grupa I</i>	<i>CG Grupa II</i>	<i>CG Grupa III</i>	<i>P</i>
<i>Apo A1 (g/L) <sup>a</sup></i>	1,93±0,33	1,56±0,27	1,36±0,179	0,187±0,27	1,52±0,27	1,35±0,21	<0,001 <sup>c</sup>
<i>Apo A2 (mg/L) <sup>b</sup></i>	354 320-421	329 298-368	267,2 251-288	407,2 352,3-448,7	348,2 315,9-377,6	341 269,2-382,5	<0,001 <sup>d</sup>
<i>Apo B (g/L) <sup>a</sup></i>	1,20±0,25	1,20±0,28	0,98±0,25	1,16±0,26	1,21±0,25	1,03±0,18	0,103 <sup>c</sup>
<i>Apo E (mg/L) <sup>a</sup></i>	46,57±7,99	44,5±11,4	38,1±10,5	47,3±13,7	46,2±13,2	39,1±18,8	0,233 <sup>c</sup>
<i>T.Hol (mmol/L) <sup>a</sup></i>	6,65±0,88	6,11±1,11	4,64±0,78	5,75±0,68	5,62±0,86	5,09±0,93	<0,001 <sup>c</sup>
<i>HDL-h (mmol/L) <sup>a</sup></i>	1,81±0,18	1,27±0,14	0,93±0,04	1,82±0,22	1,29±0,16	1,00±0,20	<0,001 <sup>c</sup>
<i>HDL2-h (mmol/L)<sup>b</sup></i>	0,48 0,42-0,597	0,36 0,266-0,485	0,205 0,16-0,245	0,52 0,43-0,66	0,36 0,28-0,42	0,30 0,25-0,32	<0,0001 <sup>d</sup>
<i>HDL3-h (mmol/L) <sup>a</sup></i>	1,19±0,26	0,78±0,14	0,55±0,16	1,14±0,22	0,86±0,16	0,71±0,19	<0,001 <sup>c</sup>
<i>LDL-h <sup>a</sup> (mmol/L)</i>	4,23±0,84	3,91±1,09	2,91±0,82	3,67±0,83	3,63±0,88	3,13±0,79	<0,001 <sup>c</sup>
<i>Lp(a) (mg/L) <sup>b</sup></i>	0,098 0,098-0,342	0,119 0,098-0,224	0,098 0,061-0,210	0,098 0,098-0,103	0,098 0,098-0,223	0,098 0,098-0,098	0,458 <sup>d</sup>
<i>non HDLh (mmol/L)<sup>b</sup></i>	4,84 4,21-5,41	4,63 3,89-5,71	3,43 2,99-4,07	4,42 3,96-4,80	3,92 3,20-4,27	3,9 3,34-4,67	0,0001 <sup>d</sup>
<i>Triglicerid (mmol/L) <sup>b</sup></i>	1,26 0,98-1,48	1,60 1,32-2,02	1,74 1,1-2,32	1,18 0,93-1,58	1,46 0,83-1,71	1,55 1,02-1,89	0,001 <sup>d</sup>
<i>CRP (mg/L) <sup>b</sup></i>	2,5 1,5-3,9	3,98 1,95-8,70	3,95 1,4-7,5	3,0 1,8-4,75	3,3 1,73-6,2	3,49 1,8-5,45	0,294 <sup>d</sup>
<i>IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup></i>	2,23 1,0-4,01	2,93 2,15-5,09	4,54 2,79-7,81	2,27 0,59-3,78	2,21 1,68-3,17	3,16 2,51-4,03	0,253 <sup>d</sup>
<i>Fibrinogen (g/L) <sup>b</sup></i>	3,8 3,2-4,05	3,9 3,83-4,58	4,0 3,45-4,53	3,7 3,13-3,90	3,5 2,90-4,10	3,3 3,20-4,10	0,153 <sup>d</sup>

Podelom ispitanika u grupe po opadajućim vrednostima HDL-holesterola po ATP III NCEP klasifikaciji, dobijeno je da se snižavaju koncentracije Apo A1 (P<0,001), Apo A2 (P<0,001), u obema grupama, kao i Apo B i Apo E ali bez statističke značajnosti (Tabela LII). Slično tome, dolazi do sniženja koncentracija ukupnog holesterola (P<0,001), LDL-holesterola (P<0,001), non-HDL holesterola (P<0,000) i subtrakcija HDL<sub>2</sub>- i HDL<sub>3</sub> -holesterola (P<0,0001), dok koncentracije triglicerida rastu u obema ispitanim grupama (AMD i KG) (P=0,001). Koncentracije CRP-a i IL-6 pokazuju rastući trend u obema grupama (ali bez statističke značajnosti), dok fibrinogen pokazuje opadajući trend u KG.

#### 4.6.2. KRETANJE PARAMETARA LIPIDNOG STATUSA ANTIOKSIDANTNE ZAŠTITE U ODNOSU NA RASTUĆE VREDNOSTI MARKERA INFLAMACIJE

##### 4.6.2.1. Vrednosti parametara lipidnog statusa i antioksidantne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti CRP-a

U cilju analiziranja kretanja vrednosti lipoproteinskih i antioksidantnih markera u zavisnosti od porasta vrednosti parametara inflamacije, izvršena je podela ispitanika iz obe grupe na podgrupe u zavisnosti od vrednosti CRP-a, IL-6 i fibrinogena i to na podgrupe pacijenata sa vrednostima CRP-a većim i manjim od 3 mg/L, podgrupe ispitanika sa vrednostima IL-6 većim i manjim od 4,9 pg/mL, i podgrupe ispitanika sa vrednostima fibrinogena većim i manjim od 3,8 g/L. Vrednosti CRP-a < i > od 3 mg/L smatraju se cut-off vrednosti za rizik od nastanka kardiovaskularnih poremećaja, dok se vrednosti IL-6 >4,9 pg/mL i fibrinogena >3,8 g/L smatraju se cut-off vrednosti za pojavu sistemske inflamacije.

**Tabela LIII.** Inzlamatorni i antioksidativni markeri u podgrupama CRP-a <i> od 3 mg/L ispitanih grupa

Parametri	CRP<3 mg/L		CRP>3 mg/L		P
	AMD	KG	AMD	KG	
CRP (mg/L) <sup>b</sup>	1,65 1,17-2,2	1,8 1,4-2,40	6,1 4,0-9,7	5,25 4,30-7,80	<0,000 <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup>	2,18 1,6-3,7	1,86 0,66-2,66	3,7 2,11-5,36	2,76 1,88-3,66	0,006 <sup>d</sup>
Fibrinogen (g/L) <sup>b</sup>	3,8 3,25-4,00	3,1 2,8-3,7	4,3 3,83-4,77	3,7 3,2-4,2	< 0,001 <sup>d</sup>
SOD (U/gHb) <sup>a</sup>	1098,7±179,9	1061,6±124,8	1086±143	1099±132,8	0,637 <sup>c</sup>
GPx (U/gHb) <sup>b</sup>	40 30,5-45,5	33 26-41	34 25-41,0	33 29-38,0	0,0855 <sup>d</sup>
GR (U/L) <sup>b</sup>	52 46-59,5	59,5 52-63	56,5 48,0-64,0	59 56-65	0,305 <sup>d</sup>
TAS (mmol/L) <sup>b</sup>	1,12 0,97-1,25	1,29 1,21-1,37	1,17 0,96-1,31	1,35 1,26-1,43	< 0,0001 <sup>d</sup>
Albumin (g/L) <sup>a</sup>	43,52±2,54	45,0±2,49	43,2±2,68	44,7±3,18	0,002 <sup>c</sup>
Mokraćna kis. (µmol/L) <sup>a</sup>	259,4±60,5	280,5±60,6	284,2±75,1	327,6±81,4	< 0,001 <sup>c</sup>
Tot. bilirubin (µmol/L) <sup>b</sup>	11 8,55-14,35	10,75 8,5-13,95	10,3 7,9-12,8	12,2 9,6-14,3	0,111 <sup>d</sup>
Dir. bilirubin (µmol/L) <sup>b</sup>	1,85 1,50-2,70	1,95 1,45-2,55	1,8 1,28-2,50	2,05 1,60-2,70	0,237 <sup>d</sup>
Transferin (g/L) <sup>a</sup>	2,47±0,32	2,57±0,38	2,52±0,43	2,41±0,29	0,236 <sup>c</sup>
Feritin (pg/mL) <sup>b</sup>	52,1 35,4-81,5	62,8 42,7-125,5	59,8 33,3-136,2	87,5 59,5-180,7	0,0061 <sup>d</sup>
Haptoglobin (g/L) <sup>a</sup>	1,25±0,44	1,17±0,58	1,59±0,51	1,43±0,44	< 0,001 <sup>c</sup>

Legenda za tabele LIII i LIV: <sup>a</sup>-Aritmetička sredina; <sup>b</sup>-medijana i opseg; <sup>c</sup>-razlika dobijena ANOVA testom između sve 4 testirane podgrupe; <sup>d</sup>- razlika dobijena Kruskal-Wallisovim testom između sve 4 podgrupe.

**Tabela LIV.** Lipoproteinski markeri u podgrupama CRP-a <i> od 3 mg/L ispitanih grupa

Parametri	CRP<3 mg/L		CRP>3 mg/L		P
	AMD	KG	AMD	KG	
Ukupni holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	6,12±1,17	5,45±0,88	6,33±1,08	5,72±0,80	<b>0,001</b>
HDL-holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	1,51±0,31	1,45±0,37	1,42±0,36	1,39±0,30	0,318 <sup>c</sup>
HDL <sub>2</sub> -holesterol (mmol/L) <sup>b</sup>	0,45 0,34–0,59	0,37 0,30–0,52	0,39 0,23–0,48	0,36 0,27–0,46	0,131 <sup>d</sup>
HDL <sub>3</sub> -holesterol (mmol/L) <sup>b</sup>	0,85 0,71–1,19	0,96 0,78–1,09	0,78 0,64–0,91	0,89 0,76–1,09	0,149 <sup>d</sup>
LDL-holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	3,82±1,06	3,56±0,84	4,12±0,99	3,57±0,91	<b>0,020</b> <sup>c</sup>
non-HDL-hol. (mmol/L) <sup>a</sup>	4,55±1,05	4,01±0,88	4,86±1,11	4,27±0,73	<b>0,001</b> <sup>c</sup>
Trigliceridi (mmol/L) <sup>b</sup>	1,28 1,03–1,61	1,14 0,89–1,65	1,6 1,26–2,08	1,61 1,24–1,89	<b>0,001</b> <sup>d</sup>
Apo A1 (g/L) <sup>a</sup>	1,71±0,30	1,61±0,33	1,66±0,39	1,61±0,33	0,505 <sup>c</sup>
Apo A2 (mg/L) <sup>a</sup>	346,3±68,9	352,4±62,8	346,4±60,5	363,3±63,4	0,569 <sup>c</sup>
Apo B (g/L) <sup>a</sup>	1,1±0,24	1,11±0,24	1,26±0,28	1,23±0,26	<b>0,005</b> <sup>c</sup>
Apo E (mg/L) <sup>a</sup>	44,2±10,2	41,7±13,4	45,3±10,2	49,2±13,9	<b>0,054</b> <sup>c</sup>
Lp(a) (g/L) <sup>b</sup>	0,098 0,077–0,183	0,098 0,098–0,185	0,134 0,098–0,362	0,098 0,098–0,111	<b>0,0863</b> <sup>c</sup>

Sa rastućim vrednostima CRP-a, rastu i koncentracije drugih inflamatornih markera: IL-6 i fibrinogena i to u obe ispitane grupe (P=0,006 i P<0,001), što potvrđuje hipotezu da je inflamacija proces koji prati i starenje a ne samo patološka stanja (Tabela LIII).

Za razliku od markera inflamacije, parametri antioksidativne zaštite se drugačije ponašaju: SOD ima tendenciju porasta u KG a opadajući trend u AMD grupi; GPX pada u AMD grupi a bez promena je u KG, dok GR i TAS pokazuju blagi porast u AMD grupi, sa porastom koncentracija CRP do i preko 3 mg/L. Blagi porast vrednosti TAS-a se dešava i u KG sa porastom CRP-a, dok je GR bez promena u KG.

Parametri neenzimske antioksidantne zaštite, kao što su mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin, feritin i haptoglobin, rastu u obe grupe ispitanika zajedno sa porastom koncentracije CRP-a iznad 3 mg/L. Koncentracije ukupnog holesterola, LDL-holesterola, triglicerida, apo B i apo E, takođe značajno rastu sa porastom koncentracije CRP-a, u obe grupe ispitanika ( $P < 0,05$ ) (Tabela LIV), dok koncentracije ukupnog HDL-holesterola i subfrakcija HDL2- i HDL3-holesterola opadaju u zavisnosti od porasta koncentracije CRP.

#### **4.6.2.2. Vrednosti parametara lipidnog statusa i antioksidantne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti IL-6**

Podelom ispitanika na podgrupe po rastućim vrednostima IL-6, dobijeno je da porast IL-6 preko 4,9 pg/mL, prate i koncentracije ostalih markera inflamacije: CRP-a i fibrinogena ( $P = 0,008$  i  $P < 0,001$ ). Parametri antioksidativne zaštite SOD, GPx i GR imaju tendenciju opadanja u AMD grupi a tendenciju porasta u KG (tabela LV), dok neenzimski antioksidansi: mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin i feritin imaju tendenciju porasta u AMD a opadanja u KG. Haptoglobin ima tendenciju porasta u obe grupe ispitanika (AMD I KG).

**Tabela LV.** Inflamatorni i antioksidativni markeri u podgrupama IL-6 <i> od 4,9 pg/mL ispitanih grupa

Parametri	IL-6<4,9 pg/mL		IL-6>4,9 pg/mL		P
	AMD	KG	AMD	KG	
CRP (mg/L) <sup>b</sup>	3,0 1,63–4,3	3,5 1,93–5,6	5,3 3,83–18,1	7,8 2,53–11,08	0,008 <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup>	2,26 1,38–3,50	2,21 1,41–3,11	6,7 6,15–11,56	7,45 5,97–7,76	<0,000 <sup>d</sup>
Fibrinogen (g/L) <sup>a</sup>	3,96±0,65	3,52±0,74	4,29±1,07	4,76±0,63	<0,001 <sup>c</sup>
SOD (U/gHb) <sup>a</sup>	1130,5±179,3	1084,4±124,1	1066,1±87,99	1100,3±126,0	0,576 <sup>c</sup>
GPx (U/gHb) <sup>a</sup>	34,3±11,4	31,7±7,6	30,7±7,2	34,3±6,4	0,616 <sup>c</sup>
GR (U/L) <sup>a</sup>	60,5±12,8	57,7±13,5	53,86±9,1	65,5±7,8	0,534 <sup>c</sup>
TAS (mmol/L) <sup>a</sup>	1,17±0,17	1,35±0,1,3	1,17±0,16	1,29±0,14	<0,001 <sup>c</sup>
Albumin (g/L) <sup>a</sup>	43,5±2,7	44,9±2,9	42,6±2,0	44,8±2,7	0,033 <sup>c</sup>
Mokraćna kis. (μmol/L) <sup>a</sup>	254,3±59,9	316,4±71,2	262,8±56,6	254,2±62,4	<0,001 <sup>c</sup>
Tot. bilirubin (μmol/L) <sup>b</sup>	10,8 7,6–13,7	13,1 10,35–14,8	11,2 9,43–13,5	9,8 9,5–18,5	0,102 <sup>d</sup>
Dir. bilirubin (μmol/L) <sup>b</sup>	1,8 1,3–2,7	2,1 1,63–2,88	2,0 1,7–2,5	1,5 1,4–3,6	0,605 <sup>d</sup>
Transferin (g/L) <sup>a</sup>	2,51±0,42	2,51±0,33	2,52±0,51	2,54±0,43	0,998 <sup>c</sup>
Feritin (pg/mL) <sup>b</sup>	55,4 36,2–81,6	87,3 50,0–166,3	78,9 29,4–235,0	85,6 51,9–99,0	0,154 <sup>d</sup>
Haptoglobin (g/L) <sup>a</sup>	1,4±0,5	1,19±0,5,1	1,78±0,61	1,99±0,27	<0,001 <sup>c</sup>

**Legenda za tabele LV i LVI:** <sup>a</sup>-Aritmetička sredina; <sup>b</sup>-medijana i opseg; <sup>c</sup>-razlika dobijena ANOVA testom između sve 4 testirane podgrupe; <sup>d</sup>- razlika dobijena Kruskal-Wallisovim testom između sve 4 podgrupe.

**Tabela LVI.** Lipoproteinski markeri u podgrupama IL-6 <i> od 4,9 pg/mL ispitanih grupa

<i>Parametri</i>	<i>IL-6&lt;4,9 pg/mL</i>		<i>IL-6&gt;4,9 pg/mL</i>		<i>P</i>
	<i>AMD</i>	<i>KG</i>	<i>AMD</i>	<i>KG</i>	
<i>Ukupni holesterol (mmol/L)<sup>a</sup></i>	6,34±1,06	5,5±0,88	5,99±0,98	5,66±0,52	<b>0,002<sup>c</sup></b>
<i>HDL-holesterol (mmol/L)<sup>a</sup></i>	1,49±0,35	1,41±0,37	1,3±0,31	1,56±0,46	0,359 <sup>c</sup>
<i>HDL<sub>2</sub>-holesterol (mmol/L)<sup>a</sup></i>	0,45±0,17	0,43±0,18	0,42±0,16	0,56±0,33	0,411 <sup>c</sup>
<i>HDL<sub>3</sub>-holesterol (mmol/L)<sup>a</sup></i>	0,97±0,28	0,91±0,253	0,78±0,25	0,95±0,23	0,247 <sup>c</sup>
<i>LDL-holesterol (mmol/L)<sup>a</sup></i>	4,1±0,77	3,46±0,93	3,96±0,78	3,64±0,45	<b>0,008<sup>c</sup></b>
<i>non-HDL-holest. (mmol/L)<sup>a</sup></i>	4,83±0,97	4,02±0,84	4,79±0,99	4,25±0,47	<b>0,002<sup>c</sup></b>
<i>Trigliceridi (mmol/L)<sup>b</sup></i>	1,26 1,0–1,79	1,27 0,94–1,84	1,47 1,09–2,03	1,61 0,95–1,97	0,803 <sup>d</sup>
<i>Apo A1 (g/L)<sup>a</sup></i>	1,72±0,38	1,61±0,34	1,53±0,29	1,55±0,36	0,304 <sup>c</sup>
<i>Apo A2 (mg/L)<sup>a</sup></i>	348,7±67,8	359,9±64,4	326,5±57,5	395,3±34,5	0,162 <sup>c</sup>
<i>Apo B (g/L)<sup>a</sup></i>	1,18±0,26	1,16±0,27	1,21±0,24	1,2±0,14	0,943 <sup>c</sup>
<i>Apo E (mg/L)<sup>a</sup></i>	47,3±12,4	47,3±14,5	44,5±10,1	51,1±10,5	0,805 <sup>c</sup>
<i>Lp(a) (g/L)<sup>b</sup></i>	0,098 0,077–0,349	0,098 0,098–0,165	0,204 0,097–0,377	0,15 0,098–0,390	0,635 <sup>d</sup>

Vrednosti ukupnog holesterola snižavaju se sa porastom IL-6 u AMD grupi a rastu u KG (P=0,002), a takođe i vrednosti ukupnog HDL-, HDL<sub>2</sub>- i HDL<sub>3</sub>-holesterola, (ali bez statističke značajnosti) i vrednosti LDL-holesterola (P=0,008) (Tabela LVI).



#### 4.6.2.3. Vrednosti parametara lipidnog statusa i antioksidantne zaštite u odnosu na rastuće vrednosti fibrinogena

**Tabela LVII.** Inflamatorni i antioksidativni markeri u podgrupama fibrinogena <i> od 3,8 g/L ispitanih grupa

Parametri	Fibrinogen<3,8 g/L		Fibrinogen>3,8 g/L		P
	AMD	KG	AMD	KG	
CRP (mg/L) <sup>b</sup>	1,5 0,7-3,60	2,9 1,6-4,35	4,2 1,9-8,55	5,9 3,0-7,9	0,0001 <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL) <sup>b</sup>	2,26 1,67-4,11	1,89 1,20-2,99	3,7 2,32-6,21	3,1 2,14-4,61	0,0019 <sup>d</sup>
Fibrinogen (g/L) <sup>b</sup>	3,23±0,42	3,14±0,41	4,46±0,60	4,51±0,65	< 0,001 <sup>c</sup>
SOD (U/gHb) <sup>a</sup>	1084,3±148,7	1070±124,3	1164,4±161,8	1105,3±139,3	0,058 <sup>c</sup>
GPx (U/gHb) <sup>b</sup>	40 28,5-46,5	33,5 28,0-40,0	37 28,5-42,0	32 28,0-38,8	0,125 <sup>c</sup>
GR (U/L) <sup>b</sup>	53,6±7,7	56,3±15,0	60,2±10,8	63,7±4,96	0,186 <sup>c</sup>
TAS (mmol/L) <sup>b</sup>	1,18±0,19	1,32±0,19	1,15±0,167	1,27±0,14	< 0,001 <sup>c</sup>
Albumin (g/L) <sup>a</sup>	43,4±1,86	45,3±2,42	43,15±2,63	43,9±3,44	0,002 <sup>c</sup>
Mokraćna kis. (μmol/L) <sup>a</sup>	259,6±60,5	310,0±78,9	249,2±61,5	294,8±63,6	0,001 <sup>c</sup>
Tot. bilirubin (μmol/L) <sup>b</sup>	11,2 9,4-15,0	11,6 8,9-14,3	11,5 7,5-13,3	10,8 9,5-13,4	0,597 <sup>c</sup>
Dir. bilirubin (μmol/L) <sup>b</sup>	2,4 1,93-2,98	2,1 1,50-2,70	1,75 1,30-2,40	1,8 1,60-2,27	0,125 <sup>c</sup>
Transferin (g/L) <sup>a</sup>	2,46±0,45	2,43±0,34	2,44±0,45	2,61±0,39	0,283 <sup>c</sup>
Feritin (pg/mL) <sup>b</sup>	62,4 34,8-85,5	88,6 51,6-163,9	65,97 36,6-192,1	67,3 45,7-109,5	0,238 <sup>d</sup>
Haptoglobin (g/L) <sup>a</sup>	1,11±0,42	1,15±0,51	1,74±0,52	1,66±0,43	< 0,001 <sup>c</sup>

**Legenda za tabele LVII i LVIII:** <sup>a</sup>-Aritmetička sredina; <sup>b</sup>-medijana i opseg; <sup>c</sup>-razlika dobijena ANOVA testom između sve 4 testirane podgrupe; <sup>d</sup>- razlika dobijena Kruskal-Wallisovim testom između sve 4 podgrupe.

Podelom ispitanika na podgrupe po rastućim vrednostima fibrinogena do i preko 3,8 g/L koje predstavljaju granice za sistemska inflamaciju, dobijeno je da porast fibrinogena prate i porast koncentracija CRP-a ( $P=0,001$ ), IL-6 ( $P=0,0019$ ) kao i aktivnosti SOD-a ( $P=0,058$ ) i GR-a (ali bez statističke značajnosti).

**Tabela LVIII.** Lipoproteinski markeri u podgrupama fibrinogena <i> od 3,8 g/L ispitanih grupa

Parametri	Fibrinogen<3,8 g/L		Fibrinogen>3,8 g/L		P
	AMD	KG	AMD	KG	
Ukupni holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	5,81±0,91	5,45±0,85	6,23±0,92	5,7±0,83	0,007 <sup>c</sup>
HDL-holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	1,49±0,29	1,39±0,34	1,39±0,35	1,48±0,32	0,519 <sup>c</sup>
HDL <sub>2</sub> -holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	0,43±0,16	0,42±0,2	0,46±0,18	0,41±0,13	0,728 <sup>c</sup>
HDL <sub>3</sub> -holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	1,0±0,23	0,91±0,24	0,92±0,34	0,96±0,23	0,652 <sup>c</sup>
LDL-holesterol (mmol/L) <sup>a</sup>	3,72±0,76	3,54±0,89	4,0±0,66	3,56±0,84	0,107 <sup>c</sup>
non-HDL-hol. (mmol/L) <sup>a</sup>	4,27±0,74	4,11±0,81	4,84±0,86	4,07±0,87	0,003 <sup>c</sup>
Trigliceridi (mmol/L) <sup>a</sup>	1,32±0,47	1,35±0,52	1,91±0,97	1,56±0,56	0,045 <sup>c</sup>
Apo A1 (g/L) <sup>a</sup>	1,65±0,26	1,61±0,32	1,61±0,33	1,63±0,35	0,978 <sup>c</sup>
Apo A2 (mg/L) <sup>a</sup>	345,7±86,8	354,6±65,5	334,8±57,4	368,6±64,6	0,323 <sup>c</sup>
Apo B (g/L) <sup>a</sup>	1,02±0,19	1,17±0,26	1,16±0,22	1,19±0,26	0,140 <sup>c</sup>
Apo E (mg/L) <sup>a</sup>	42,7±8,15	46,4±15,2	49,5±11,86	45,3±12,8	0,440 <sup>c</sup>
Lp(a) (g/L) <sup>b</sup>	0,098 0,031–0,201	0,098 0,098–0,162	0,163 0,063–0,403	0,098 0,098–0,177	0,271 <sup>d</sup>

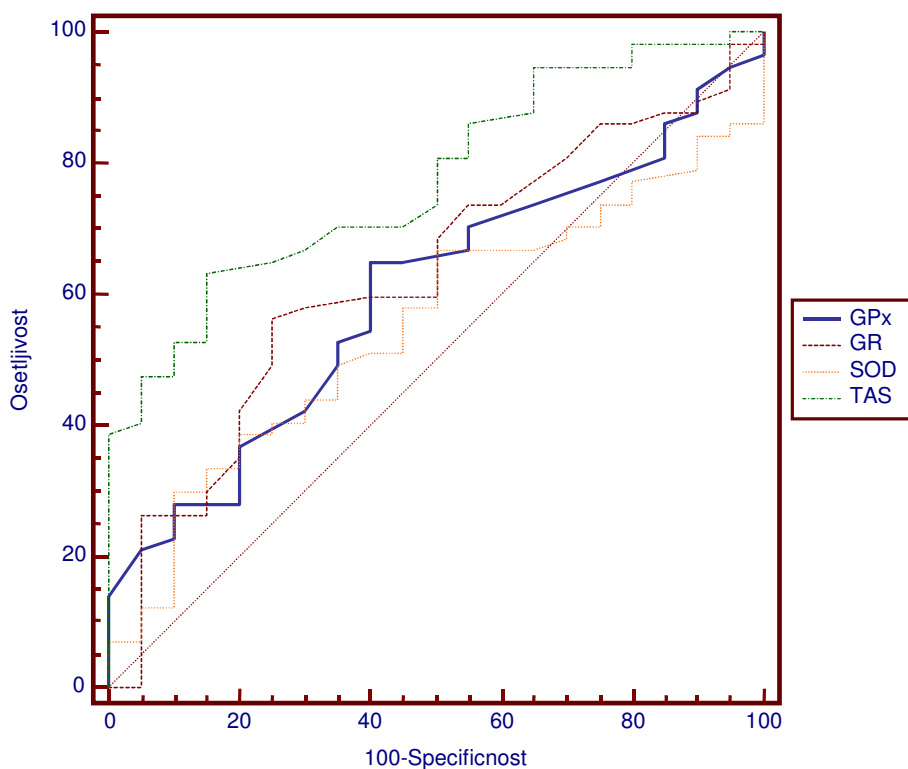
Vrednosti GPx i TAS-a imaju tendenciju opadanja u obema grupama ispitanika, ali je statistička potvrda dobijena samo za TAS ( $P<0,001$ ) (Tabela LVII). Neenzimski antioksidansi kao što su mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin pokazuju tendenciju opadanja u obema grupama ali, statistička

potvrda je dobijena samo za mokraćnu kiselinu ( $P=0,001$ ). Koncentracije haptoglobina prate porast koncentracija fibrinogena u obe grupe spitanika ( $P<0,001$ ), isto kao i koncentracije ukupnog holesterola ( $P=0,007$ ) i triglicerida ( $P=0,045$ ).

## 4.7. ANALIZA ROC KRIVIH

### 4.7.1. ANALIZA ROC KRIVIH ZA PARAMETRE ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE

Dijagnostička vrednost aktivnosti parametara antioksidativne zaštite ispitanika procenjena je ROC krivom (slika 45). Za aktivnost SOD-a dobijeno je da dijagnostički test poseduje 43,2% osetljivosti i 69% specifičnosti (tabela LIX). Cut-off vrednosti su određivane ROC krivom ali i interaktivnim tačkastim dijagramom (slike 47 i 48) i one iznose 1134 U/gHb. Površina ispod ROC krive za SOD iznosi  $AUC=0,531$ ; 95% CI za AUC  $0,452-0,609$ ;  $Z=0,689$  pri  $P=0,492$ .



**Slika 47.** Prikaz ROC krivih za SOD, GPx, GR i TAS

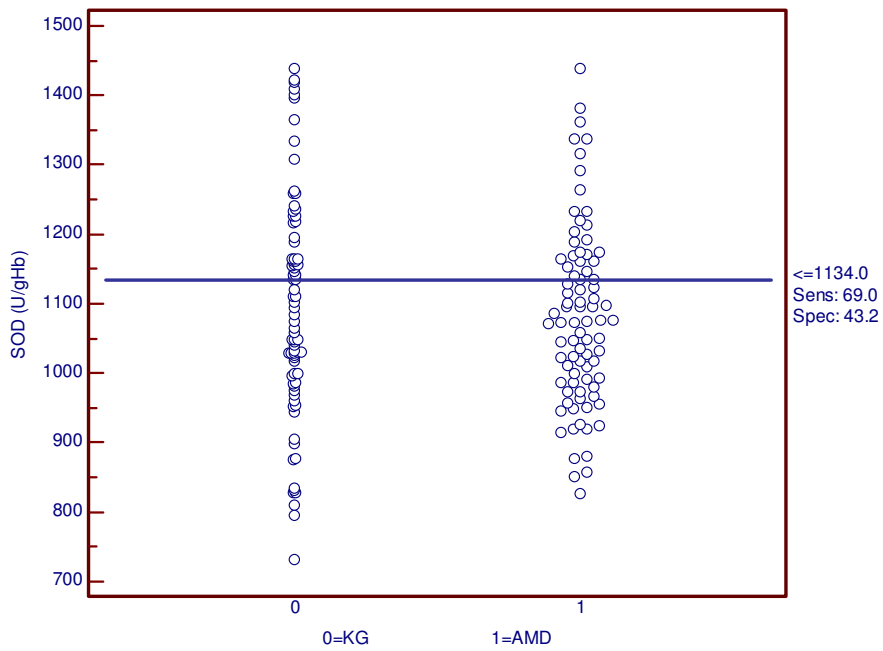
Osim ROC krive urađen je i interaktivni „dot“ (tačkasti) dijagram za procenu tačnosti dijagnostičkog testa, pri čemu su podaci tj. pozitivne i negativne (prediktivne) vrednosti prikazane kao tačke na vertikalnoj osi, dok horizontalna linija prikazuje «cut off» vrednosti sa najboljom separacijom

minimalnih lažno pozitivnih i lažno negativnih vrednosti (slike 46, 47 i 48). Na osnovu osetljivosti, specifičnosti i procenata prevalencije bolesti koji iznosi 49,1%, izračunato je da pozitivna prediktivna vrednost (PPV) za SOD iznosi 57,3% a negativna prediktivna vrednost (NPV) za SOD iznosi 55,7%.

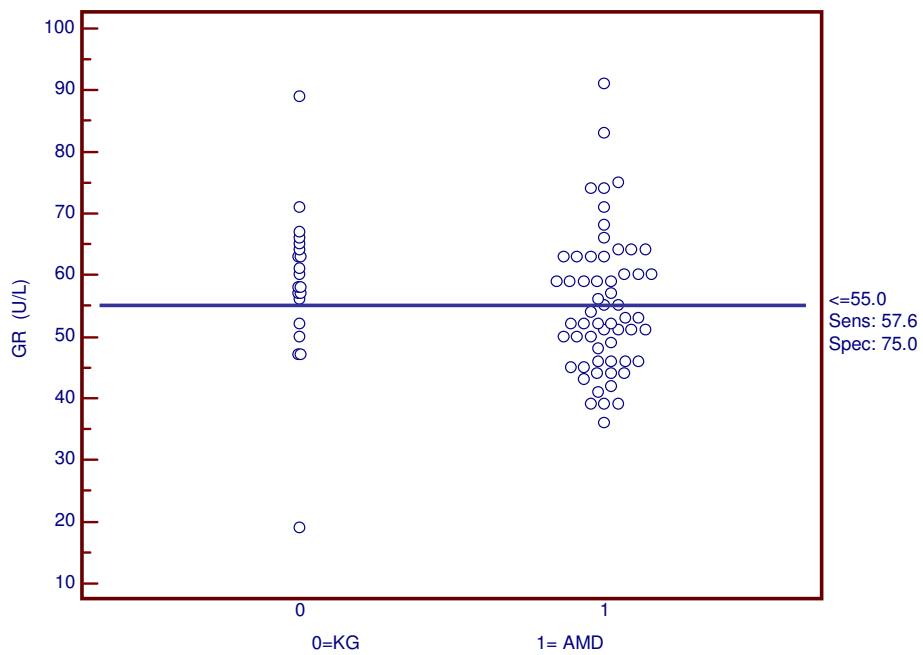
Dijagnostička tačnost testa za određivanje GPx-a ima osetljivost od 73,5% i specifičnost od 41,2% (Tabela LIX), pri čemu su cut-off vrednosti utvrđene pri vrednosti <31 U/gHb. Površina ispod krive iznosi  $AUC_{GPx}=0,578$ , standardna greška je 0,068, a 95% intervala poverenja je 0,454–0,695 ( $Z=1,42$ ;  $P=0,155$ ). Procenat prevalencije bolesti iznosi 51,2% dok su PPV za GPx 56,7% a NPV je 59,7%.

**Tabela LIX.** Statistički parametri ROC analize za parametre antioksidativne zaštite

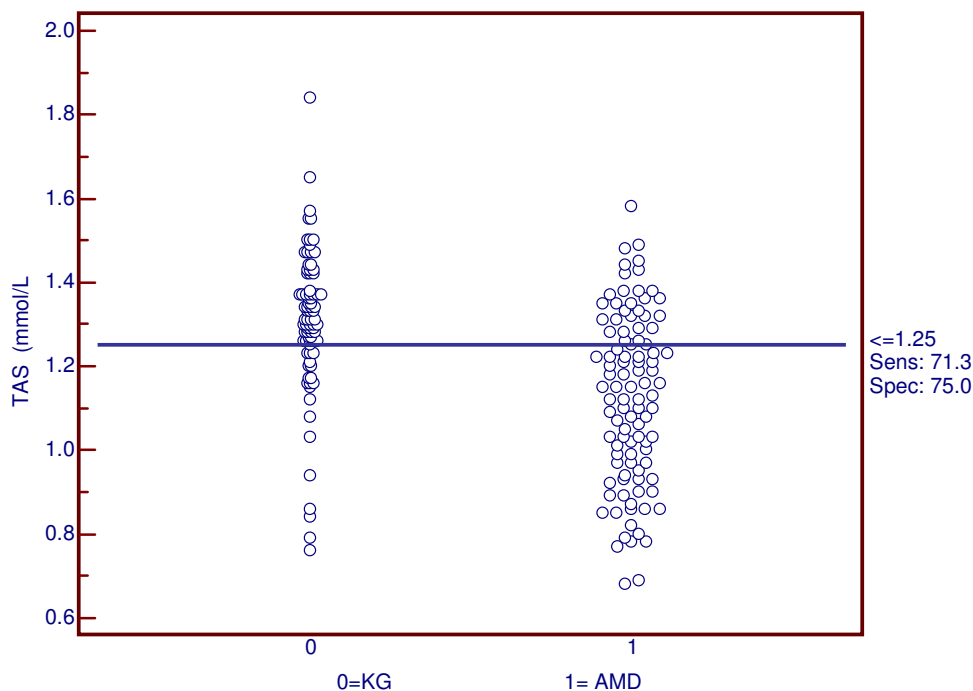
<i>Parametri</i>	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>95% CI</i>	<i>Osetljiv.</i>	<i>Specifič.</i>	<i>Cut-off vred.</i>
<b>SOD</b>	0,531	0,045	0,452–0,609	43,2%	69%	<1134 U/gHb
<b>GPx</b>	0,578	0,068	0,454–0,695	73,5%	41,2%	<31 U/gHb
<b>GR</b>	0,632	0,078	0,487–0,761	57,6%	75%	<55 U/L
<b>TAS</b>	0,758	0,035	0,689–0,817	71,3%	75%	<1,25 mmol/L



**Slika 48.** Interaktivni tačkasti dijagram za SOD



**Slika 49.** Interaktivni tačkasti dijagram za GR



**Slika 50.** Interaktivni tačkasti dijagram za TAS

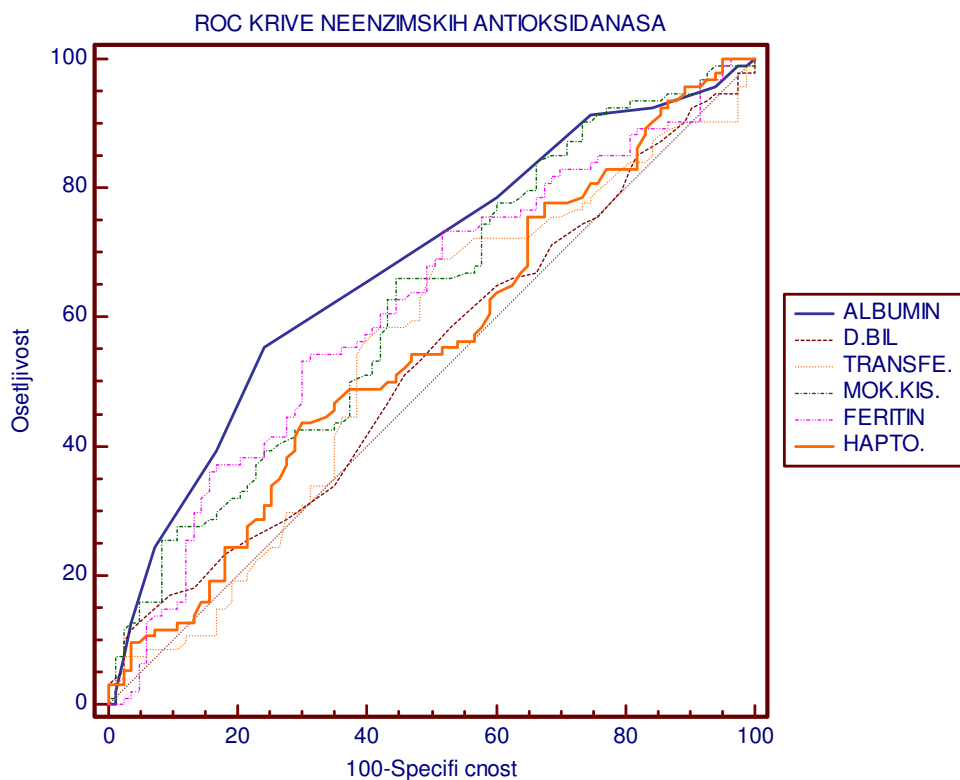
ROC krivom za aktivnost GR, dobijeno je da je dijagnostička osetljivost 57,6%, a dijagnostička specifičnost 75%. Površina ispod krive je 0,632; standardna greška 0,078; dok je 95% intervala poverenja 0,487–0,761. Statistička vrednost  $Z= 1,809$  pri  $P=0,070$ . Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da je «cut off» vrednost pri vrednosti manjoj ili jednakoj 55 U/L, (slika 49). Procenat prevalencije bolesti iznosi 74,7% dok su PPV za GR 87,2% a NPV 37,5%.

ROC kriva za TAS-a, pokazala je da je dijagnostička osetljivost 71,3% a dijagnostička specifičnost 75%. Površina ispod krive je 0,758; standardna greška 0,035; dok je 95% intervala pouzdanosti 0,689–0,817. Statistička vrednost  $Z=7,13$  pri  $P=0,0001$ . Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti  $\leq 1,25$  mmol/L (slika 50). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 54,6% a PPV iznose 77,4% dok NPV iznose 68,4%. Izračunati intervali pouzdanosti ne uključuju vrednost od 0,500, što znači da TAS kao parametar ima sposobnost da razlikuje zdrave od bolesnih, s toga se

određivanje koncentracije TAS-a može smatrati značajnim mogućim prediktorom za dijagnozu AMD-a.

#### 4.7.2. ANALIZA ROC KRIVIH NEENZIMSKIH ANTIOKSIDANASA

Dijagnostički test za albumin ima osetljivost od 55% a, specifičnost od 77%. Površina ispod krive iznosi 0,677, a 95% CI (interval poverenja) 0,603–0,745 ( $Z=4,73$ ,  $P<0,000$ ), dok je standardna greška 0,041 (tabela LX). Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima manjim od 43 g/L (slika 52). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 55,6% a PPV iznose 79,9% dok NPV iznose 57,74%.

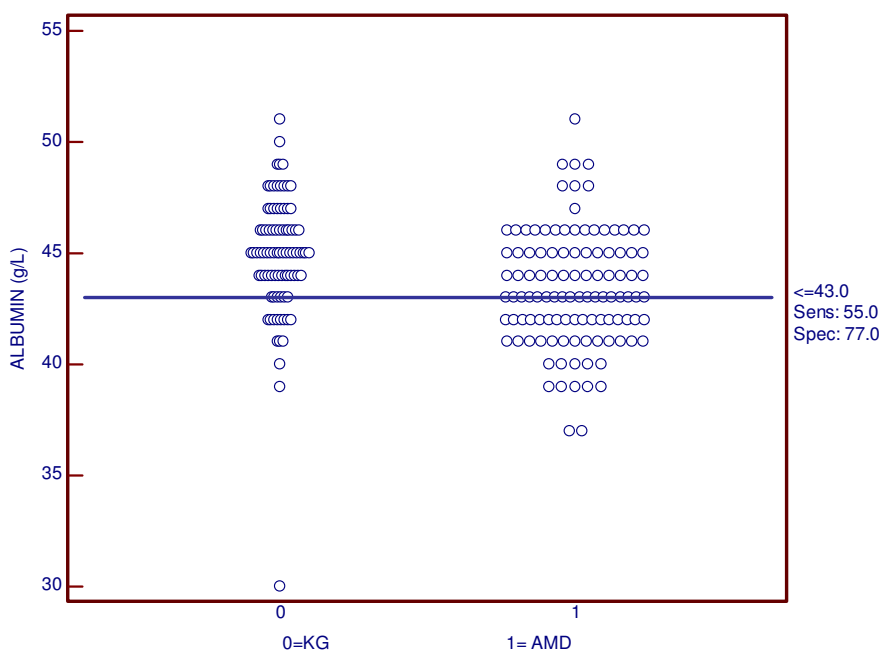


**Slika 51.** Prikaz ROC krivih za parametre neenzimske antioksidantne zaštite



**Tabela LX.** Statistički parametri ROC analize za neenzimske antioksidanse

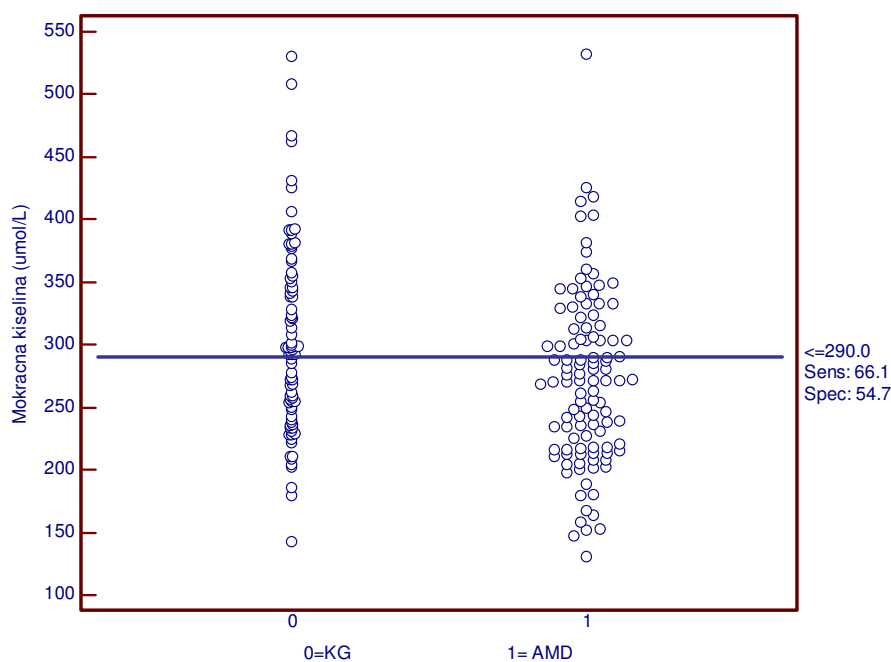
Parametri	AUC	SE	95% CI	Osetljiv.	Specifič.	Cut-off vred.
<i>Albumin</i>	0,677	0,041	0,603–0,745	55%	77%	<43 g/L
<i>Mok.kis.</i>	0,618	0,042	0,543–0,690	66,1%	54,7%	<290 $\mu\text{mol/L}$
<i>T.bilirub.</i>	0,554	0,042	0,481–0,625	74,1%	37,2%	<13 $\mu\text{mol/L}$
<i>D.bilirub.</i>	0,529	0,044	0,452–0,602	15,6%	94,2%	<1 $\mu\text{mol/L}$
<i>Feritin</i>	0,615	0,042	0,539–0,687	53,1%	69%	<55,7 pg/mL
<i>Transferin</i>	0,545	0,043	0,469–0,620	48,8%	66%	<2,38 g/L
<i>Haptogl.</i>	0,553	0,043	0,476–0,627	69%	45,1%	<1,51 g/L



**Slika 52.** Interaktivni tačkasti dijagram za albumin

Sposobnost dijagnostičkog testa za mokraćnu kiselinu da otkrije prisustvo AMD-a (osetljivost) je 66,1%, dok je sposobnost testa da isključi bolest (specifičnost) je 54,7%. Površina ispod krive je 0,618, a 95% CI (interval poverenja) 0,543–0,690 ( $Z=2,83$   $P=0,005$ ), dok je standardna greška 0,042 (tabela

LX). Interaktivni tačkasti dijagram (slika 53) pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima mokraćne kiseline manjim od 290  $\mu\text{mol/L}$ . Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 55,9 a PPV iznose 64,9 % dok NPV iznose 56%.

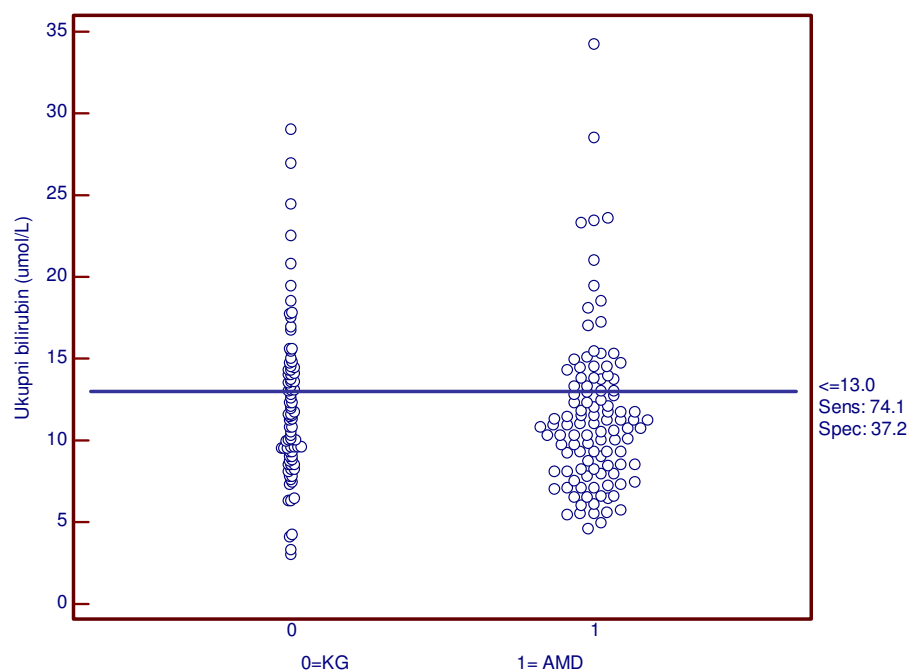


**Slika 53.** Interaktivni tačkasti dijagram za mokraćnu kiselinu

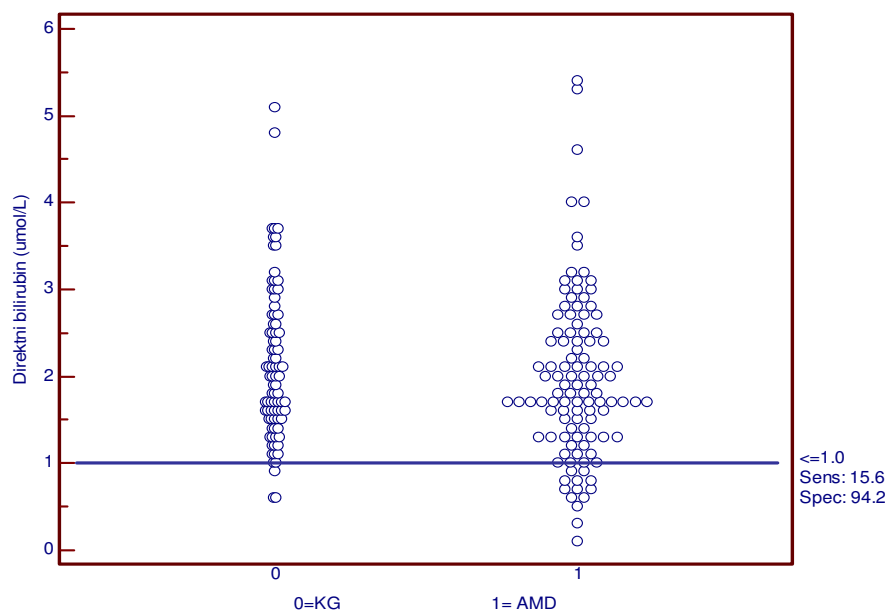
Dijagnostički test za ukupni bilirubin ima osetljivost od 74,1% a, specifičnost od 37,2%. Površina ispod krive iznosi 0,554, a 95% CI (interval poverenja) 0,481–0,625 ( $Z=1,29$ ,  $P<0,196$ ), dok je standardna greška 0,042 (tabela LX). Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima manjim od 13  $\mu\text{mol/L}$  (slika 54). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 55,7% a PPV iznose 59,7% dok NPV iznose 53,3%.

Dijagnostički test za direktni bilirubin ima osetljivost od svega 15,6% a, specifičnost od 94,2%. Površina ispod krive iznosi 0,529, a 95% CI (interval poverenja) 0,452–0,602 ( $Z=1,108$ ,  $P<0,267$ ), dok je standardna greška 0,044 (tabela LX). Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti

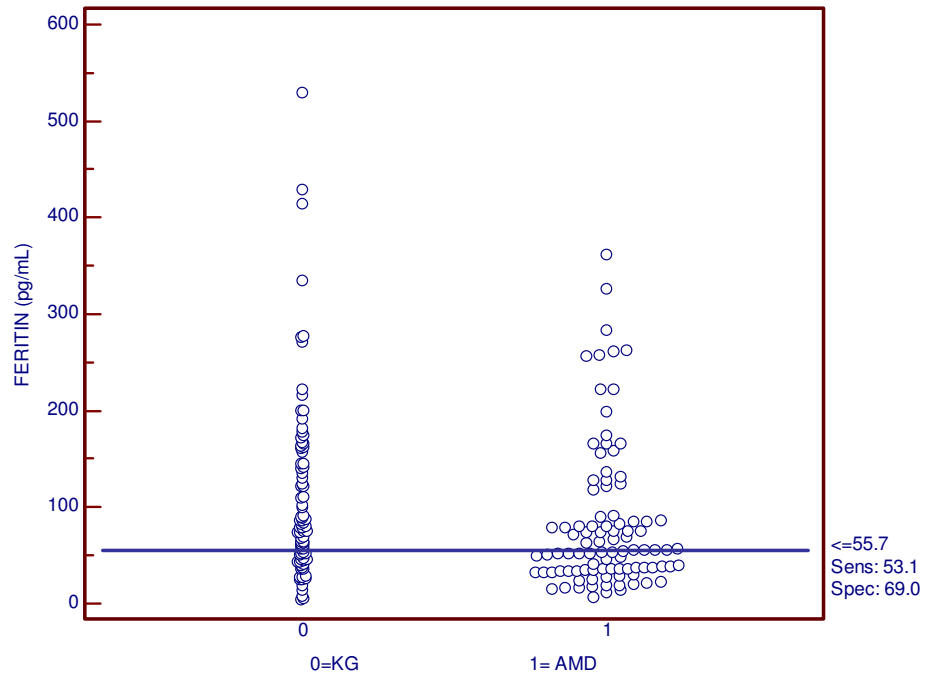
pri vrednostima manjim od 1  $\mu\text{mol/L}$  (slika 55). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 55,9% a PPV iznose 77,3% dok NPV iznose 46,8%.



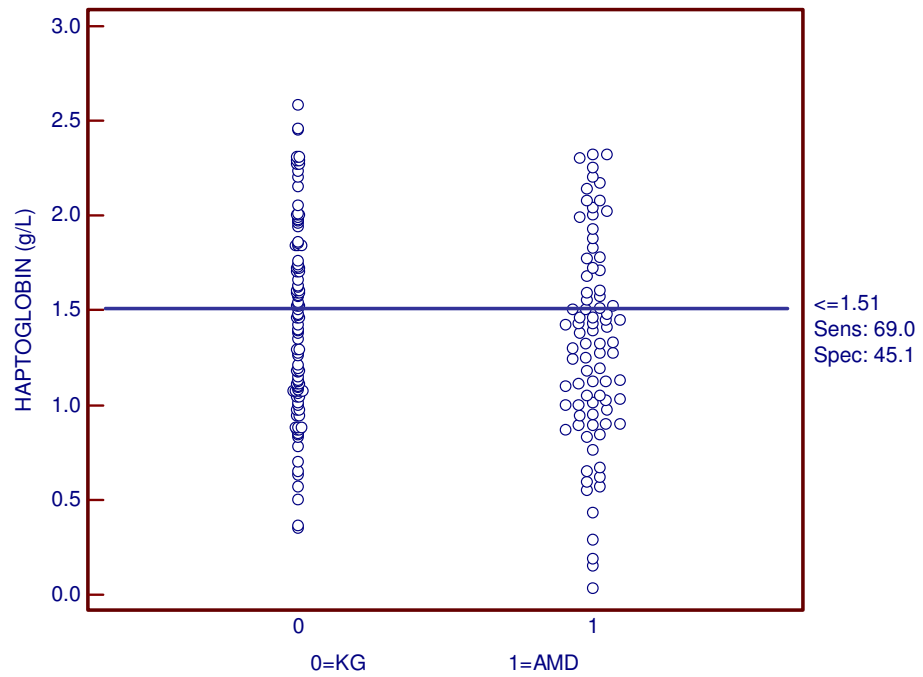
Slika 54. Interaktivni tačkasti dijagram za ukupni bilirubin



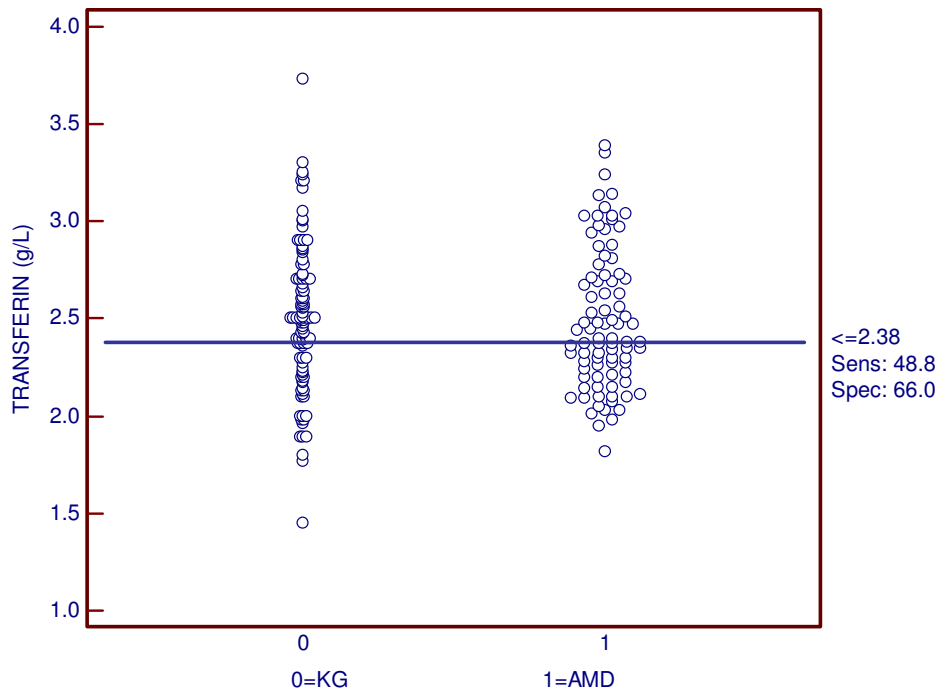
Slika 55. Interaktivni tačkasti dijagram za direktni bilirubin



Slika 56. Interaktivni tačkasti dijagram za feritin



Slika 57. Interaktivni tačkasti dijagram za haptoglobin



**Slika 58.** Interaktivni tačkasti dijagram za transferin

Sposobnost dijagnostičkog testa za feritin da otkrije prisustvo AMD-a (osetljivost) je 53,1%, dok je sposobnost testa da isključi bolest (specifičnost) je 69%. Površina ispod krive je 0,615, a 95% CI (interval poverenja) 0,539–0,687 ( $Z=2,73$   $P=0,006$ ), dok je standardna greška 0,042 (tabela LX). Interaktivni tačkasti dijagram (slika 56) pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima feritina manjim od 55,7 pg/mL. Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 52,5 a PPV iznose 65,4 % dok NPV iznose 57,1%.

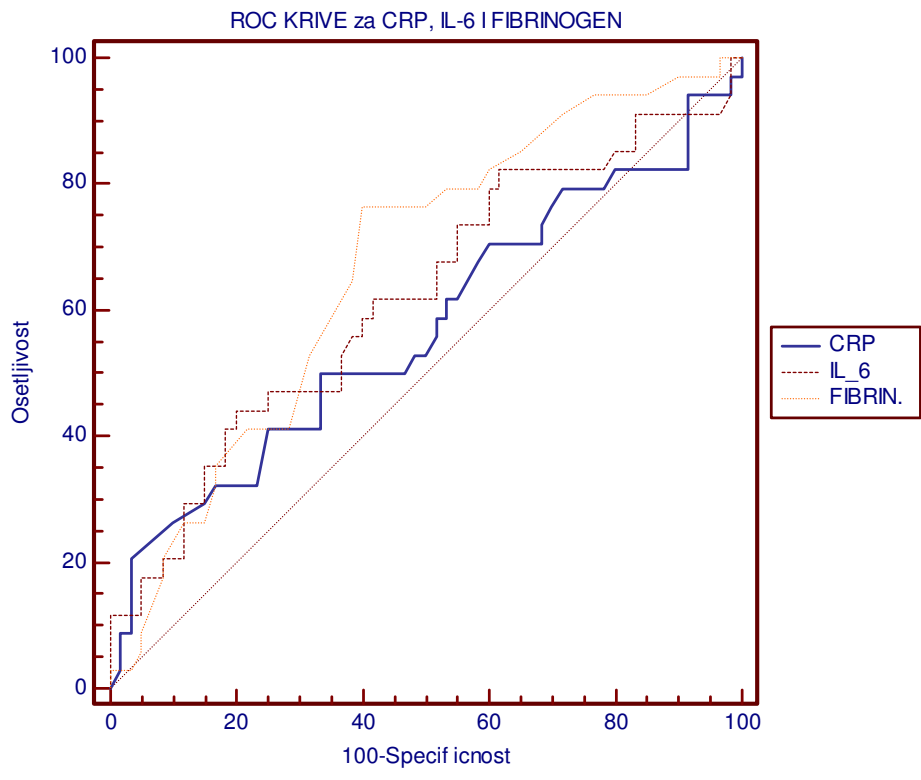
Dijagnostički test haptoglobin ima osetljivost od 69%, a specifičnost od 45,1%. Površina ispod krive iznosi 0,553, a 95% CI (interval poverenja) 0,476–0,627 ( $Z=1,44$ ,  $P=0,151$ ), dok je standardna greška 0,043 (tabela LX). Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima manjim od 1,51 g/L (slika 57). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 54,8% a PPV iznose 63,8% dok NPV iznose 50,9%.

Dijagnostički test za transferin ima osetljivost od 48,8%, a specifičnost od 66%. Površina ispod krive iznosi 0,545, a 95% CI (interval poverenja) 0,469–0,620 ( $Z=0,603$ ,  $P=0,546$ ), dok je standardna greška 0,043 (tabela LX). Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima manjim od 2,38 g/L (slika 56). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 54,5% a PPV iznose 60,7% dok NPV iznose 54,5%.

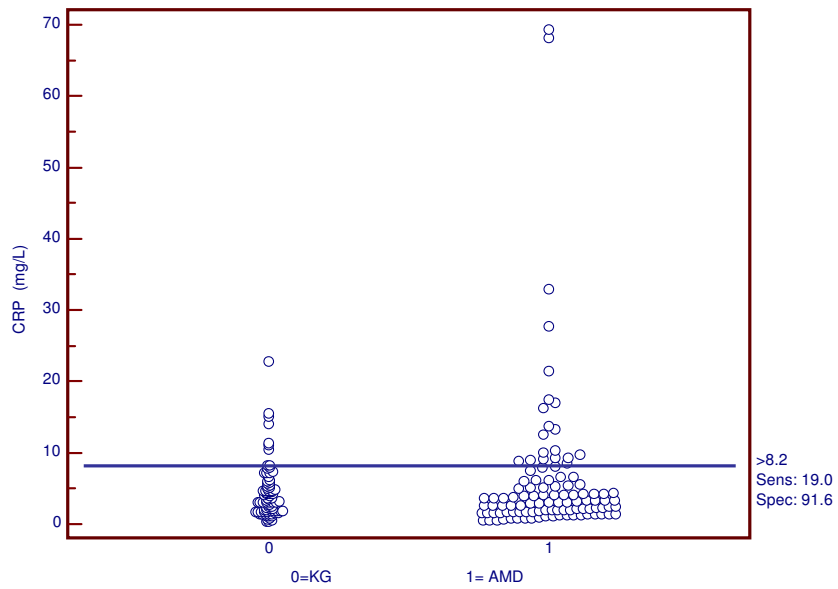
#### 4.7.3. ANALIZA ROC KRIVIH PARAMETARA INFLAMACIJE

Sposobnost dijagnostičkog testa za CRP da otkrije prisustvo AMD-a (osetljivost) je 19%, dok je sposobnost testa da isključi bolest (specifičnost) je 91,6%. Površina ispod krive je 0,571, a 95% CI (interval poverenja) 0,464–0,672 ( $Z=0,029$ ,  $P=0,976$ ), dok je standardna greška 0,060 (tabela LXI). Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima CRP-a većim od 8,2 mg/L (slika 60). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 55,9 a PPV iznose 74,1 % dok NPV iznose 47,15%.

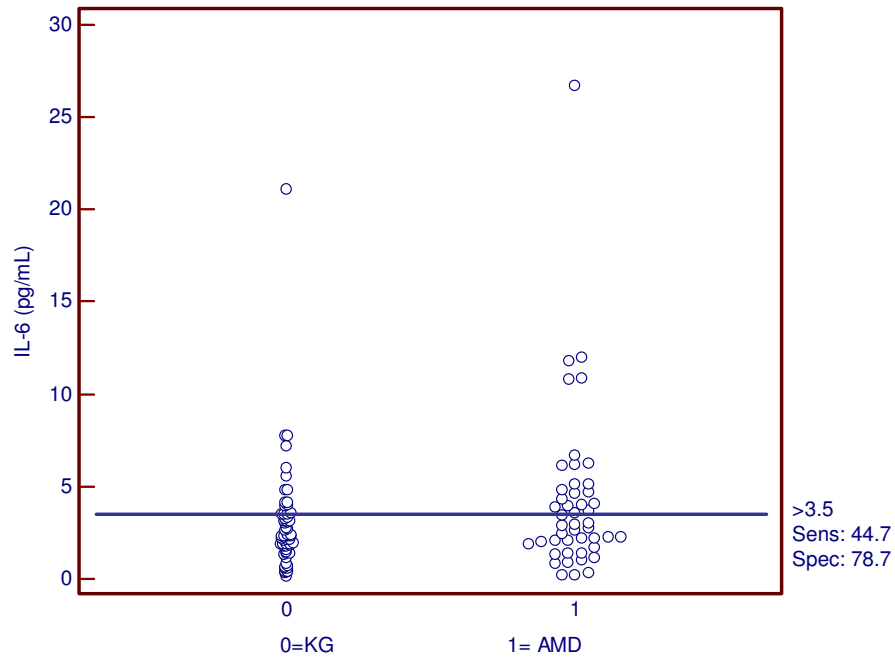
ROC krivom za aktivnost IL-6, dobijeno je da je dijagnostička osetljivost 44,7%, a dijagnostička specifičnost 78,7%. Površina ispod krive je 0,620; standardna greška 0,0614; dok je 95% intervala poverenja 0,514-0,718. Statistička vrednost  $Z = 1,81$  a  $P=0,070$ . Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da je «cut off» vrednost pri vrednosti većoj od 3,5 pg/mL (slika 61). Procenat prevalencije bolesti iznosi 43,5% dok su PPV za IL-6 61,8% a NPV 64,9%.



Slika 59. ROC krive za CRP, IL-6 i fibrinogen



Slika 60. Interaktivni tačkasti dijagram za CRP

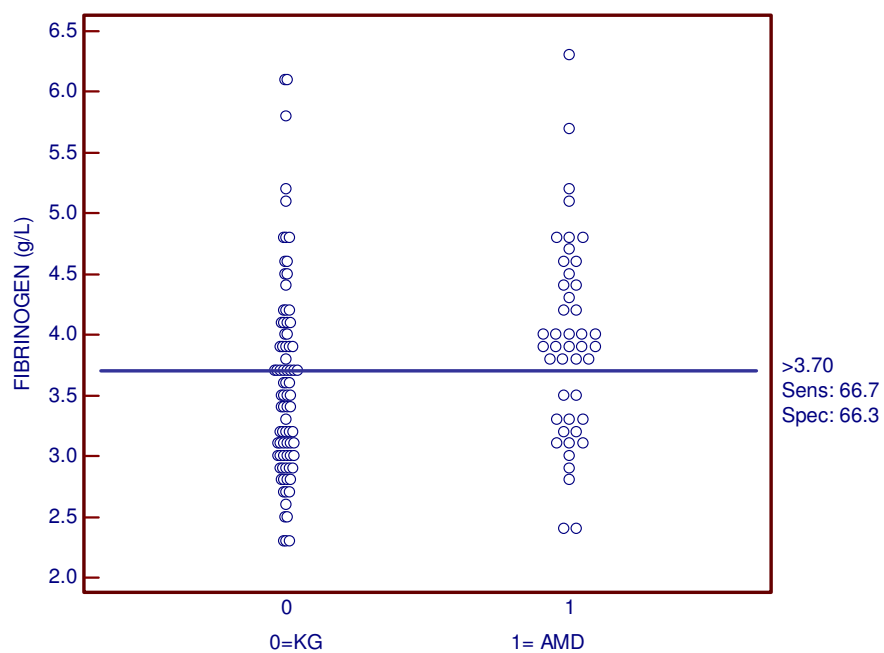


**Slika 61.** Interaktivni tačkasti dijagram za IL-6

ROC krivom za koncentraciju fibrinogena, dobijeno je da je dijagnostička osetljivost 66,7%, a dijagnostička specifičnost 66,3%. Površina ispod krive je 0,668; standardna greška 0,0598; dok je 95% intervala poverenja 0,563-0,762. Statistička vrednost  $Z = 2,765$  pri  $P = 0,006$ . Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da je «cutoff» vrednost pri vrednosti većoj od 3,7 g/L (slika 62). Procenat prevalence bolesti iznosi 35,1% dok su PPV za fibrinogen 51,7% a NPV 78,6%.

Izračunati intervali pozdanosti za IL-6 i fibrinogen ne uključuju vrednost AUC od 0,500; što znači da se ova dva parametra mogu koristiti kao mogući prediktori za razvoj AMD-a (tabela LXI).





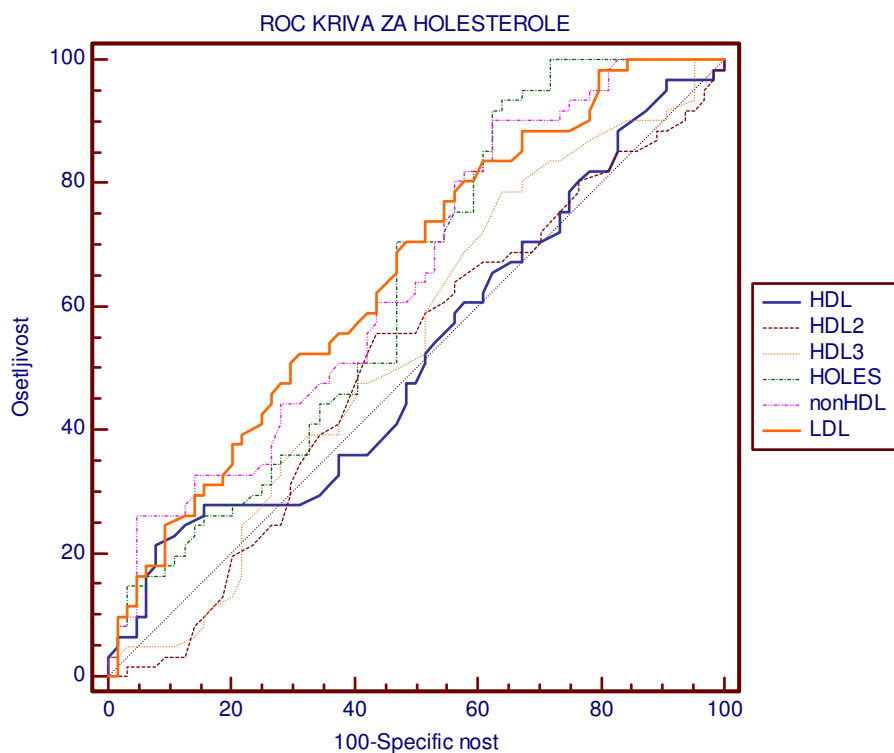
Slika 62. Interaktivni tačkasti dijagram za fibrinogen

Tabela LXI. Statistički parametri ROC analize za parametre inflamacije

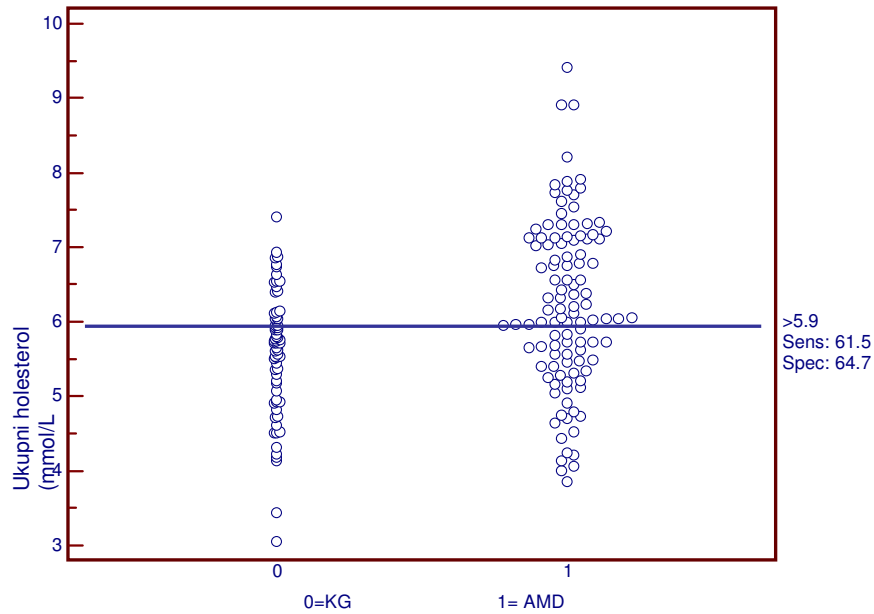
<i>Parametri</i>	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>95% CI</i>	<i>Osetljivost</i>	<i>Specifičnost</i>	<i>Cut-off vred.</i>
<i>CRP</i>	0,571	0,060	0,464–0,672	19	91,6	>8,2 mg/L
<i>IL-6</i>	0,620	0,0614	0,514–0,718	44,7	78,7	>3,5 pg/mL
<i>Fibrinogen</i>	0,668	0,0598	0,563–0,762	66,7	66,3	>3,7 g/L

#### 4.7.4. ANALIZA ROC KRIVIH PARAMETARA LIPIDNOG STATUSA

Sposobnost dijagnostičkog testa za ukupni holesterol da otkrije prisustvo AMD-a (osetljivost) je 61,5%, dok je sposobnost testa da isključi bolest (specifičnost) je 64,7%. Površina ispod krive je 0,639, a 95% CI (interval poverenja) 0,547–0,724 ( $Z=3,63$ ,  $P=0,0003$ ), dok je standardna greška 0,0498. Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima holesterola većim od 5,9 mmol/L (slika 64). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 61,6% a PPV iznose 73,6% dok NPV iznose 51,2%.

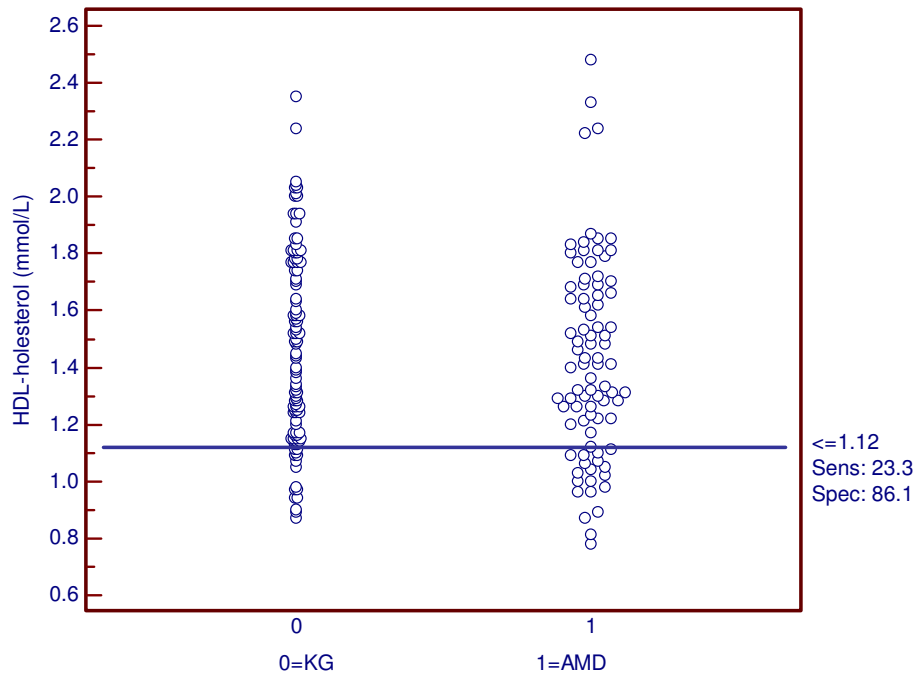


**Slika 63.** ROC krive za ukupni, HDL-, LDL-, non-HDL, HDL<sub>2</sub>- i HDL<sub>3</sub>-holesterol



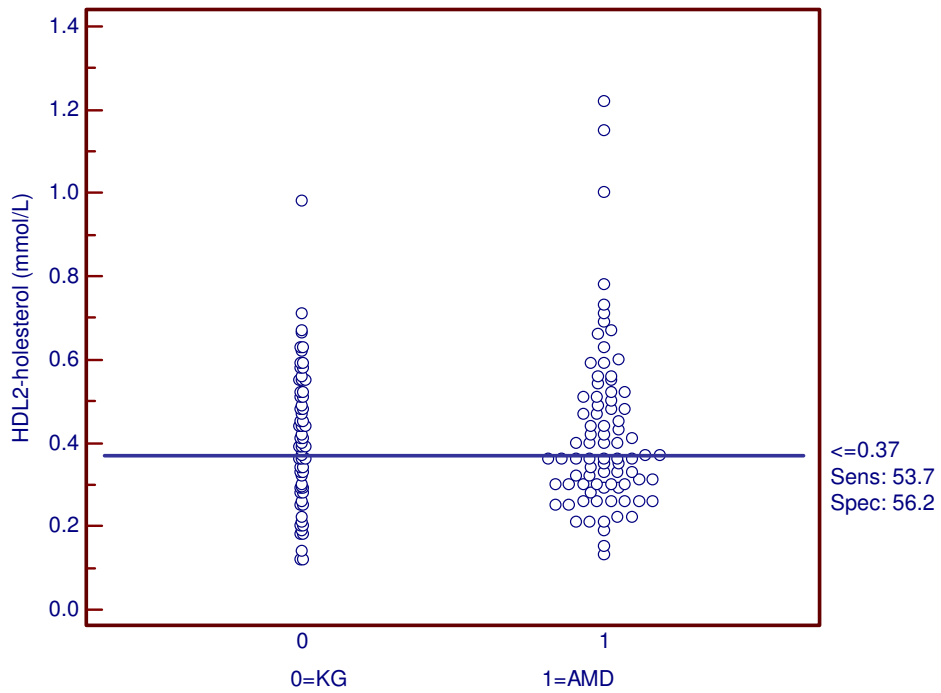
**Slika 64.** Interaktivni tačkasti dijagram za ukupni holesterol

ROC krivom za HDL-holesterol, dobijeno je da je dijagnostička osetljivost 23,3%, a dijagnostička specifičnost 86,1%. Površina ispod krive je 0,538; standardna greška 0,0524; dok je 95% intervala poverenja 0,446-0,629. Statistička vrednost  $Z = 0,703$  pri  $P=0,482$ . Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da je «cutt off» vrednost pri vrednosti manjoj od 1,12 mmol/L (slika 65). Procenat prevalence bolesti iznosi 55,7% dok su PPV za GR 58,5% a NPV 57,1%.

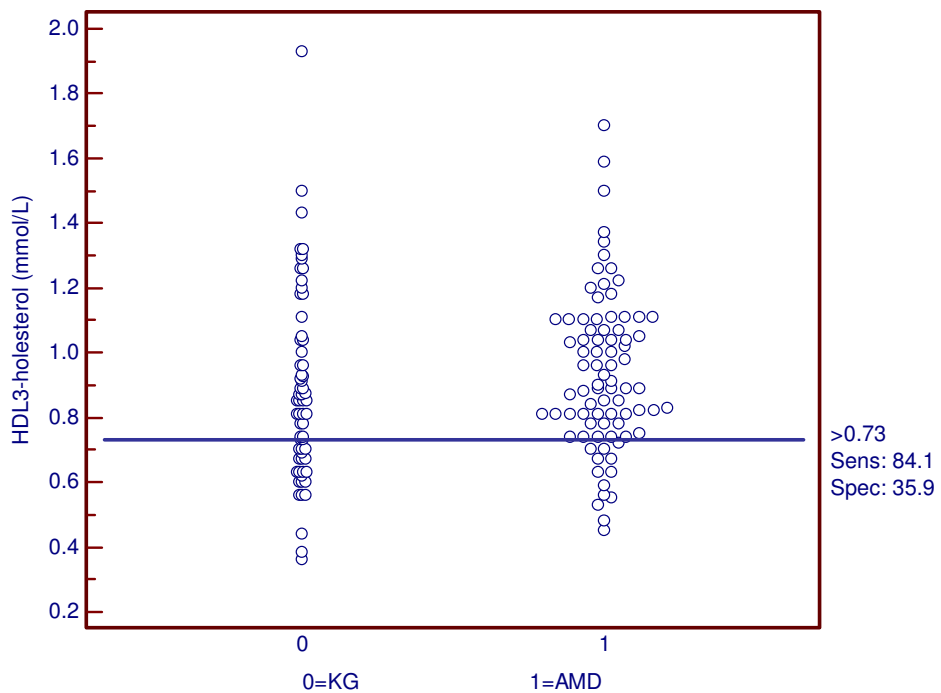


**Slika 65.** Interaktivni tačkasti dijagram za HDL-holesterol

ROC krivom za HDL<sub>2</sub>-holesterol, dobijeno je da je dijagnostička osetljivost 53,7%, a dijagnostička specifičnost 56,2%. Površina ispod krive je 0,520; standardna greška 0,0525; dok je 95% intervala poverenja 0,428-0,611. Statistička vrednost  $Z = 0,164$  pri  $P = 0,870$ . Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da je «cutt off» vrednosti pri vrednosti manjoj od 0,37 mmol/L (slika 66). Procenat prevalence bolesti iznosi 43,8% dok su PPV za HDL<sub>2</sub>-hol. 48,6% a NPV 61,1%.

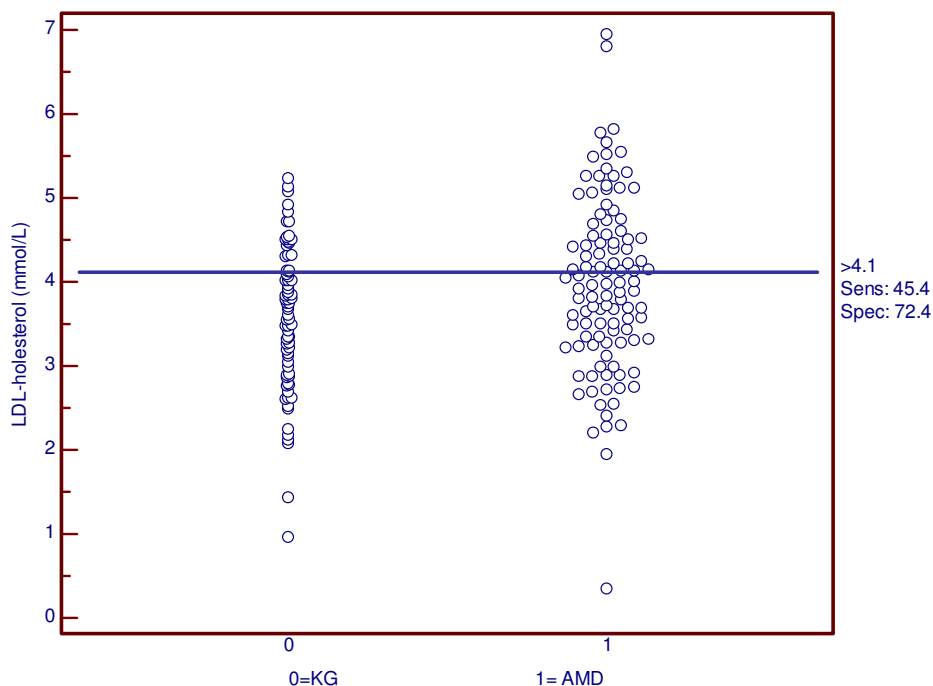


**Slika 66.** Interaktivni tačkasti dijagram za HDL<sub>2</sub>-holesterol



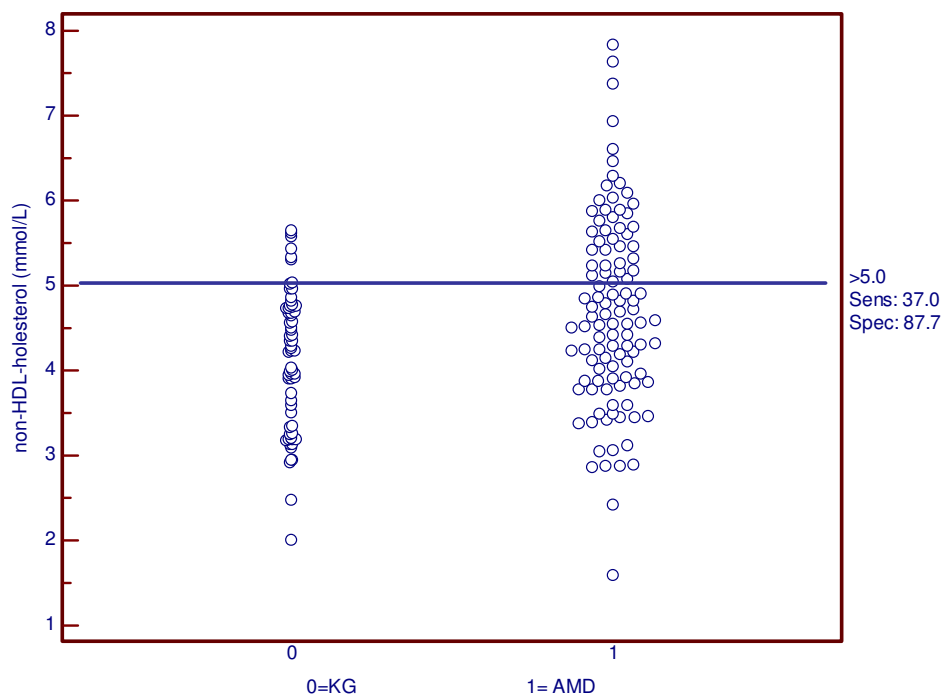
**Slika 67.** Interaktivni tačkasti dijagram za HDL<sub>3</sub>-holesterol

ROC krivom za HDL<sub>3</sub>-holesterol, dobijeno je da je dijagnostička osetljivost 84,1 %, a dijagnostička specifičnost 35,9 %. Površina ispod krive je 0,601; standardna greška 0,0514; dok je 95% intervala poverenja 0,508-0,689. Statistička vrednost  $Z = 1,77$  pri  $P=0,077$ . Vrednosti HDL<sub>3</sub>-holesterola koje su veće od 0,73 mmol/L utvrđene su kao «cutt off» vrednosti (slika 67). Procenat prevalencije bolesti iznosi 43,8% dok su PPV za HDL<sub>3</sub>-hol. 63,7% a NPV 48,6%.



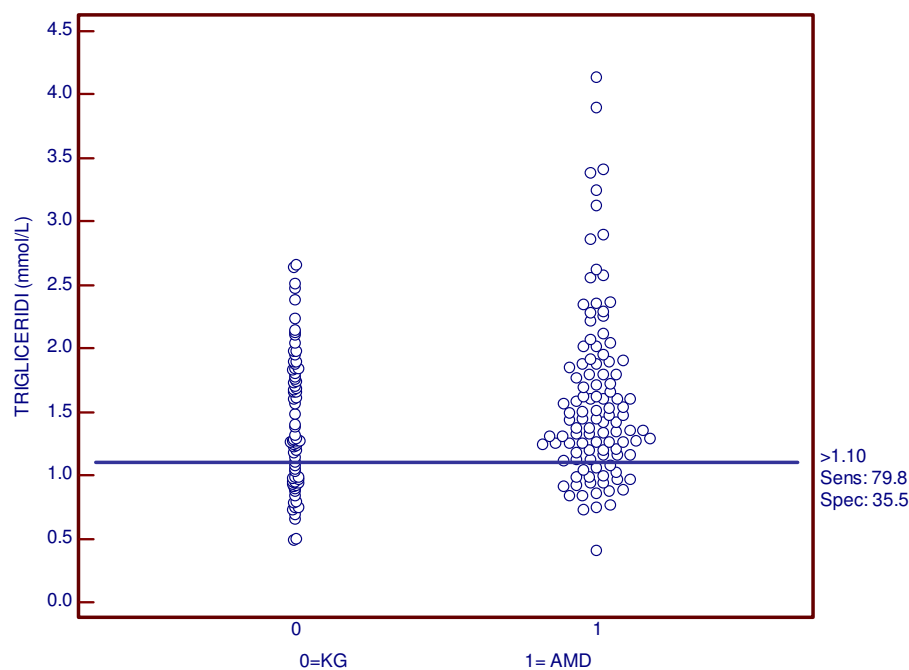
**Slika 68.** Interaktivni tačkasti dijagram za LDL-holesterol

Sposobnost dijagnostičkog testa za LDL-holesterol da otkrije prisustvo AMD-a (osetljivost) je 45,4%, dok je sposobnost testa da isključi bolest (specifičnost) je 72,4%. Površina ispod krive je 0,610, a 95% CI (interval poverenja) 0,518–0,697 ( $Z=2,62$ ,  $P=0,0087$ ), dok je standardna greška 0,0508. Interaktivni tačkasti dijagram pokazuje da su «cut-off» vrednosti pri vrednostima LDL-holesterola većim od 4,1 mmol/L (slika 68). Procenat prevalencije bolesti izračunat ovim parametrom je 58,7% a PPV iznose 69,8% dok NPV iznose 48,6%.



**Slika 69.** Interaktivni tačkasti dijagram za non-HDL-cholesterol

Za non-HDL-cholesterol površina ispod krive je 0,643, standardna greška je 0,049, a 95% intervala pouzdanosti je 0,553 do 0,727 ( $Z=3,44$   $P=0,0006$ ). Osetljivost testa je 37%, specifičnost 87,7% a cut-off vrednosti >5,03 mmol/L (tabela LXII). Prevalenca bolesti je 62,4%, pozitivne prediktivne vrednosti iznose 83,3% a negativne prediktivne vrednosti 45,6%. Kako ovaj interval pouzdanosti ne uključuje vrednost AUC od 0,500, non-HDL-cholesterol se može smatrati validnim mogućim prediktorom AMD-a.



**Slika 70.** Interaktivni tačkasti dijagram za trigliceride

ROC krivom za trigliceride, dobijeno je, da je dijagnostička osetljivost 79,8%, a dijagnostička specifičnost 35,5%. Površina ispod krive je 0,612; standardna greška 0,0507; dok je 95% intervala poverenja 0,520-0,699 (tabela LXII). Statistička vrednost  $Z = 1,696$  a  $P = 0,089$ . Vrednosti triglicerida većim od 1,10 mmol/L su utvrđene kao «cutt off» vrednosti (slika 70). Procenat prevalence bolesti iznosi 58,9% dok su PPV za trigliceride 63,9% a NPV 55,08%.

S obzirom da izračunati intervali pouzdanosti ne uključuju vrednost AUC od 0,500 za ukupni-, LDL-holesterol i trigliceride, te se ovi parametri mogu koristiti kao značajni mogući prediktori gijagnoze AMD-a.



**Tabela LXII.** Statistički parametri ROC analize za lipoproteinske parametre

<i>Parametri</i>	<i>AUC</i>	<i>SE</i>	<i>95% CI</i>	<i>Osetljivost</i>	<i>Specifičnost</i>	<i>Cut-off vred.</i>
<i>T. holester.</i>	0,639	0,049	0,547–0,724	61,5	64,7	>5,9 mmol/L
<i>HDL-holes.</i>	0,538	0,0524	0,446–0,629	86,1	23,3	<1,12 mmol/L
<i>HDL2-holes</i>	0,520	0,0525	0,428–0,611	56,2	53,7	<0,37 mmol/L
<i>HDL3-holes</i>	0,601	0,0514	0,508–0,698	35,9	84,1	>0,73 mmol/L
<i>LDL-holes.</i>	0,610	0,0508	0,518–0,697	45,5	72,4	>4,1 mmol/L
<i>non-HDL-h.</i>	0,643	0,049	0,553–0,727	37,0	87,7	>5,03 mmol/L
<i>Trigliceridi</i>	0,612	0,0507	0,520–0,699	79,8	35,5	>1,1 mmol/L

#### 4.8. ASOCIJACIJE SENILNE DEGENERACIJE MAKULE SA ISPITIVANIM PARAMETRIMA

Za ispitivanje asocijacija (povezanosti) između bolesti senilne degeneracije makule i ispitivanih parametara korišćena je logistička regresiona analiza. Vrednosti OR, sa 95% IP su date u tabelama LXIII, LXIV i LXV, LXVI.

**Tabela LXIII.** Statistički parametri logističke regresione analize između AMD-a i ispitivanih inflamatornih parametara

AMD& Parametri	OR	95% CI	$\chi^2$	P
CRP	1,16	1,04-1,30	2,91	<b>0,008</b>
CRP>8,2 mg/L	19,88	2,62-151,1	19,39	<b>&lt; 0,000</b>
Fibrinogen	1,69	1,07-2,65	5,34	<b>0,021</b>
Fibrinogen>3,7	3,93	1,82-8,48	12,92	<b>0,000</b>
IL-6	1.12	0.98-1.26	3.31	0.068
IL-6>3,5 pg/mL	3,21	1,38-7,45	7,69	<b>0,005</b>

Iz tabelarnih vrednosti se može videti da su markeri inflamacije CRP (OR: 1,16; 95% IP: 1,04-1,30; P=0,008) IL-6 (OR: 1,12; 95% IP: 0,98- 1,26; P=0,068) i fibrinogen (OR: 1,69; 95% IP: 1,07- 2,65; P=0,021) povezani sa pojavom AMD-a, a naročito one vrednosti koje su definisane kao jednake ili veće od cut-off vrednosti, a to su: CRP>8,2 mg/L (OR: 19,99; 95% IP: 2,62-131,1; P<0,000), IL-6>3,5 pg/mL (OR: 3,21; 95% IP: 1,38-7,45; P=0,005) i fibrinogen >3,7 g/L (OR: 3,93; 95% IP: 1,81-8,48; P=0,000).

Ispitanici koji imaju SOD<1134 U/gHb imaju skoro 2 puta veće šanse da dobiju AMD u odnosu na one ispitanike koji imaju vrednosti SOD-a većih od ovih cut-off vrednosti (OR: 1,66; 95% IP 0,86-3,25; P=0,129), dok oni ispitanici koji imaju GR<55 U/L imaju 4 puta veće šanse da dobiju AMD u odnosu na one ispitanike koji imaju GR>55 U/L (OR: 4,08; 95% IP 1,30-12,71; P=0,010) (Tabela LXIV).

Tabela LXIV. Statistički parametri logističke regresione analize između AMD-a i ispitivanih enzimskih antioksidantnih parametara

AMD& Parametri	OR	95% CI	$\chi^2$	P
SOD	1,003	0,998-1,007	0,38	0,538
SOD<1134 U/gHb	1,66	0,86-3,25	2,29	0,129
GPx	1,07	0,95-1,19	1,23	0,266
GPX<31 U/gHb	1,13	0,62-2,08	0,164	0,686
GR	0,97	0,93-1,019	1,31	0,256
GR<55 U/L	4,08	1,30-12,71	6,59	<b>0,010</b>

Tabela LXV. Statistički parametri logističke regresione analize između AMD-a i ispitivanih ne-enzimskih antioksidantnih parametara

AMD& Parametri	OR	95% IP	$\chi^2$	P
Albumin	1,25	1,11-1,41	15,45	<b>0,0001</b>
Albumin<43 g/L	3,95	2,12-7,39	20,13	<b>&lt;0,000</b>
Mok.kisel.	1,006	1,00-1,013	8,70	<b>0,003</b>
Mok.kisl.<290 $\mu$ mol/L	2,15	1,21-3,83	6,82	<b>0,009</b>
T. bilirubin	0,97	0,92-1,03	0,784	0,376
T. bilir.<13 $\mu$ mol/L	1,69	0,92-3,13	2,84	0,092
D. bilirubin	1,18	0,87-1,62	1,19	0,274
D.bilirub<1 $\mu$ mol/L	2,99	1,06-8,48	4,98	<b>0,027</b>
TAS	7,45	3,97-14,35	40,07	<b>&lt;0,000</b>
TAS<1,25 mmol/L	193,2	27,7-1349,1	38,8	<b>&lt;0,000</b>

**Tabela LXVI.** Statistički parametri logističke regresione analize između AMD-a i ne-enzimskih antioksidantnih parametara

AMD& Parametri	OR	95% IP	$\chi^2$	P
Feritin	0,996	0,992-0,999	4,81	<b>0,028</b>
Feritin<55,7 pg/mL	2,52	1,37-4,62	9,21	<b>0,002</b>
Transferin	1,052	0,481-2,30	0,016	0,899
Transfer.<2,38 g/L	1,69	0,94-3,04	3,08	0,079
Haptoglobin	1,59	0,90-2,79	2,62	0,105
Haptoglob.<1,51	1,94	1,05-3,56	4,64	<b>0,031</b>

Logistička regresiona analiza je pokazala da sniženje koncentracije neenzimskih antioksidanasa kao što su albumin, mokraćna kiselina, feritin i TAS je značajno povezano sa razvojem AMD-a. Ispitivanje je pokazalo da osobe koje imaju snižene vrednosti albumina (<43 g/L) imaju skoro 4 puta veće šanse da razviju AMD u odnosu na one osobe koje imaju veće vrednosti albumina (>43 g/L) (OR: 3,95; 95% IP 2,12-7,39; P<0,000), dok osobe koje imaju niže vrednosti mokraćne kiseline (<290  $\mu$ mol/L) imaju više od 2 puta veće šanse za AMD od onih osoba sa većim vrednostima mokraćne kiseline (Tabela LXV). Osobe sa nižim vrednostima feritina (<55,7 pg/mL), transferina (<2,38 g/L) i haptoglobina (<1,51 g/L) imaju u proseku 2 puta veće šanse da dobiju AMD u odnosu na one osobe koje imaju ove parametre iznad tih cut-off vrednosti (Tabela LXVI). Niže vrednosti TAS-a, takođe, predstavljaju izraženi faktor rizika za nastanak AMD-a, naročito one vrednosti ispod 1,25 mmol/L. Osobe koje imaju vrednosti TAS-a ispod ovih kritičnih vrednosti, imaju čak 193 puta veće šanse da dobiju AMD (OR: 193,2; 95% IP 27,7-1349,1; P<0,000).

**Tabela LXVII.** Statistički parametri logističke regresione analize između AMD-a i ispitivanih lipoproteinskih parametara

AMD& Parametri	OR	95% IP	$\chi^2$	P
<b>Ukupni hol.</b>	1,89	1,32–2,72	16,65	<b>&lt;0,0001</b>
<b>U.Hol&gt;5,9</b>	2,42	1,30–4,50	8,00	<b>0,004</b>
<b>LDL-hol.</b>	1,59	1,13–2,24	7,34	<b>0,006</b>
<b>LDL-h&gt;4,1</b>	2,33	1,23–4,39	7,06	<b>0,008</b>
<b>HDL</b>	1,34	0,58–3,09	0,467	0,495
<b>HDL&lt;1,12</b>	2,00	0,96–4,18	3,49	<b>0,062</b>
<b>non-HDL-hol.</b>	1,76	1,26–2,46	12,18	<b>0,000</b>
<b>nonHDL-h&gt;5,0</b>	3,00	1,28–7,00	7,34	<b>0,007</b>
<b>Trigliceridi</b>	1,68	1,006–2,80	4,25	<b>0,039</b>
<b>Trigl-&gt;1,1</b>	4,72	1,11–20,1	6,12	<b>0,013</b>
<b>HDL<sub>2</sub>-hol</b>	1,45	0,24–8,80	0,166	0,684
<b>HDL<sub>2</sub>-h.&lt;0,37</b>	1,49	0,77–2,87	1,42	0,240
<b>HDL<sub>3</sub>-hol.</b>	2,29	0,64–8,24	1,67	0,196
<b>HDL<sub>3</sub>&gt;0,73</b>	2,51	1,17–5,35	5,79	<b>0,016</b>

Svi lipoproteinski parametri: i to ukupni, non-HDL-, HDL- i LDL- kolesterol trigliceridi, kao i subfrakcije HDL-kolesterolu su takođe jako i značajno povezani sa ovom bolesti, a naročito vrednosti koje su iznad definisanih cut-off vrednosti. Tako npr. ispitanici koji imaju ukupni kolesterol >5,9 mmol/L imaju više od 2 puta veće šanse da razviju AMD od onih koji imaju vrednost ukupnog kolesterola ispod ove granice (OR: 2,42; 95% IP: 1,30–4,50; P=0,004), dok oni ispitanici sa vrednostima non-HDL-kolesterolu >5 mmol/L imaju čak 3 puta veće šanse da razviju AMD (OR: 3,00; 95% IP 1,28–7,00; p=0,007) (tabela LXVII). Oni ispitanici koji imaju vrednost LDL-

holesterola veće od 4,1 mmol/L imaju 2,33 puta veću šansu da dobiju AMD u odnosu na one ispitanike koji imaju LDL <4,1 mmol/L (OR: 2,33; 95% IP: 1,23–4,39; P=0,008); dok ispitanici sa vrednostima triglicerida većim od 1,1 mmol/L imaju skoro 5 puta veće šanse da dobiju AMD u odnosu na one ispitanike sa vrednostima triglicerida manjim od 1,1 mmol/L (OR: 4,72; 95% IP: 1,11–20,1; P=0,013). Šanse da razviju AMD imaju i one osobe sa povišenim vrednostima HDL<sub>3</sub>-holesterola (>0,73 mmol/L) (OR:2,51; 95% IP 1,17–5,35, P=0,016) i to 2,5 puta u odnosu na osobe sa manjim vrednostima ovog parametra (tabela LXVII).

**Tabela LXVII.** Statistički parametri logističke regresione analize između AMD-a i ispitivanih apoproteinskih parametara

AMD& Parametri	OR	95% IP	$\chi^2$	P
Apo A1	1,79	0,74–4,34	1,699	0,192
Apo A2	0,996	0,992–1,001	2,47	0,115
Apo B	1,06	0,35–3,23	0,010	0,919
Apo E	0,992	0,968–1,017	0,358	0,550
Lp(a)	2,395	0,807–7,106	2,86	0,095

Od svih ispitivanih apoproteinskih parametara, jedino je porast Lp(a) pokazalo neku značajniju asocijaciju sa nastankom AMD-a koja je bila na granici značajnosti (P=0,095), tako da ispitanici sa povećanim vrednostima Lp(a) imaju više od 2 puta šanse (OR:2,39; 95% IP: 0,807–7,106) da razviju AMD u odnosu na one ispitanike koje imaju vrednosti Lp(a) u referentnom opsegu.

#### 4.9. ANALIZA MULTIPLE REGRESIONE ANALIZE

U cilju ispitivanja mogućnosti predikcije (predviđanja) AMD-a pomoću vrednosti 3 grupe parametara (antioksidantni, inflamatorni i lipidni markeri) korišćen je sistem multiple regresione analize. Za tu svrhu korišćeno je više statističkih modela u kojem su zavisne varijable bili ispitanici sa AMD-om i zdrava-kontrolna grupa, a nezavisne varijable pomenute grupe ispitivanih parametara.

Statističkim modelom u kojem su zavisne varijable ispitanici iz KG i AMD grupe a nezavisne varijable parametri inflamacije u vrednostima većim od definisanih cut-off vrednosti, objašnjeno je blizu 91% slučajeva sa dodatnim varijabilitetom od 90,6% pripadnost određenoj grupi. F-testom je potvrđeno da je varijabilitet odabranih parametara u odnosu na zavisnu varijablu statistički značajan ( $F=297,1$ ;  $P<0,001$ ).

**Tabela LXVIII.** Podaci multiple regresione analize za parametre inflamacije

<i>Parametri</i>	<i>CRP &lt;8,2 mg/L&gt;</i>	<i>IL-6&lt;3,5 pg/mL&gt;</i>	<i>Fib. &lt;3,7 g/L &gt;</i>	<i>Svi zajedno</i>
<i>R<sup>2</sup></i>	0,798	0,868	0,753	0,909
<i>Adjusted R<sup>2</sup></i>	0,797	0,867	0,751	0,906
<i>Multipli koef.</i>	0,893	0,9317	0,8679	0,9535
<i>F (p)</i>	734,8 (<0,001)	690,7 (<0,001)	384,6 (P<0,001)	297,1 (P<0,001)
<i>t-test</i>	27,11 (P<0,0001)	26,3 (P<0,0001)	19,6 (P<0,0001)	CRP/4,11 (P=0,000) IL-6/8,13 (P<0,000) Fib/1,75 (P=0,085)
<i>β</i>	0,893	0,932	0,868	crp /0,890 IL-6/0,938 fib/0,863

Studentovim t-testom definisana je snaga svakog odabranog prediktora u odnosu na zavisnu varijablu (Tabela LXVIII-poslednja kolona). Statistički značajni prediktori AMD-a su se izdvojili CRP ( $\beta=0,890$ ,  $P=0,000$ ) i IL-6

( $\beta=0,938$ ,  $P<0,000$ ) dok je fibrinogen bio na granici značajnosti ( $\beta=0,863$ ,  $P=0,085$ ).

Regresionim modelom u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori antioksidansi: SOD, GPx, GR i TAS, a ceo regresioni model ponderisan intervalnom visinom CRP-a do i preko 8,2 mg/L, objašnjeno je blizu 23% slučajeva, sa dodatnim varijabilitetom od 18,6% pripadnost određenoj grupi. F test je potvrdio da je varijabilitet odabranih parametara u odnosu na zavisnu varijablu statistički značajan,  $F=5,328$ ;  $p=0,001$ . U ovom statističkom modelu kao najjači i jedini mogući prediktor AMD-a se izdvojio TAS ( $\beta=0,448$ ;  $p=0,000$ ) (tabela LXIX).

**Tabela LXIX.** Podaci multiple regresione analize za antioksidantne parametre ponderisano vrednostima CRP-a < i > od 8,2 mg/L

<i>Parametri</i>	<i>t-test</i>	<i>(p)</i>	<i><math>\beta</math></i>	<i>R<sup>2</sup></i>	<i>Adjusted R<sup>2</sup></i>	<i>Multipli koefic.</i>	<i>F (p)</i>
<i>SOD</i>	0,538	0,590	0,03	0,228	0,186	0,478	<b>5,328 0,001</b>
<i>GPx</i>	0,742	0,460	0,160				
<i>GR</i>	1,21	0,230	0,136				
<i>TAS</i>	<b>4,11</b>	<b>0,000</b>	<b>0,448</b>				

Regresionim modelom u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori antioksidansi: SOD, GPx, GR i TAS, a ceo regresioni model ponderisan intervalnom visinom IL-6 do i preko 3,5 pg/mL, objašnjeno je preko 25% slučajeva ( $R^2$ ), sa dodatnim varijabilitetom od 18,9% ( $A. R^2$ ) pripadnost određenoj grupi. F test je potvrdio da je varijabilitet odabranih parametara u odnosu na zavisnu varijablu statistički značajan,  $F=3,904$ ;  $p=0,008$ . U ovom statističkom modelu kao najjači i jedini mogući prediktor AMD-a se takođe izdvojio TAS ( $\beta=0,487$ ;  $p=0,000$ ) (tabela LXX).



**Tabela LXX.** Podaci multiple regresione analize za antioksidantne parametre ponderisano vrednostima IL-6 < i > od 3,5 pg/mL

<i>Parametri</i>	<i>t-test</i>	<i>(p)</i>	$\beta$	$R^2$	<i>Adjusted R<sup>2</sup></i>	<i>Multipli koefic.</i>	<i>F (p)</i>
<i>SOD</i>	0,816	0,418	0,079	0,254	0,189	0,503	<b>3,904 0,008</b>
<i>GPx</i>	0,315	0,755	0,099				
<i>GR</i>	0,518	0,607	0,054				
<i>TAS</i>	<b>3,853</b>	<b>0,0004</b>	<b>0,487</b>				

Regresionim modelom u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori antioksidansi: SOD, GPx, GR i TAS, a ceo regresioni model ponderisan intervalnom visinom fibrinogena do i preko 3,7 g/L, objašnjeno je preko 31% slučajeva ( $R^2$ ), sa dodatnim varijabilitetom od 25,7% (A.  $R^2$ ) pripadnost određenoj grupi. F test je potvrdio da je varijabilitet odabranih parametara u odnosu na zavisnu varijablu statistički značajan,  $F=5,587$ ;  $p=0,001$ . U ovom statističkom modelu kao najjači mogući prediktor AMD-a se takođe izdvojio TAS ( $\beta=0,487$ ;  $p=0,000$ ) i SOD kao slabiji prediktor ( $\beta= 0,136$ ;  $p=0,040$ ) (tabela LXXI).

**Tabela LXXI.** Podaci multiple regresione analize za antioksidantne parametre ponderisano vrednostima fibrinogena < i > od 3,7 g/L

<i>Parametri</i>	<i>t-test</i>	<i>(p)</i>	$\beta$	$R^2$	<i>Adjusted R<sup>2</sup></i>	<i>Multipli koefic.</i>	<i>F (p)</i>
<i>SOD</i>	<b>2,106</b>	<b>0,040</b>	<b>0,136</b>	0,313	0,257	0,5597	<b>5,587 0,001</b>
<i>GPx</i>	0,733	0,467	0,191				
<i>GR</i>	0,892	0,377	0,172				
<i>TAS</i>	<b>3,978</b>	<b>0,0002</b>	<b>0,454</b>				

Regresionim modelom u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori neezimski antioksidansi: albumin, mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin, feritin, transferin i haptoglobin, a ceo regresioni model ponderisan intervalnom visinom koncentracije CRP-a do i preko 8,2 mg/L, objašnjeno je preko 15% slučajeva, sa dodatnim varijabilitetom od 11,7% pripadnost određenoj grupi. F test je potvrdio da je varijabilitet odabranih parametara u odnosu na zavisnu varijablu statistički značajan,  $F=4,488$ ;  $p=0,001$ . U ovom statističkom modelu kao najjači mogući prediktori AMD-a izdvojili su se: mokraćna kiselina ( $\beta=0,297$ ;  $p=0,0048$ ) zatim feritin ( $\beta= 0,258$ ;  $p=0,0297$ ) i albumin ( $\beta= 0,203$ ;  $p=0,018$ ) (tabela LXXII).

**Tabela LXXII.** Podaci multiple regresione analize za neezimske antioksidantne parametre ponderisano vrednostima CRP-a < i > od 8,2 mg/L

<i>Parametri</i>	<i>t-test</i>	<i>(p)</i>	$\beta$	$R^2$	<i>Adjusted R<sup>2</sup></i>	<i>Multipli koefic.</i>	<i>F (p)</i>
<i>Albumin</i>	<b>2,39</b>	<b>0,018</b>	<b>0,203</b>	0,152	0,117	0,389	<b>4,488 &lt;0,001</b>
<i>Haptoglob.</i>	0,632	0,528	0,027				
<i>Feritin</i>	<b>2,193</b>	<b>0,0297</b>	<b>0,258</b>				
<i>Transferin</i>	0,500	0,618	0,072				
<i>T.bilirubin</i>	0,367	0,714	0,0015				
<i>D.bilirubin</i>	0,138	0,890	0,023				
<i>Mok.kis.</i>	<b>2,863</b>	<b>0,0048</b>	<b>0,297</b>				

Regresionim modelom u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori neezimski antioksidansi: albumin, mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin, feritin, transferin i haptoglobin, a ceo regresioni model

ponderisan intervalnom visinom koncentracije IL-6 do i preko 3,5 pg/mL, objašnjeno je blizu 20% slučajeva, sa dodatnim varijabilitetom od 13,7% pripadnost određenoj grupi. F test je potvrdio da je varijabilitet odabranih parametara u odnosu na zavisnu varijablu statistički značajan,  $F=3,272$ ;  $p=0,004$ . U ovom statističkom modelu kao najjači i jedini mogući prediktor AMD-a izdvojila se mokraćna kiselina ( $\beta=0,375$ ;  $p=0,001$ ) dok je totalni bilirubin vrlo slab prediktor, na granici značajnosti ( $\beta= 0,132$ ;  $p=0,065$ ) (tabela LXXIII).

**Tabela LXXIII.** Podaci multiple regresione analize za neezimske antioksidantne parametre ponderisano vrednostima IL-6 < i > od 4,9 pg/mL

<i>Parametri</i>	<i>t-test</i>	<i>(p)</i>	$\beta$	$R^2$	<i>Adjusted R<sup>2</sup></i>	<i>Multipli koefic.</i>	<i>F (p)</i>
<i>Albumin</i>	1,34	0,183	0,211	0,197	0,137	0,444	<b>3,272 0,004</b>
<i>Haptoglob.</i>	0,052	0,959	0,059				
<i>Feritin</i>	0,484	0,629	0,192				
<i>Transferin</i>	0,284	0,777	0,045				
<i>T.bilirubin</i>	1,881	<b>0,063</b>	<b>0,132</b>				
<i>D.bilirubin</i>	1,594	0,114	0,065				
<i>Mok.kis.</i>	<b>3,398</b>	<b>0,001</b>	<b>0,375</b>				

U regresionom modelu u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori neezimski antioksidansi: albumin, mokraćna kiselina, ukupni i direktni bilirubin, feritin, transferin i haptoglobin, a ceo regresioni model ponderisan intervalnom visinom koncentracije fibrinogena do i preko 3,7 g/L nije se izdvojio nijedan parametar kao mogući značajan prediktor AMD-a.

U regresionim modelima u kojem je zavisna varijabla grupa AMD ili KG a prediktori apolipoproteini Apo A1, Apo A2, Apo B i Apo E, ili lipoproteini (ukupni holesterol, HDL-h, LDL-h, non-HDL-h i trigliceridi) a ceo regresioni model ponderisan redom, intervalnom visinom koncentracije CRP-a do i preko 8,2 mg/L, IL-6 do i preko 3,5 pg/mL i fibrinogena do i preko 3,7 g/L nije se izdvojio nijedan parametar kao mogući značajan prediktor AMD-a.

4.10. RAZLIKE ISPITIVANIH PARAMETARA PO POLU, BMI, HTA, PUŠENJU I DM2

Tabela LXXIV. Enzimski i neenzimski antioksidantni i inflamatorni parametri po polu ispitanika

Parametri	AMD		K.G.		P
	Žene	Muškarci	Žene	Muškarci	
SOD (U/gHb)	1116±152,6	1039±167,7	1109±133,8	1054±120	0,043
GPx (U/gHb)	35,5 27,0-45,0	32,5 22,0-42,0	36,0 29,0-41,0	30,5 25,5-35,0	0,037
GR (U/L)	55,26±11,4	54,5±10,8	62,7±10,6	50,6±14,4	0,096
TAS (mmol/L)	1,1 0,94-1,26	1,2 1,04-1,36	1,29 1,22-1,38	1,34 1,26-1,42	<0,0001
Albumin (g/L)	43,5±2,52	43,1±2,75	44,6±3,2	44,9±2,22	0,003
Haptoglob. (g/L)	6,01±1,35	5,45±0,65	5,45±0,63	5,61±1,17	0,241
Feritin (pg/mL)	52 32,1-84,4	77,1 39,4-150,9	67,3 39,9-99,9	109,6 59,7-172,4	0,0002
Transferin (g/L)	2,54±0,36	2,39±0,39	2,58±0,36	2,41±0,34	0,044
T.bilirubin (µmol/L)	10,55 8,0-12,85	11,35 8,85-14,4	10,1 9,22-13,32	12,9 9,25-14,35	0,067
D.bilirubin (µmol/L)	1,7 1,3-2,4	2,1 1,7-3,05	1,7 1,37-2,12	2,3 1,7-2,85	0,0016
Mok.kis. (µmol/L)	254,4 214-303	289 256,3-330,5	267 228,7-309,3	320 265-367	<0,001
CRP (mg/L)	3,05 1,7-6,0	3,3 1,6-6,23	3,6 2,1-5,7	3,15 1,6-5,15	0,499
IL-6 (pg/mL)	2,64 1,61-4,62	3,99 2,27-6,16	2,29 1,51-3,38	2,31 1,54-3,49	0,190
Fibrinogen (g/L)	3,92±0,77	4,0±0,94	3,61±0,75	3,58±0,88	0,156

Analizom ispitivanih parametara po polu, dobijeno je da žene imaju veće vrednosti SOD-a, ( $p=0,043$ ), GPx ( $p=0,037$ ) i GR ( $p=0,096$ ), a niže v rednosti TAS-a ( $p<0,0001$ ), feritina ( $p=0,0002$ ), ukupnog i direktnog bilirubina ( $p=0,067$  i  $p=0,0016$ ) i mokraćne kiseline ( $p<0,001$ ) u obe ispitivane u odnosu na muškarce iz iste grupe. Veće vrednosti TAS-a, albumina, feritina, transferina i mokraćne kiseline, a niže vrednosti IL-6 i fibrinogena su dobijene kod žena u kontrolnoj grupi u odnosu na žene iz AMD grupe ( $p<0,05$ ).

**Tabela LXXV.** Lipo- i apoproteinski parametri po polu ispitanika

<i>Parametri</i>	<i>AMD</i>		<i>K.G.</i>		<i>P</i>
	<i>Žene</i>	<i>Muškarci</i>	<i>Žene</i>	<i>Muškarci</i>	
<b>T.holesterol</b> (mmol/L)	6,43±1,08	5,43±1,09	5,81±0,75	5,42±0,86	<b>&lt;0,0001</b>
<b>HDL-holes.</b> (mmol/L)	1,55±0,32	1,24±0,26	1,58±0,34	1,29±0,29	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL<sub>2</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,44±0,17	0,35±0,13	0,5±0,23	0,36±0,13	<b>0,002</b>
<b>HDL<sub>3</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,95±0,30	0,73±0,19	0,99±0,25	0,88±0,22	<b>0,002</b>
<b>LDL-hol.</b> (mmol/L)	4,10±1,06	3,58±0,84	3,72±0,83	3,45±0,88	<b>0,002</b>
<b>non-HDL-h</b> (mmol/L)	4,87±1,11	4,19±0,98	4,12±0,81	4,12±0,83	<b>&lt;0,001</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,61±0,61	1,59±0,86	1,53±0,54	1,31±0,51	0,096
<b>Apo A<sub>1</sub></b> (g/L)	1,74±0,34	1,54±0,33	1,71±0,29	1,53±0,33	<b>0,001</b>
<b>Apo A<sub>2</sub></b> (mg/L)	354,3±64,5	327,4±58,8	363,6±65,3	358,5±66,3	0,133
<b>Apo B</b> (g/L)	1,21±0,28	1,11±0,25	1,23±0,26	1,13±0,25	0,129
<b>Apo E</b> (mg/L)	46,96±9,6	39,0±9,94	50,8±12,5	41,4±14,5	<b>&lt;0,001</b>
<b>Lp(a)</b> (mg/L)	0,098 0,097-0,316	0,121 0,098-0,247	0,098 0,098-0,155	0,098 0,098-0,170	0,703

U obe ispitivane grupe, žene imaju veće vrednosti ukupnog holesterola, ukupnog HDL-holesterola, HDL<sub>2</sub>- i HDL<sub>3</sub>-holesterola u odnosu na muškarce iz pripadajuće grupe. Naročito su veće vrednosti non-HDL-holesterola imale žene iz AMD grupe kako u odnosu na muškarce iz iste grupe, tako i u odnosu na žene iz kontrolne grupe ( $p < 0,001$ ). Žene iz obe grupe, generalno, imaju i veće vrednosti triglicerida, Apo A<sub>1</sub>, ApoA<sub>2</sub>, Apo B i Apo E u odnosu na muškarce iz iste grupe. Žene iz AMD grupe imale su veće vrednosti ukupnog holesterola, LDL- i non-HDL-holesterola i triglicerida, a niže vrednosti HDL<sub>2</sub>-holesterola, Apo A<sub>2</sub> i Apo E u odnosu na žene iz KG ( $p < 0,05$ ).

Podelom ispitanika iz obe grupe na osnovu rastućih vrednosti indeksa telesne mase (BMI) na podgrupe u kojima su prosečne vrednosti BMI bile manje od 25 kg/m<sup>2</sup>, od 25–30 kg/m<sup>2</sup> i veće od 30 kg/m<sup>2</sup>, primećeno je da se javljaju razlike među podgrupama u vrednosti TAS-a, albumina, feritina, mokraćne kiseline, IL-6, ukupnog i non-HDL-holesterola i triglicerida.

U odnosu na porast BMI, ispitanici iz KG imaju veće vrednosti TAS-a ( $p < 0,0001$ ), albumina ( $p = 0,002$ ), feritina ( $p = 0,001$ ) i mokraćne kiseline ( $p < 0,001$ ) u odnosu na pripadajuće BMI podgrupe u grupi pacijenata sa senilnom degeneracijom. U AMD grupi, sa rastućim vrednostima BMI, postoji tendencija rasta vrednosti albumina, haptoglobina, feritina, CRP-a i fibrinogena (Tabela LXXVI), kao i u KG, s tim da je veći porast vrednosti ovih parametara dobijen u KG nego u AMD grupi.

Veće vrednosti lipidnih parametara po rastućim vrednostima BMI su dobijene u AMD grupi u odnosu na odgovarajuću podgrupu kontrolne grupe. Sa rastućim vrednostima BMI, rastu i vrednosti non-HDL-holesterola i triglicerida u obema grupama a opadaju vrednosti ukupnog HDL-holesterola i subfrakcije HDL<sub>3</sub>-holesterola (tabela LXVII).

Tabela LXXVI. Enzimski i neenzimski antioksidansi po BMI ispitanika

Parametri	AMD			K.G.			P
	BMI<25	25-30	>30	BMI<25	25-30	>30	
<b>SOD</b> (U/gHb)	1082±153	1068±158	1195±166	1041±128	1088±111	1114±122	0,137
<b>GPx</b> (U/gHb)	35 27-43	34 27-43	37 34-52	35 29-41	30 26-37	34 29-41	0,167
<b>GR</b> (U/L)	53±14	56±8,8	63±18	55±11,3	58,7±15	59,5±6,1	0,646
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,04±0,17	1,12±0,2	1,04±0,24	1,28±0,14	1,35±0,11	1,39±0,19	<b>&lt; 0,0001</b>
<b>Albumin</b> (g/L)	42,7±2,5	43,6±2,6	43,0±1,3	44±3,3	45,2±2,6	45,3±2,5	<b>0,002</b>
<b>Haptogl.</b> (g/L)	1,32±0,44	1,4±0,5	1,48±0,48	1,23±0,66	1,27±0,47	1,44±0,47	0,586
<b>Feritin</b> (pg/mL)	36 25,6-66,5	55,4 35,6-97,4	55,6 23-160	59,8 41-132,8	86,2 60-143	191 102-211	<b>0,001</b>
<b>Transfer.</b> (g/L)	2,45±0,34	2,57±0,35	2,58±0,45	2,48±0,37	2,48±0,33	2,46±0,33	0,779
<b>T.bilirub.</b> (µmol/L)	10,8 9,2-13,9	11,2 8,2-14,0	9,3 7,2-10,1	12,3 8,3-14,8	11,9 10-14,3	12,1 9,6-14,8	0,397
<b>D.bilirub.</b> (µmol/L)	1,9 1,6-2,7	1,8 1,4-2,5	1,7 1,3-2,07	2,1 1,4-2,7	2,0 1,6-2,97	2,1 1,45-2,9	0,647
<b>Mok.kis.</b> (µmol/L)	252±71	283±60	256±99	269±57	322±66	339±102	<b>&lt; 0,001</b>
<b>CRP</b> (mg/L)	1,8 1,09-6,45	2,8 1,9-4,65	5,3 3,3-8,8	2,2 1,5-4,32	3,55 1,8-5,8	6,5 4,8-7,7	0,101
<b>IL-6</b> (pg/mL)	2,3 1,3-3,5	3,9 2,1-4,98	3,7 2,2-11,3	1,4 0,66-2,87	2,39 1,84-3,33	3,09 2,0-4,9	<b>0,075</b>
<b>Fibrinog.</b> (g/L)	3,6±0,58	3,9±0,86	4,1±1,05	3,51±0,9	3,56±0,7	3,8±0,8	0,507



Tabela LXXVII. Lipo- i apoproteinski parametri po BMI ispitanika

<i>Parametri</i>	<i>AMD</i>			<i>K.G.</i>			<i>P</i>
	<i>BMI&lt;25</i>	<i>25-30</i>	<i>&gt;30</i>	<i>BMI&lt;25</i>	<i>25-30</i>	<i>&gt;30</i>	
<b>T.holesterol</b> (mmol/L)	6,23±1,2	6,22±1,16	6,22±1,44	5,52±1,06	5,54±0,79	5,46±0,79	<b>0,021</b>
<b>HDL-holes.</b> (mmol/L)	1,48±0,32	1,47±0,32	1,33±0,26	1,53±0,38	1,39±0,34	1,26±0,25	0,172
<b>HDL<sub>2</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,37±0,16	0,45±0,18	0,42±0,18	0,47±0,21	0,44±0,19	0,31±0,10	0,264
<b>HDL<sub>3</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,85±0,30	0,85±0,28	0,78±0,12	0,97±0,29	0,89±0,23	0,84±0,18	0,428
<b>LDL-hol.</b> (mmol/L)	3,97±1,32	3,99±0,95	3,81±1,29	3,43±0,93	3,59±0,92	3,24±0,73	0,129
<b>non-HDL-h</b> (mmol/L)	4,68±1,31	4,76±1,07	4,77±1,34	3,96±0,96	4,11±0,77	4,21±0,78	<b>0,023</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,37±0,48	1,61±0,73	2,10±0,78	1,26±0,44	1,49±0,63	1,72±0,55	<b>0,006</b>
<b>Apo A<sub>1</sub></b> (g/L)	1,66±0,24	1,77±0,38	1,52±0,18	1,62±0,31	1,63±0,39	1,53±0,32	<b>0,083</b>
<b>Apo A<sub>2</sub></b> (mg/L)	346±75,3	352±62,0	317±49,7	356±69,4	369±69,9	345±46,7	0,420
<b>Apo B</b> (g/L)	1,19±0,31	1,19±0,28	1,17±0,25	1,14±0,29	1,19±0,25	1,27±0,30	0,867
<b>Apo E</b> (mg/L)	40,6±9,91	45,8±10,4	47,9±7,5	45,7±14,1	47,0±11,7	49,9±18,3	0,303
<b>Lp(a)</b> (mg/L)	0,098 0,09 – 0,26	0,098 0,09 – 0,20	0,23 0,08 – 0,40	0,098 0,09 – 0,18	0,098 0,09 – 0,22	0,098 0,09 – 0,10	0,742

**Tabela LXXVIII.** Enzimski i neenzimski antioksidansi po prisustvu DM tip 2 u obe grupe ispitanika

Parametri	AMD		K.G.		P
	bez DM2	sa DM2	bez DM2	sa DM2	
<b>SOD</b> (U/gHb)	1091±161,8	1121±160,6	1076±125,1	1122±131,7	0,518
<b>GPx</b> (U/gHb)	34 27-45	35,5 26-41	33 28,75-40,0	29 23,5-31,75	0,144
<b>GR</b> (U/L)	53 48,3-63,0	53 43,3-59,75	59,5 53,0-64,5	59 55-63,5	0,602
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,11±0,21	1,15±0,14	1,31±0,18	1,3±0,12	<b>&lt; 0,0001</b>
<b>Albumin</b> (g/L)	43,4±2,65	43,2±2,08	44,9±2,23	44,2±4,61	<b>0,002</b>
<b>Haptoglob.</b> (g/L)	1,38±0,48	1,52±0,58	1,26±0,52	1,50±0,56	0,111
<b>Feritin</b> (pg/mL)	56,04 35,5-84,8	53,4 32,1-165,7	82,1 51,0-140,6	123,2 45,3-199,9	<b>0,060</b>
<b>Transferin</b> (g/L)	2,47±0,36	2,66±0,37	2,49±0,35	2,43±0,33	0,135
<b>T.bilirubin</b> (µmol/L)	10,85 8,1-13,3	11,2 8,45-13,47	11,25 9,0-14,3	12,55 10,8-15,0	0,588
<b>D.bilirubin</b> (µmol/L)	1,75 1,4-2,4	2,15 1,25-2,55	2,0 1,5-2,6	2,0 1,6-3,0	0,773
<b>Mok.kis.</b> (µmol/L)	272,8±61,5	270,1±84,7	305,3±77,2	287,7±63,4	<b>0,031</b>
<b>CRP</b> (mg/L)	3,0 1,7-6,10	2,6 1,5-3,99	3,0 1,65-4,84	5,3 3,67-7,87	0,561
<b>IL-6</b> (pg/mL)	3,47 1,38-4,72	2,7 2,18-5,29	2,26 1,39-3,35	3,09 1,87-3,99	0,212
<b>Fibrinogen</b> (g/L)	3,88±0,85	3,89±0,70	3,55±0,83	3,83±0,75	0,194

Podelom ispitanika iz svake grupe na podgrupe u zavisnosti od prisustva diabetes mellitusa tipa 2, dobijeno je da AMD pacijenti sa diabetesom imaju značajno veće vrednosti SOD-a, GPx-a, TAS-a, haptoglobina, direktnog bilirubina i fibrinogena u odnosu na AMD pacijente bez diabetesa, ali bez statističke značajnosti, dok u odnosu na dijabetičare iz kontrolne grupe, AMD pacijenti sa dijabetesom imali su znatno niže vrednosti TAS-a ( $p < 0,001$ ),

albumina ( $p=0,002$ ), feritina ( $p=0,06$ ) i mokraćne kiseline ( $p=0,031$ ) (tabela LXXVIII).

**Tabela LXXIX.** Lipo- i apoproteinski parametri po prisustvu DM tip 2 kod ispitanika

<i>Parametri</i>	<i>AMD</i>		<i>K.G.</i>		<i>P</i>
	<i>bez DM2</i>	<i>sa DM2</i>	<i>bez DM2</i>	<i>sa DM2</i>	
<b>T.holesterol</b> (mmol/L)	6,18±1,13	5,98±1,33	5,54±0,79	5,64±1,06	<b>0,016</b>
<b>HDL-holes.</b> (mmol/L)	1,51±0,33	1,3±0,32	1,46±0,34	1,23±0,33	<b>0,005</b>
<b>HDL<sub>2</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,42±0,17	0,36±0,18	0,43±0,19	0,34±0,10	0,391
<b>HDL<sub>3</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,81 0,63–1,08	0,78 0,69–0,97	0,95 0,81–1,10	0,74 0,63–0,99	0,165
<b>LDL-hol.</b> (mmol/L)	3,95±0,98	3,88±1,25	3,58±0,87	3,47±0,89	<b>0,099</b>
<b>non-HDL-h</b> (mmol/L)	4,65±1,09	4,67±1,25	4,09±0,81	4,26±0,94	<b>0,016</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,33 1,11–1,71	1,89 1,42–2,35	1,26 0,95–1,77	1,71 1,44–1,96	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Apo A<sub>1</sub></b> (g/L)	1,69±0,34	1,65±0,34	1,63±0,32	1,54±0,35	0,420
<b>Apo A<sub>2</sub></b> (mg/L)	350,9±65,2	329,8±57,8	362,6±66,3	354,4±65,2	0,227
<b>Apo B</b> (g/L)	1,18±0,27	1,19±0,31	1,17±0,26	1,23±0,27	0,910
<b>Apo E</b> (mg/L)	44,4±9,16	44,9±13,5	45,1±14,1	49,1±15,6	0,496
<b>Lp(a)</b> (mg/L)	0,14 0,098–0,34	0,098 0,04–0,098	0,098 0,098–0,197	0,098 0,098–0,098	<b>0,002</b>

Ispitanici sa AMD-om i diabetesom tip 2 imali su veće vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0,016$ ), HDL-holesterola ( $p=0,005$ ), LDL- i non-HDL-holesterola ( $p=0,016$ ) i triglicerida ( $p<0,001$ ) u odnosu na dijabetičare iz kontrolne grupe, dok su vrednosti Apo A<sub>2</sub> i Apo E bile niže, ali bez statističke značajnosti ( $p>0,05$ ) (tabela LXXIX).

**Tabela LXXX.** Enzimski i neenzimski antioksidansi po prisustvu HTA kod ispitanika

<i>Parametri</i>	<i>AMD</i>		<i>KG.</i>		<i>P</i>
	<i>bez HTA</i>	<i>sa HTA</i>	<i>bez HTA</i>	<i>sa HTA</i>	
<b>SOD</b> (U/gHb)	1109±118,8	1101±181,8	1083±113,7	1073±156,6	0,588
<b>GPx</b> (U/gHb)	34,5 27-45	38 27-45,5	33 28-38,8	34 27-40,5	0,213
<b>GR</b> (U/L)	50 43-56,5	55,5 50,5-63,5	58 49,3-63,3	60 57,3-69,8	<b>0,037</b>
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,14±0,17	1,10±0,21	1,30±0,18	1,32±0,16	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Albumin</b> (g/L)	43,35±2,58	43,36±2,44	44,68±2,34	45,0±3,39	<b>0,003</b>
<b>Haptoglob.</b> (g/L)	1,29±0,57	1,47±0,47	1,27±0,51	1,39±0,58	0,193
<b>Feritin</b> (pg/mL)	64,2 37,7-90,7	52,5 33,7-105,6	78,3 49,1-144,5	82,1 49,4-169,5	0,189
<b>Transferin</b> (g/L)	2,42±0,32	2,54±0,38	2,50±0,37	2,47±0,34	0,565
<b>T.bilirubin</b> (µmol/L)	10,7 8,95-13,6	11,2 8,1-13,7	10,8 8,6-13,85	12,1 9,83-15,1	0,633
<b>D.bilirubin</b> (µmol/L)	1,7 1,25-2,4	2,0 1,47-2,53	1,95 1,4-2,55	2,1 1,60-2,70	0,513
<b>Mok.kis.</b> (µmol/L)	262,1±56,9	272,4±72,4	299±78,9	306,7±67,9	<b>0,019</b>
<b>CRP</b> (mg/L)	2,1 1,5-6,1	3,2 1,6-5,25	3,3 1,73-5,2	3,1 1,8-6,2	0,937
<b>IL-6</b> (pg/mL)	2,46 1,34-5,01	3,4 2,15-4,86	2,31 1,46-3,42	2,26 1,73-3,56	0,250
<b>Fibrinogen</b> (g/L)	4,22±1,05	3,82±0,72	3,58±0,79	3,63±0,89	<b>0,084</b>

Podelom ispitanika na podgrupe u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije, dobijeno je da AMD ispitanici sa hipertenzijom imaju veće vrednosti GR-a, haptoglobina, totalnog i direktnog bilirubina, CRP-a i IL-6 u odnosu na AMD ispitanike bez HTA, a veće vrednosti GPx-a, haptoglobina, CRP-a, IL-6 i fibrinogena u odnosu na zdrave ispitanike sa prisustvom HTA.

Vrednosti TAS-a, albumina, feritina, ukupnog bilirubina i mokraćne kiseline su bile znatno niže u odnosu na zdrave ispitanike bez HTA ( $p < 0,05$ ) (tabela LXXX).

**Tabela LXXXI.** Lipo- i apoproteinski parametri po prisustvu HTA kod ispitanika

<i>Parametri</i>	<i>AMD</i>		<i>K.G.</i>		<i>P</i>
	<i>bez HTA</i>	<i>sa HTA</i>	<i>bez HTA</i>	<i>sa HTA</i>	
<b>T.holesterol</b> (mmol/L)	6,36±1,15	6,10±1,16	5,51±0,87	5,68±0,77	<b>0,004</b>
<b>HDL-holes.</b> (mmol/L)	1,45±0,30	1,45±0,34	1,42±0,34	1,43±0,35	0,973
<b>HDL<sub>2</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,39 0,29–0,52	0,38 0,28–0,52	0,36 0,29–0,49	0,4 0,3–0,53	0,728
<b>HDL<sub>3</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,86 0,7–1,04	0,81 0,63–1,04	0,95 0,75–1,10	0,89 0,81–1,04	0,663
<b>LDL-hol.</b> (mmol/L)	4,16±1,12	3,87±1,03	3,48±0,87	3,73±0,84	<b>0,028</b>
<b>non-HDL-h</b> (mmol/L)	4,86±1,31	4,65±1,04	4,07±0,84	4,24±0,78	<b>0,003</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,49 1,12–1,94	1,44 1,19–1,87	1,26 0,94–1,78	1,4 1,15–1,88	0,148
<b>Apo A<sub>1</sub></b> (g/L)	1,70±0,29	1,68±0,36	1,60±0,31	1,65±0,35	0,448
<b>Apo A<sub>2</sub></b> (mg/L)	325,3 296,5–365,4	334,5 299–381,9	364,7 329,4–415	356,7 314,5–402,4	0,231
<b>Apo B</b> (g/L)	1,19±0,32	1,17±0,26	1,16±0,26	1,23±0,25	0,694
<b>Apo E</b> (mg/L)	43,3 39–48,4	45,0 37,5–50,2	38,4 36,0–54,1	48,9 38,9–53,9	0,609
<b>Lp(a)</b> (mg/L)	0,098 0,098–0,201	0,098 0,097–0,334	0,098 0,098–0,152	0,098 0,098–0,211	0,943

Vrednosti ukupnog holesterola kod AMD ispitanika sa HTA, bile su znatno veće u odnosu na ispitanike iz KG sa HTA, ali znatno niže u odnosu na AMD ispitanike bez HTA. Vrednosti non-HDL-holesterola su takođe bile veće

( $p=0,003$ ), u istoj grupi pacijenata, a Apo A2 niže u odnosu na “zdrave” ispitanike sa HTA (tabela LXXXI).

**Tabela LXXXII.** Enzimski i neenzimski antioksidansi kod pušača i nepušača

Parametri	AMD			K.G.			P
	nepušači	pušači	bivši p.	nepušači	pušači	bivši p.	
<b>SOD</b> (U/gHb)	1093±174	1104±182	1101±117	1069±116	1105±160	1083±133	0,938
<b>GPx</b> (U/gHb)	35,0 30,0–45,0	40,0 29,3–53,5	37,0 26,0–45,0	33,0 27,8–40,0	35,0 27,5–40,0	32,0 29,0–35,7	0,230
<b>GR</b> (U/L)	51,0 46,0–63,0	53,0 49,0–62,3	52,0 45,0–60,8	65,0 60,3–68,0	55,0 51,0–61,0	56,0 47,0–59,3	<b>0,085</b>
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,10±0,18	1,04±0,24	1,19±0,21	1,32±0,17	1,28±0,22	1,30±0,13	<b>&lt;0,001</b>
<b>Albumin</b> (g/L)	43,5±2,2	43,1±2,3	42,9±3,2	44,3±3,0	46,3±2,3	45,3±1,9	<b>&lt;0,001</b>
<b>Haptogl.</b> (g/L)	1,39±0,48	1,49±0,52	1,38±0,55	1,30±0,53	1,38±0,45	1,29±0,61	0,791
<b>Feritin</b> (pg/mL)	44,7 32,1–82,8	85,4 47,1–159,9	63,8 36,5–79,8	80,8 40,3–139	102,3 55,4–179	78,3 53,7–164	<b>0,03</b>
<b>Transferin</b> (g/L)	2,55±0,37	2,39±0,32	2,52±0,39	2,46±0,37	2,54±0,39	2,55±0,30	0,522
<b>T.bilirubin</b> (µmol/L)	11,2 8,1–13,9	10,3 8,3–11,7	10,8 8,4–12,7	11,6 9,5–14,2	9,8 8,6–14,6	10,5 9,3–14,3	0,597
<b>D.bilirubin</b> (µmol/L)	1,8 1,3–2,7	1,7 1,3–2,1	1,8 1,2–2,5	2,0 1,5–2,5	1,75 1,55–2,85	1,90 1,50–2,65	0,726
<b>Mok.kis.</b> (µmol/L)	266±66	262±58	299±76	298±69	314±90	303±79	<b>0,033</b>
<b>CRP</b> (mg/L)	2,6 1,55–6,35	3,0 1,65–5,80	3,45 2,0–5,6	2,50 1,60–4,62	3,48 1,95–5,19	4,25 3,0–7,1	0,127
<b>IL-6</b> (pg/mL)	2,9 1,38–4,61	3,1 2,1–4,7	4,2 2,3–5,1	2,16 1,1–3,2	2,3 2,1–3,2	2,54 1,86–4,0	0,675
<b>Fibrinog.</b> (g/L)	3,85 3,25–4,1	4,1 3,95–4,85	3,8 2,95–4,4	3,4 2,9–3,9	3,45 3,15–3,7	3,85 3,1–4,2	0,247

Pušači iz AMD grupe imali su znatno niže vrednosti GR-a, feritina i mokraćne kiseline, a veće vrednosti ukupnog, LDL- i non-HDL-holesterola i triglicerida u odnosu na pušače iz KG (tabele LXXXII i LXXXIII). Znatno veće

vrednosti GPx-a, GR-a, feritina, ukupnog, LDL- i non-HDL-holesterola imali su pušači iz AMD grupe u odnosu na nepušače iz iste grupe. Interesantno je istaći, da su prosečne vrednosti pomenutih parametara u grupi bivših pušača AMD grupe, bile veće od prosečnih vrednosti nepušača a manje od prosečnih vrednosti pušača iz iste grupe, dok takav odnos u KG nije primećen.

**Tabela LXXXIII.** Lipo- i apoproteinski parametri kod pušača i nepušača

<i>Parametri</i>	<i>AMD</i>			<i>K.G.</i>			<i>P</i>
	<i>nepušači</i>	<i>pušači</i>	<i>bivši p.</i>	<i>nepušači</i>	<i>pušači</i>	<i>bivši p.</i>	
<b>T.holester.</b> (mmol/L)	6,2±0,97	6,65±1,36	5,84±1,29	5,61±0,75	5,44±1,13	5,59±0,84	<b>0,001</b>
<b>HDL-hol.</b> (mmol/L)	1,52±0,33	1,44±0,32	1,35±0,31	1,47±0,36	1,34±0,35	1,41±0,31	0,254
<b>HDL<sub>2</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,43±0,18	0,42±0,13	0,39±0,16	0,44±0,21	0,36±0,22	0,43±0,13	0,762
<b>HDL<sub>3</sub>-hol.</b> (mmol/L)	0,91±0,30	0,88±0,35	0,86±0,28	0,96±0,25	0,88±0,24	0,92±0,23	0,764
<b>LDL-hol.</b> (mmol/L)	3,89±0,97	4,26±1,16	3,86±1,20	3,67±0,76	3,46±1,06	3,39±0,95	<b>0,075</b>
<b>non-HDL-h</b> (mmol/L)	4,69±0,89	5,13±1,32	4,45±1,38	4,11±0,76	4,17±1,09	4,12±0,77	<b>0,012</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,53±0,56	1,89±0,91	1,45±0,58	1,40±0,54	1,37±0,31	1,46±0,63	<b>0,057</b>
<b>Apo A<sub>1</sub></b> (g/L)	1,76±0,35	1,59±0,28	1,69±0,34	1,65±0,32	1,6±0,33	1,56±0,34	0,198
<b>Apo A<sub>2</sub></b> (mg/L)	355±65	340,5±56	333,9±73	359,5±70	361±68	371±50	0,536
<b>Apo B</b> (g/L)	1,16±0,25	1,28±0,27	1,13±0,34	1,21±0,25	1,19±0,26	1,08±0,24	0,237
<b>Apo E</b> (mg/L)	45,8±10,5	46,9±8,17	39,7±10,0	45,1±13,7	50,3±17,7	43,4±10,9	0,220
<b>Lp(a)</b> (mg/L)	0,098 0,098-0,23	0,155 0,098-0,45	0,098 0,097-0,20	0,098 0,098-0,150	0,098 0,098-0,10	0,111 0,098-0,21	0,552

## 5. DISKUSIJA

Ovo istraživanje je rađeno sa ciljem da se ispituju međusobni odnosi parametara oksidativnog stresa i antioksidantne zaštite, inflamacije i lipidnog statusa kod pacijenata sa senilnom degeneracijom makule (AMD), kako bi se bolje shvatio njihov međusobni odnos, kao i njihov uticaj na nastanak i razvoj degeneracije makule u starijoj populaciji. Senilna degeneracija makule je degenerativna bolest koja progredira kroz 3 stadijuma. Prvi, početni stadijum ili rana AMD, karakteriše se formiranjem žućkastih nakupina ispod retinalnog pigmentnog epitela koje su nazvane družama. Druze mogu biti prisutne u manjem broju i biti manjeg promera (<65 µm), ili većeg promera (65–125 µm). Prvi stadijum AMD može postojati i bez vidljivih druza, već samo postojanjem pigmentnih abnormalnosti. Sve ove promene na retini, u prvom stadijumu nisu praćene poremećajem vida (nema gubitka vida). Srednji stadijum ili intermedijerna AMD se karakteriše postojanjem većeg broja u promeru većih druza (>125 µm) nazvane "konfluentnim družama", pa čak i postojanjem ne-centralizovane geografske atrofije retinalnog pigmentnog epitela. Ni ovaj stadijum nije praćen gubitkom vida. Do znatnog gubitka vida dolazi u trećem stadijumu bolesti, nazvan još i kasnom -uznapredovanom formom AMD-a koja se manifestuje kroz dva oblika: "suva" forma ili geografska atrofija-centralno položena i "vlažna" forma poznata i kao horoidalna neovaskularizacija.

Metodama tačne hromatografije kao i imunohistohemijskim analizama utvrđeno je da u sastav druza ulaze razni proteini koji su povezani sa inflamacijom kao što su fibrinogen, vitronektin, komponente komplementa (C3, C5-C9), MMP-7, TIMP-3 i CRP. Po nekim autorima, smatra se da je sinteza nekih od ovih proteina lokalna i da potiču od RPE ćelija. Rane lezije RPE ćelija se sastoje od nagomilanih sastojaka bazalne membrane: raznih tipova kolagena (tip IV i VI), laminina, heparan sulfata, proteoglikana itd, koji se ili slabije ragrađuju ili ubrzano sintetišu. Prvi korak u formiranju druza jeste akumulacija i depozicija lipida i lipoproteina unutar Bruch-ove membrane. Akumulacija



ovih lipida je najverovatnije rezultat akumulacije lipofuscina unutar RPE ćelija, koji počinje da se nagomilava odmah nakon rođenja, a taloženje se ubrzava sa starenjem zauzimajući prostor od apikalne do bazalne strane ćelije već pri starosti od 40–50 godina života. Granule lipofuscina sadrže nerazgradive proizvode fagocitoze fotoreceptora spoljnih segmenata, velike količine vodonik peroksida, i ostatke polurazgrađenih oksidativno modifikovanih makromolekula lipida i proteina, i ovaj sadržaj raste sa godinama. Nedavni radovi ukazuju na to da u sastav druzi ulaze esterifikovani i ne-esterifikovani holesterol, neutralni lipidi sa dugim lancima masnih kiselina koji mogu da zauzmu i do 37–44% celopupne zapremine druzi.

Uzimajući u obzir sve gore navedeno, jasno je zašto su baš, parametri inflamacije, lipidnog statusa, oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite predmet ove doktorske disertacije.

## 5.1. ANALIZA ANTIOKSIDANTNIH PARAMETARA

Ovo ispitivanje je obuhvatilo 110 pacijenata sa senilnom degeneracijom makule i 87 ispitanika koji nisu imali AMD niti bilo koju očnu bolest, i koji su činili kontrolnu grupu. S obzirom da je starost praćena i drugim patološkim procesima i stanjima kao što je diabetes mellitus tip 2 (DM2) i hipertenzija (HTA), i s obzirom da je i među ispitanicima sa AMD-om bilo prisustva DM2 i HTA, odabir kontrolne grupe je bio takav da je obuhvatio proporcionalno isti broj ispitanika sa DM2 i HTA kao i AMD grupa i imali su istu starosnu strukturu. Na osnovu kolorne fotografije fundusa, fluoresceinske angiografije i oštine vida, ispitanici sa AMD-om su podeljeni u 3 grupe: grupu od 19 ispitanika koji su imali početnu formu bolesti i 91 ispitanik sa kasnom formom bolesti, od kojih 28 njih je imalo "suvu" formu bolesti (geografska atrofija) i 63 je imalo "vlažnu" formu AMD-a (horoidalna vaskularizacija).

Statističkom obradom podataka utvrđeno je da je sistem antioksidativne zaštite značajno smanjen u pacijenata sa AMD-om u odnosu na KG, s tim da nisu svi parametri antioksidativne zaštite podjednako bili smanjeni. Takođe, ponašanje parametara antioksidativne zaštite se razlikovalo od jedne do druge forme bolesti.

Aktivnost SOD-a se nije značajno razlikovala između AMD i KG ali je opšte govoreći, postojalo vidno snižavanje aktivnosti kod svih ispitanika u odnosu na referentne vrednosti koje se odnose na radno aktivnu populaciju, što govori u prilog teoriji da se antioksidantni kapacitet smanjuje sa starenjem. Istraživanje je pokazalo da postoje razlike u aktivnosti SOD-a između pojedinih formi AMD-a, tako da je malo povećanje aktivnosti zabeleženo u podgrupi sa ranom i kasnom-suvom formom AMD-a u odnosu na KG, ali je statistička potvrda dobijena samo za "suvu" formu AMD-a ( $p < 0,05$ ). Vrednosti GPx se takođe nisu značajno razlikovale između AMD grupe i KG, ali su značajno veće aktivnosti dobijene u podgrupi rane forme AMD u odnosu na KG ( $p = 0,049$ ). Vrednosti GR su bile značajno niže u grupi svih pacijenata sa AMD-om u odnosu na KG mada je statistička značajnost bila na granici ( $p = 0,07$ ). Nije nađena značajna razlika u vrednostima GR između pojedinačnih patoloških grupa, ali su značajno niže vrednosti dobijene u podgrupi rane forme AMD u odnosu na KG ( $p = 0,04$ ). Prosečne vrednosti neenzimske komponente antioksidantnog sistema zaštite TAS-a su bile značajno niže u celokupnoj grupi AMD-a ( $p < 0,0001$ ), ali i u svim pojedinačnim podgrupama u odnosu na KG ( $p < 0,001$ ). Ova neenzimska komponenta serumskog antioksidantnog sistema odbrane obuhvata niz vodenolubnih (albumin, bilirubin, mokraćna kiselina, glutation i askorbinska kiselina) i lipo-solubnih (lutein, zeaksantin,  $\alpha$ -tokoferol, likopen, ubikvinol) jedinjenja u serumu, koja reaguju na isti način sa peroksidazom i  $H_2O_2$  u prisustvu ABTS, vršeći pri tom supresiju formiranja ABTS katjona i smanjenje intenziteta boje. S obzirom da je GR- značajan intracelularni enzim koji regeneriše oksidovani glutation, koji je značajan za normalno ćelijsko funkcionisanje i održavanje ćelijske redoks homeostaze, deficit ovog enzima (niže vrednosti nađene u AMD pacijenata) uslovljava i

usporeno obnavljanje redukovanog glutaciona, tj. smanjenje "pool-a" redukovanog glutaciona u organizmu. Usled smanjenja koncentracija redukovanog glutaciona u ćelijama i serumu dolazi do pomeranja redoks homeostaze ka pro-oksidativnim uslovima. S obzirom da je redukovani glutacion jedan od sastojaka TAS-a, jasno je sada, zašto je pad aktivnosti GR-a praćen i smanjenjem koncentracije TAS-a.

Značajne promene koncentracija kod AMD pacijenata su dobijene, takođe, i u grupi neenzimskih antioksidanasa. Značajno niže vrednosti albumina su dobijene u celokupnoj grupi AMD pacijenata u odnosu na KG, ali takođe i u svim podgrupama AMD-a u odnosu na KG ( $P < 0,001$ ). Vrednosti mokraćne kiseline su takođe bile znatno niže kako u celokupnoj grupi AMD ( $P = 0,006$ ), tako i između pojedinačnih podgrupa u odnosu na KG ( $P < 0,05$ ). Pacijenti sa AMD-om su imali i značajno niže vrednosti feritina (bez prisustva značajnije razlike u koncentraciji gvožđa) u odnosu na KG ( $P = 0,008$ ). Značajna razlika je postojala između podgrupe sa vlažnom formom ( $P = 0,015$ ) i podgrupe sa suvom formom AMD-a ( $P = 0,042$ ) u odnosu na KG. Ostali parametri neenzimskog antioksidantnog statusa se nisu značajno razlikovali između AMD i KG.

Smatra se da oksidativni procesi imaju kauzativnu ulogu u mnogim patološkim stanjima i bolestima kao što su: različite vrste kancera, srčana bolest, neurodegenerativne bolesti i očne bolesti kao što su katarakta i senilna degeneracija makule. Još je Noell (173) prvi sugerisao da spoljni segmenti fotoreceptora retine koji sadrže visoke koncentracije polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u svojoj membrani, izloženi su relativno visokom pritisku kiseonika. Zbog velikog broja nezasićenih dvostrukih veza, ove masne kiseline imaju sklonost da podležu oksidaciji u prisustvu kiseonika ili kiseoničnih reaktivnih vrsta. Iz tih razloga, razumljivo je onda zašto je oksidativni stres uključen u patogenezu AMD-a. Još je 1988 godine, Young (174), sugerisao da je prvi znak starenja akumulacija rezidualnih telšašaca "lipofuscina" unutar RPE ćelija. Postoji direktna veza između autooksidativnog oštećenja tkiva i

formiranja lipofuscina, jer po nekim autorima i sam lipofuscin je proizvod autooksidacije (175, 176). Glavno mesto odvijanja procesa lipidne peroksidacije (u sklopu formiranja lipofuscina) jesu mitohondrijalne i mikrozomalne membrane, koje sadrže visok procenat nezasićenih masnih kiselina. Lipidni peroksidi su glavni prekursori u procesu formiranja lipofuscina.

Sekundarno mesto nastanka oksidativnog oštećenja ćelija u sklopu AMD-a su krvni sudovi-horiokapilaris (177). Neki autori smatraju da se fotoaktivacija hemoglobinskih prekursora dešava u krvnim sudovima i to u eritrocitima koji prolaze kroz horiokapilarise. Aktivacija ovih prekursora može generisati reaktivne kiseonične vrste kao što su: superoksid, vodonik peroksid i singletni kiseonik, koji oštećuju RPE i Bruchovu membranu.

Sinteza različitih vrsta oksidanasa u ćelijama zahteva i sintezu različitih vrsta antioksidantnih supstanci koje deluju na različitim nivoima oksidativnog procesa, bilo da učestvuju u sprečavanju stvaranja slobodnih radikala vezivanjem i sklanjanjem iz cirkulacije metalnih jona (kao što su feritin, transferin haptoglobin, ceruloplazmin), ili neutrališu već stvorene slobodne radikale (albumin, mokraćna kiselina, bilirubin, SOD, GPx, katalaza itd) ili učestvuju u otklanjanju i reparaciji oštećenih molekula (DNK ligaze i polimeraze, endo i egzozukleaze itd).

Za tkiva oka, najznačajniji vodenno-solubilni antioksidansi su askorbinska kiselina (vitamin C) i glutation i to zahvaljujući njihovom redoks potencijalu, a od enzimskih antioksidanasa najznačajniji su SOD, GPx, GR i katalaza (34), dok u najznačajnije lipo-solubilne antioksidanse spadaju vitamin E, retinoidi i karotenoidi u koje spadaju lutein i zeaksantin koji se akumuliraju u makuli i odgovorni su za njenu žutu boju (178-180). Da bi procenio ulogu ovih antioksidanasa u zaštiti retine i RPE ćelija, Nacionalni Institut za Oftalmologiju Amerike je izveo jednu opširnu kliničku studiju-trajal pod nazivom AREDS (Age-Related Eye Disease Study) kako bi se procenilo pozitivno dejstvo ovih antioksidanasa i razmotrila mogućnost njihove primene u sprečavanju ili pak odloženju nastanka AMD-a. Ovom studijom je dokazano da inkubacija sveže izolovanih lipofuscinskih granula sa vidljivom svetlošću, povećava lipidnu

peroksidaciju za 30%, dok inkubacija lipofuscina sa katalazom i lizozomalnim enzimima (npr. kiselom fosfatazom) u prisustvu svetla, smanjuje stepen lipidne peroksidacije za 30–50% (34). Zbog toga se može izvesti zaključak da antioksidansi mogu sprečiti (smanjiti) lipidnu peroksidaciju i gubitak enzima koje izaziva fotooksidacija i oštećenje koje je nastalo dejstvom lipofuscina i slobodnih radikala.

Slično našim rezultatima, Cohen sa saradnicima (181), dobio je niske vrednosti glutation reduktaze u jednoj grupi AMD pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu ( $p=0,035$ ), dok se vrednosti GPx i SOD-a nisu mnogo razlikovale između dve grupe ispitanika. Upotrebom logistične regresione analize posle korekcije za pušenje, starost, upotrebu vitamina i prisustvo kardiovaskularne bolesti, u ovoj studiji je dobijeno da vrednosti glutation reduktaze ( $p=0,05$ ) i glutation peroksidaze ( $p=0,065$ ) značajno koreliraju sa pojavom AMD-a.

Samiec sa saradnicima (182) je ispitivao nivo glutaciona kao i redoks sistem glutaciona u 73 AMD pacijenata sa i bez DM (svi ispitanici stariji od 60 godina) i 27 zdravih ispitanika sličnih godina starosti, kao i 19 mlađih osoba (<60 godina) bez AMD i bez DM. Rezultati ispitivanja su pokazali znatno niže vrednosti GSH (redukovanog glutaciona) kod starijih osoba (AMD, DM i KG) u odnosu na mlađe ispitanike ( $p<0,01$ ). Ukupni GSH nakon terapije sa ditiotreitolum je bio značajno niži samo u DM ispitanika ( $p<0,05$ ) i na granici značajnosti u AMD pacijenata ( $p=0,089$ ). Određivanjem „poola“ glutaciona dokazano je da je prisutna uglavnom oksidisana forma glutaciona u svim starijim grupama. Ukupni GSH je bio znatno niži u DM grupi u odnosu na kontrolnu grupu, ali nije pokazivao nikavu vezu sa godinama starosti niti sa pojavom AMD-a, dok je ukupni oksidisani GSSG, bio znatno povećan u starijim grupama u odnosu na mlađe ispitanike. Ovi rezultati ukazuju da u starosti oksidacija glutaciona i koncentracija oksidisanog glutaciona je važniji parametar nego sama veličina „pool-a“ glutaciona, dok je u specifičnijim bolestima kao što je DM, stepen oksidacije kao i opadanje koncentracije „veličina pool-a“ su podjednako važni.

Značajno smanjenje antioksidantnog kapaciteta plazme i povećanje koncentracija oksidisanog glutaciona a bez vidljivih promena koncentracije redukovano glutaciona je našao i Pansarasa sa sarad. (183) ispitujući antioksidantni status jedne grupe zdravih ispitanika ali različite starosti. Ova grupa ispitanika je našla da aktivnost CAT značajno opadala sa starenjem, koncentracija oksidovanog glutaciona je rasla, dok GPx i GSH se nisu menjale u grupama ispitanika starijih od 66 godina (66-91 god.) u odnosu na one zdrave ispitanike starosti od 17-40 god. Mlađi ispitanici (17-40 god.) imali su nižu koncentraciju lipidnih peroksida i proteinskih karbonila (mera oksidacije lipida i proteina) u odnosu na starije ispitanike. S toga ova grupa istraživača zaključuje da sa starenjem opada aktivnost kako antioksidantnih enzima tako i koncentracija neenzimskih antioksidantnih materija, a raste koncentracija oksidativno modifikovanih jedinjenja, što ukazuje na insuficijenciju sistema antioksidantne zaštite i porast stepena oksidativnog stresa i oksidativnog oštećenja tkiva. U takvim uslovima, ljudski organizam postaje izuzetno podložan nastanku i razvijanju raznih oboljenja koja su vezana za starenje i povećan oksidativni stres.

Evereklioglu sa sar. (184) je 2003. godine objavio rezultate multicentrične, dvostruko slepe studije preseka koja je vođena sa ciljem da se ispituju plazmalni nivoi azot oksida (NO) i lipidnih peroksida u odnosu na antioksidantne enzime u eritrocitima i plazmi pacijenata sa AMD-om i u zdravoj kontrolnoj grupi. Ispitali su ukupno 41 pacijenta sa makulopatijom (19 muškaraca i 22 žene) starosti od  $67,12 \pm 3,70$  godina i 25 zdravih osoba iste starosne strukture (12 muškaraca i 13 žena). Svi pacijenti sa makulopatijom su imali značajno veće vrednosti NO u plazmi u odnosu na KG. Koncentracija MDA je takođe bila značajno veća u AMD pacijenata u odnosu na KG, dok su SOD i GPx bili značajno niži kako u eritrocitima tako i u plazmi ( $p < 0,001$ ). Vrednosti CAT u eritrocitima se nisu razlikovale po grupama. Ova grupa istraživača je dokazala da pacijenti sa kasnom formom AMD-a su imali značajno veće koncentracije MDA i niže aktivnosti enzima u odnosu na pacijente sa ranom formom bolesti.

Totan sa saradnicima (185) je u jednoj studiji ispitao proteine, lipide i DNK (makromolekule) i njihovu povezanost sa totalnim oksidantnim statusom (TOS) i totalnim antioksidantnim kapacitetom (TAC) u pacijenata sa kasnom-eksudativnom formom AMD-a. Malondialdehid (MDA) kao indeks lipidne peroksidacije, proteinski karbonili (PC) kao markeri proteinske oksidacije i 8-hidroksi-2-deoksigvanozin (8-OHdG) kao marker oksidativnog oštećenja DNK, zajedno sa TAC i TOC mereni su specifičnim metodama u 47 pacijenata sa eksudativnom formom AMD-a kao i kod 25 zdravih ispitanika (upareni po polu i starosti). U ovoj studiji su dobijene značajno veće vrednosti MDA, PC, 8-OHdG i TOS a niže koncentracije TAC-a u serumu pacijenata sa eksudativnom formom AMD-a u odnosu na kontrolnu grupu ( $P < 0,001$ ). Zaključak istraživača je bio da disbalans između TAC-a i TOS-a dovodi ne samo do porasta lipidne peroksidacije i oštećenja makromolekula lipida, već i do oštećenja proteina i DNK, što upućuje na ulogu ovih oštećenja u patogenezi AMD-a.

Slično gore navedenim radovima, u svom istraživanju Gautama i sar (186), ispitali su proizvode oštećenja lipida i proteina zajedno sa antioksidantnim kapacitetom limfocita zdravih individua. Ispitano je po 20 zdravih ispitanika u svakoj starosnoj grupi, i to: starosti od 11 – 20 god, 21 – 30, 31 – 40, 41 – 50 i 51 – 60 god. Iz uzoraka krvi izolovani su limfociti. Određivani su MDA, PC, SOD, CAT, glutation i glutation-zavisni enzimi. Povećana koncentracija MDA i PC podržava hipotezu da postoji značajno oštećenje lipida i proteina u starijoj populaciji. Ovi autori smatraju da se ravnoteža oksidanasa i antioksidanasa u starosti pomera prema oksidativnom oštećenju. S toga, oni smatraju da oksidativni stres u limfocitima igra značajnu ulogu u imunom odgovoru organizma kod starijih osoba.

U svom radu objavljenom 2011 godine, Jia sa saradnicima (187), je u jednoj grupi kineskih ispitanika sa AMD-om, ispitao vrednosti malon dialdehida (MDA) i aktivnost superoksid dizmutaze u odnosu na grupu zdravih osoba. Ispitanici sa AMD-om su bili podeljeni u tri grupe: na one sa ranom-suvom formom AMD-a, na grupu sa geografkosm atrofijom (kasna suva forma) i na one sa „vlažnom“ eksudativnom formom AMD-a. Kontrolnu grupu je činilo 34

zdravih ispitanika (upareni po polu i starosti). Vrednosti serumske MDA su bile značajno veće u pacijenata sa AMD-om ( $P=0,000$ ) u odnosu na kontrolnu grupu i značajno veće u podgrupi vlažne AMD u odnosu na ranu suhu formu ( $P=0,036$ ). Serumska aktivnost SOD-a je bila značajno veća u AMD pacijenata nego u KG ( $p=0,012$ ) i neznatno veća u eksudativnoj formi AMD-a nego u grupi sa geografskom formom ili sa ranom-suvom formom AMD-a ( $P=0,093$ ). Postojala je pozitivna korelacija između aktivnosti SOD-a i vrednosti MDA u grupi AMD pacijenata i u kontrolnoj grupi. Zaključak ovih autora je da porast MDA dovodi do povećanja aktivnosti SOD-a kao kompenzatorni mehanizam i odgovor organizma na povećan oksidativni stres, i da oksidativni stres kao takav a naročito poremećaj redoks sistema tj. redoks potencijala ćelije je povezan sa nastankom AMD-a.

Yildirim sa sar. (188) je dokazao da pacijenti sa AMD imaju znatno nižu aktivnost SOD i GPx a povećanu koncentraciju proizvoda oksidativnog stresa (MDA) dok su koncentracije nekih neenzimskih substanci kao što je vitamin C i glutation bile nepromenjene u grupi pacijenata sa AMD-om u odnosu na kontrolnu grupu. Imamura sa svojim saradnicima (189) je dokumentovao da nedostatak izoforme SOD1 (Cu,Zn-SOD) može ubrzati nastanak patoloških promena na retini vezane za starost kao što su formiranje druzi i zadebljanje Bruchove membrane a takođe može pokrenuti procese vezane za neovaskularizaciju i nastanak "vlažne" forme AMD-a.

S obzirom da od svih jedinjenja koja ulaze u sastav neenzimskog totalnog antioksidantnog statusa (TAS-a), najveći udeo ima albumin ( $530-830 \mu\text{mol/L}$ ), jasno je zašto i najmanje promene koncentracije ovog parametra ima za posledicu promene u koncentraciji TAS-a. Mnogi radovi su do sada potvrdili da koncentracija serumskog albumina opada sa godinama, čak i u normalnim fiziološkim uslovima. Jedna velika studija praćenja koja je rađena u Japanu u periodu od 1999–2003 na preko 25 000 ljudi starijih od 65 godina ustanovila je da su prosečne vrednosti albumina u muškoj populaciji od 65–69 god. starosti,  $43 \text{ g/L}$  koje opadaju sa starenjem i u grupi muškaraca starosti 85–89 god. iznose  $39 \text{ g/L}$ , dok kod žena iznose  $43 \text{ g/L}$  (65–69) i opadaju do  $40 \text{ g/L}$  (85–



89 god). U istoj studiji je ustanovljeno da incidenca hipoalbuminemije raste sa godinama od 1,2% koliko iznosi za muškarce starosti 65–69 god. do 6,6% za muškarce starosti 85–89 god., dok za žene iste starosne dobi iznose od 0,6–4,1%. Regresiona analiza je pokazala da se vrednosti albumina smanjuju sa starenjem, za 0,15 g/L za godinu dana (za muškarce) tj. 0,12 g/L za žene (190). U drugoj studiji, autora Era i saradnika (191) dokazano je da se ukupna koncentracija albumina u serumu mešavina merkaptoalbumina (redukovana forma albumina) i ne-merkaptoalbumina (oksidovana forma). Koncentracija redukovane forme albumina se smanjuje sa starenjem na račun oksidovane forme koja je procentualno više zastupljena nego kod mlađih osoba, tako da starije osobe, s jedne strane imaju niže vrednosti serumskog albumina a s druge strane veće vrednosti oksidovane forme. S obzirom da albumin ima značajnu funkciju u održavanju redoks homeostaze ekstracelularnih tečnosti jer obezbeđuje određeni redoks-puferski kapacitet, pomeranjem odnosa redukovane i oksidovane forme, značajno se menja i njegov kapacitet održavanja redoks homeostaze i omogućuje njeno pomeranje ka pro-oksidativnim uslovima. Kawai sa saradnicima (192) je pronašao procentualno veću zastupljenost, merkaptoalbumina u očnoj vodici pacijenata sa senilnom kataraktom u odnosu na kontrolnu grupu. Veće vrednosti merkaptoalbumina su detektovane u očnoj vodici onih pacijenata sa senilnom kataraktom koji su imali i aktivnu dijabetesnu retinopatiju u odnosu na one pacijente sa inaktivnom dijabetesnom retinopatijom. Ovakva raspodela merkaptoalbumina u očnoj vodici, autori smatraju da nastaje kao posledica povećane permeabilnosti krvnih sudova retine koja je prisutna u dijabetesnoj retinopatiji.

Virgolici sa sar. (193) je u jednoj studiji na pacijentima sa senilnom kataraktom, takođe dobio niže koncentracije serumskog albumina kod ispitanika nego kod kontrolne grupe, što upućuje na zaključak da povećan oksidativni stres a pre svega smanjen redoks kapacitet albumina je u direktnoj vezi sa prevremenim nastankom senilne katarakte.

Po Weineru i sar. (194) AMD je znatno češća kod onih starijih osoba koje imaju i smanjenu bubrežnu funkciju, tako da bi u tom slučaju albuminurija mogla biti značajno povezana sa patogenezom AMD-a. Međutim, u toj studiji, u

kojoj je bilo uključeno preko 900 ispitanika sa AMD-om (od tog broja 51 ispitanik je imao kasnu formu AMD-a a ostatak bilo koju formu AMD-a) logističkom analizom je dobijeno da u slučajevima kada nije prisutna i dijabetesna albuminurija, albuminurija je tek neznatno povezana sa AMD-om (OR: 1,16; 95% CI 1,11 – 1,29 za mikroalbuminuriju i OR:1,57; 95% CI 0,61 – 3,69 za makroalbuminuriju) (194).

Oetl sa sar. (195) je pokušao da ispita redoks status albumina u različitim očnim bolestima (sa i bez komplikacija) kao što su: katarakta, glaukom, AMD, dijabetesna retinopatija i povišen očni pritisak usled sistemske hipertenzije, sa mogućnošću razmatranja uticaja starosti na izmerene vrednosti albumina. Rezultati ispitivanja su pokazali da je albumin kao marker oksidativnog stresa više pomeren ka oksidovanoj formi i to u onim stanjima koja su povezana sa dijabetesom i dijabetesnom retinopatijom i da na njegove vrednosti ne utiču godine starosti, dok u patologijama kao što su katarakta i AMD nije dobijen nikakav uticaj osnovne bolesti na oksidativni kapacitet albumina.

Odhambo sa sar. (196) je dokazao da u uslovima povećanog oksidativnog stresa, koji vladaju i u AMD-u, molekule albumina podležu post-translacionoj modifikaciji pri čemu nastaju oksidativno modifikovane molekule, npr. MDA-modifikovan albuminski peptid (dokazan pomoću MALDI-TOFMS tehnologije) i da takvi markeri mogu ubuduće poslužiti kao biomarkeri oboljenja. Slično ovom istraživanju Ogasawara sa sar. (197) je potvrdio da dejstvom oksidativnog stresa i peroksida različitih vrsta dolazi do formiranja dimernih disulfidnih molekula albumina, što se manifestuje smanjenjem merljive koncentracije albumina u serumu, i da to može biti razlog smanjenja koncentracije albumina u patologijama koje su vezane za oksidativni stres.

Drugi po koncentraciji značajan ingredijent TAS-a je mokraćna kiselina koja čini 160–450  $\mu\text{mol/L}$  (1/5 do 1/3 deo TAS-a), i koja je sa aspekta antioksidativne zaštite značajan "scavenger" (čistač) slobodnih radikala u cirkulaciji. Naše ispitivanje je pokazalo da pacijenti sa AMD-om imaju znatno niže serumske vrednosti mokraćne kiseline u odnosu na kontrolnu grupu iste

starosne strukture. Postojala je statistički značajna razlika i između pojedinih podgrupa sa AMD-om, s tim da je najveće sniženje dobijeno u grupi kasne-suve forme AMD-a u odnosu na KG ( $p < 0,05$ ). Za razliku od rezultata našeg istraživanja, Subramani sa sar. (198), je dobio veće vrednosti mokraćne kiseline kod AMD pacijenata sa neovaskularnom formom bolesti (vlažna AMD) kako u odnosu na KG tako i u odnosu na ne-neovaskularnu formu bolesti, tj. suhu formu bolesti, mada u sveukupnoj grupi pacijenata sa AMD-om prosečne vrednosti mokraćne kiseline se nisu značajno razlikovale od prosečnih vrednosti u kontrolnoj grupi. Krizova sa sar. (199), je ispitala sadržaj mokraćne kiseline i glukoze kako u serumu tako i u vitreusu pacijenata sa dijabetesnom retinopatijom. Dobijeni rezultati govore u prilog značajnom povećanju koncentracija mokraćne kiseline i u serumu i u staklastom telu oka pacijenata sa proliferativnom dijabetesnom retinopatijom (DR) u odnosu na neproliferativnu DR i to nezavisno od vrednosti glukoze, što upućuje na to da mokraćna kiselina bi mogla imati značajnu ulogu u nastanku i progresiji dijabetesne retinopatije. Mahryar i sar. (200) ukazuju na to da je mokraćna kiselina značajan prirodni antioksidant telesnih tečnosti i da fluktuacije u koncentraciji ovog antioksidansa mogu uticati na nastanak oksidativnih oštećenja retine i razvoja senilne degeneracije makule.

Dosadašnje epidemiološke studije su pokazale da postoji pozitivna i nezavisna asocijacija između povišenih koncentracija mokraćne kiseline i esencijalne hipertenzije, ali nema podataka iz takvih studija kako starost utiče na serumski nivo mokraćne kiseline. U studiji koju je sproveo Lu sa saradnicima (201) ispitano je preko 800 starijih lica između 90 i 108 godina starosti u Kini. Nije pronađena značajna razlika u koncentraciji mokraćne kiseline između hipertenzivnih i normotenzivnih osoba starije životne dobi, niti je dokazano da se koncentracije mokraćne kiseline značajno menjaju sa starenjem. Sun sa saradnicima (202) je ispitao serumske koncentracije mokraćne kiseline kod pacijenata sa Parkinsonovom bolešću (koja je jedna od patologija starije životne dobi) i pronašao značajno snižene koncentracije ovog markera kod tih pacijenata. On je čak pomoću nivoa koncentracija mokraćne kiseline

pratio progresiju Parkinsonove bolesti pa je zaključio da sa napredovanjem bolesti koncentracija mokraćne kiseline se sve više smanjuje. Šta-više, niske koncentracije mokraćne kiseline po ovim autorima, kod osoba bez vidljivih simptoma bolesti mogu poslužiti kao faktor rizika za pojavu i progresiju bolesti.

Horwath-Winter sa sar, (203) je ispitao koncentraciju mokraćne kiseline u suzama, očnoj vodici i serumu kod pacijenata sa senilnom kataraktom kako bi dobio informaciju o antioksidantnom statusu mokraćne kiseline kod tih ispitanika. Ovi autori su našli da je koncentracija mokraćne kiseline 2 do 3 puta niža u očnoj vodici i suzama nego u serumu i da se te vrednosti značajno smanjuju u toku bolesti. Dokazali su, da su koncentracije mokraćne kiseline u sva 3 kompartmana značajno niže kod žena nego kod muškaraca, i da učešće mokraćne kiseline (kao antioksidansa) u ukupnom antioksidantnom statusu iznosi 38% za suze, 10% u očnoj vodici a 37% u serumu.

Transportni proteini kao što su: feritin, transferin i haptoglobin su takođe značajne antioksidantne supstance, po tome što vezuju gvožđe u stabilne komplekse sa proteinima i na taj način sprečavaju da slobodno gvožđe stupa u reakciju sa raznim slobodnim radikalima i preko Fentonove reakcije dovode do stvaranja hidroksilnih ( $\text{OH}\cdot$ ) i oksil radikala ( $\text{LO}\cdot$ ) koji su izrazito razorni za sve vrste bio-molekula. Naše istraživanje je pokazalo da su vrednosti feritina bile značajno niže u odnosu na KG kako u celokupnoj grupi pacijenata sa AMD-om tako i u ispitivanim podgrupama pacijenata sa AMD-om osim u podgrupi sa ranom formom AMD-a. Vrednosti transferina u sveukupnoj grupi AMD-a se nisu značajno razlikovale u odnosu na KG, međutim, prosečne vrednosti u pogrupi kasne-suve forme AMD-a, bile su znatno veće u odnosu na KG, ali i u odnosu na druge dve podgrupe AMD-a (rana i kasna-vlažna forma) ( $p < 0,05$ ). Vrednosti haptoglobina se nisu značajno razlikovale niti u grupi svih pacijenata sa AMD-om niti u podgrupama AMD-a u odnosu na KG.

Mada se istraživači u svetu, generalno slažu da povišene koncentracije gožđa i poremećaj njegove homeostaze u retini može biti u vezi sa povećanom sintezom slobodnih radikala (slobodnih kiseoničnih vrsta) a samim tim i povećanim oksidativnim oštećenjem retinalnog tkiva, nije sasvim jasno da li su

ova oštećenja u osnovi nastanka AMD-a ili su nastale kao posledica AMD-a. Neki noviji radovi sugerišu da oštećenja koja nastaju dejstvom slobodnih radikala su u osnovi bolesti i utiču na njenu patogenezu. O tome svedoče radovi koji su dokumentovali povećanu koncentraciju gvožđa u samoj makuli, proces koji je vezan za starenje, ali i za neke druge bolesti koje su vezane za starenje i za patologiju AMD-a, up-regulaciju transferina i nedostatak ceruloplazmina i hephaestina u AMD-u, povezanost između polimorfizma gena koji regulišu homeostazu gvožđa i nastanak AMD-a itd (204).

Garcia-Castineiras (205) smatra da postoji ustaljena šema po kojoj cirkuliše gvožđe unutar i van oka. Po toj šemi, gvožđe iz retine prelazi u staklasto telo zahvaljujući sistemu feroportin/ferroksidaze na površini Mullerovih ćelija, gde ga prihvata transferin i vezuje u kompleks, prebacujući ga do sočiva gde se inkorporira u ekstracelularni prostor na "ekvatoru" sočiva i kreće prema površini epitela. Na apikalnom kraju epitelijalnih ćelija sočiva, transferin se vezuje za specifične transferinske receptore, nakon čega sledi internalizacija i endocitoza kompleksa transferin-gvožđe, odakle se  $Fe^{3+}$  preko procesa katalizovanog od strane feroportin/feroksidaze "izbacuje" na bazalni pol epitelijalnih ćelija gde ga prihvata transferin koja ga sada vraća u sistemsku cirkulaciju. Ova šema pokušava da objasni tesnu vezu između retine i sočiva u održavanju konstantne cirkulacije gvožđa unutar oka što ujedno omogućava adekvatno snabdevanje oka gvožđem i obezbeđuje reciklažu ovog elementa. U slučajevima multifaktorijalnih bolesti kao što su AMD i senilna katarakta, hepcidin, hormon odgovoran za nastanak anemije u hroničnim inflamacijama može izazvati intracelularno taloženje gvožđa u sočivu oka, pa čak i interferenciju sa sistemom feroportin/feroksidaze koji je odgovoran za prebacivanje gvožđa do epitela anteriornog sočiva. Na taj način gvožđe se akumulira u sočivu, smanjuje se njegova "reciklaža" i favorizuju se pro-oksidativni procesi u kojima gvožđe učestvuje kao oksidans. U tom kontekstu istraživanje Chowersa i sar (206) je rađeno sa ciljem da se odrede koncentracije i profil transferina u retini pacijenata sa AMD-om u odnosu na one pacijente bez znakova AMD-a. U tom istraživanju uzimane su retine post-mortem od pacijenata sa AMD-om i bez AMD-a, u kojima je određivana ekspresija

transferina imunohemijski i Western blot tehnikom. Dobijeni rezultati ukazuju na povećanu ekspresiju mRNK za transferin i to od 2,1–3,5 puta u retini pacijenata sa AMD-om u odnosu na ne-AMD pacijente. Imunohistohemijski je potvrđena veća raširenost transferina u makuli, naročito u velikim druzama, Mullerovim ćelijama i fotoreceptorima. Na ovaj način su ovi autori potvrdili vezu između AMD-a i taloženja gvožđa u RPE ćelijama.

Dunaief sa sar. (207) je dokazao da miševi sa nedostatkom hefestina koji je inače homolog ceruloplazmina, razvijaju retinalnu degeneraciju sa nekim znacima AMD-a, uključujući i subretinalnu subvaskularizaciju, akumulaciju lipofuscina i stvaranje depozita unutar RPE ćelija i smrt fotoreceptora. Neka preliminarna ispitivanja Hadziahmetovića i sar. (208) su dokazala da primena helatora gvožđa kao što je deferipron može smanjiti (usporiti) taloženje gvožđa u RPE ćelijama i na taj način zaštititi oko od uticaja oksidativnog oštećenja retine izazvanog dejstvom nataloženog gvožđa, te prema tome, može sprečiti (ili usporiti) nastanak AMD-a. Istraživanja Gnana-Prakasama i sar. (209) bave se ispitivanjem gena koji kodiraju sintezu proteina koji regulišu metabolizam gvožđa. Ovi autori smatraju da hemohromatoza koja spada u nasledne bolesti taloženja gvožđa nastaje mutacijom najmanje 5 gena koji kodiraju sintezu sledećih proteina: HFE, hemojuvelin, transferin receptor 2, ferroportin i hepcidin. Tkivo retine je odvojeno od sistemske cirkulacije pomoću svojih unutrašnjih i spoljašnjih krvno-retinalnih barijera, na taj način je ovo tkivo imuno na razne promene koje se dešavaju u sistemske cirkulaciji.

Nedavne studije su pokazale da svih 5 gore-pomenutih gena su takođe eksprimirani i u retini, što upućuje na zaključak da je homeostaza gvožđa u retini regulisana lokalno, aktivnim učešćem različitih regulatornih proteina čiju sintezu kodiraju ti geni. Po toj logici, mutacija tih gena, stoji u osnovi raznih bolesti kao što je hemohromatoza, aceruloplazminemija, AMD, kao i razne vrste virusnih i bakterijskih infekcija. Chen sa sar. (210) je dokazao da su koncentracije gvožđa značajno veće u RPE/horoidu retine starijih glodara u odnosu na mlađe, i da su praćene visokom ekspresijom mRNK za ceruloplazmin

i feritin, dok se ekspresije mRNA za transferin, transferinski receptor i feroportin nisu značajno razlikovale između starih i mlađih glodara. Na proteinskom nivou, primećena je smanjena koncentracija transferina i transferin receptora, povećana koncentracija feritina i ceruloplazmina a nepromenjena koncentracija feroportina u RPE/horoidu starijih glodara. Ovi rezultati upućuju na zaključak da se sa starenjem javlja akumulacija gvožđa i poremećaj njegove homeostaze, što je praćeno smanjenom fagocitozom i lizosomalnom funkcijom RPE ćelija. S toga ovi autori smatraju da ovakve promene homeostaze gvožđa doprionose povećanju osetljivosti retinalnog tkiva za genetske mutacije koje su povezane sa starenjem i nastankom senilne degeneracije makule. Slično istraživanje je sproveo i Deleon sa sar. (211) koji je dokumentovao da je ekspresija mRNA za transferin i ceruloplazmin povećana od 2–12 puta kod degeneracije makule u poređenju sa kontrolama iste starosne dobi, dok je mRNA za transferin receptor povećan samo u kasnoj AMD. Koncentracije transferina i ceruloplazmina prate porast mRNA, a koncentracija retinalnog feritina je 1,5–2 puta povećana, dok je nivo vezanog feritina povećana za 1,6 puta.

Rezultati istraživanja uticaja haptoglobina na nastanak i razvoj AMD-a kod raznih autora su vrlo neujednačeni. Kliffen sa sar. (212) je našao 5 različitih proteina u makuli vezanih za nastanak AMD-a. Između ostalog, jedan od njih je bio i  $\beta$ -lanac haptoglobina kao i prekursor retinol-binding proteina smešten u fotoreceptorima. Ovaj autor smatra da povišene koncentracije haptoglobina koji je povezan sa nastankom ateroskleroze mogao biti inducibilni agens za razvoj kasne forme AMD-a. Suprotno od njega Seider sa sar. (213) smatra da haptoglobin, pogotovu fenotipovi haptoglobina nemaju nikakav efekat na prevalencu eksudativne forme AMD-a.

## 5.2. ANALIZA MARKERA INFLAMACIJE

Zadatak našeg istraživanja je bio da se ispitaju i parametri inflamacije CRP, IL-6 i fibrinogen kako u grupi svih pacijenata sa AMD-om tako i u pojedinačnim AMD podgrupama, sa ciljem da se utvrdi da li je inflamacija u osnovi AMD-a, i ako jeste, u kojoj meri je prisutna u različitim formama AMD-a. Dobijeni rezultati su pokazali da su vrednosti CRP-a veće u grupi svih pacijenata sa AMD-om, ali zbog velike razuđenosti rezultata i neparametarske distribucije ovog parametra razlika između sveukupne AMD grupe i KG je bila na granici značajnosti ( $p=0,056$ ). Dobijena je razlika u vrednostima CRP-a između podgrupe sa eksudativnom formom AMD-a i KG koja je takođe bila na granici značajnosti ( $p=0,057$ ). Vrednosti IL-6 i fibrinogena su takođe bile znatno veće u grupi AMD-a u odnosu na KG, ali statistički značajna razlika dobijena samo za fibrinogen ( $P=0,007$ ) dok je za IL-6 razlika bila na granici značajnosti ( $P=0,074$ ). Veće vrednosti fibrinogena su dobijene i u podgrupi kasne-vlažne forme (eksudativna) AMD-a u odnosu na KG ( $P=0,023$ ).

Mada se poslednjih godina mnogo govori i piše o relaciji između senilne degeneracije makule i inflamacije i mnogi radovi sugerišu da inflamacija postoji u osnovi ove bolesti, prvi podaci o postojanju veze između markera inflamacije, a naročito CRP-a (koji je i najčešće ispitivan marker) i AMD-a su proistekli upravo iz velikih kardiovaskularnih studija, u kojima su se iz više hiljada ispitanika izdvojila jedna grupa od nekoliko stotina ispitanika kod kojih je dijagnostikovana AMD. Tako npr. rezultati jedne od najznačajnijih i najčešće citiranih studija kao što je *Cardiovascular Health Study* među prvima ukazuju na vezu između procesa inflamacije i razvoja AMD-a (214). Ova prospektivna studija, koja je rađena u periodu između 1989 i 1993 u raznim lokalitetima SAD-a, obuhvatila je skoro 6 000 ispitanika sa kardiovaskularnom bolestešću starosti preko 65 godina. Od ukupnog broja ispitanika, dijagnostikovano je i 390 bolesnika sa AMD-om (360 sa ranom formom i 30 sa kasnom formom bolesti). U toj grupi ispitanika nađena je veza između pojave AMD-a i rastućih



koncentracija CRP-a, ali statistički značajna asocijacija je dokazana samo između trećeg kvartila CRP-a i AMD-a (OR:1,69; 95% CI 1,01–2,69).

Druga studija koja je potvrdila vezu između CRP-a tj. inflamacije i AMD-a je i Rotterdamska studija praćenja koja je ispitivala blizu 5 000 ispitanika, a vođena je sa ciljem da se ispituju i utvrde faktori rizika za nastanak AMD-a (215). U toj studiji u kojoj je prosečno vreme trajanja studije bilo 7,7 godina, detektovano 561 slučaj rane forme AMD-a i 97 slučajeva kasne forme AMD-a, što je ukupno činilo oko 13,4% od ukupnog broja ispitanika. Nakon podešavanja za starost i pol, HR (Hazard Ratio) je pokazao da visoki nivoi hsCRP-a su bili asocirani sa pojavom kako rane (OR: 1,11; 95% CI 1,02–1,21) tako i kasne forme AMD-a (OR: 1,28; 95% CI 1,02–1,60). Rizik za nastanak AMD-a je rastao sa porastom vrednosti hsCRP-a od drugog do četvrtog kvartila CRP-a, tako da je rizik za kasnu formu AMD-a bio veći u gornjim kvartilima hsCRP-a u odnosu na niže kvartile.

Povišene vrednosti CRP-a je dobio i Seddon sa sar. (216) u prospektivnoj kohortnoj studiji, ispitujući odnos između CRP-a i progresije AMD-a. Dokazali su da postoji povezanost između povišenih koncentracija CRP-a i progresije bolesti (OR:2,10 p=0,046). Naši raniji radovi koji su rađeni na manjem broju AMD ispitanika potvrdili su nalaze gore-pomenutih autora (217). Značajno povećanje CRP-a je dobijeno u grupi koja je brojala 79 AMD ispitanika, od kojih većina je imala kasnu formu bolesti (eksudativnu formu i geografsku atrofiju, a samo 9 ispitanika je imalo ranu formu). U takvoj grupi ispitanika gde su preovladale kasne forme AMD-a, dobijeno je značajno povećanje CRP-a u odnosu na KG (p=0,049). Dokazali smo takođe, da je znatno veći broj AMD ispitanika imalo vrednosti CRP-a preko 3 mg/L, i da su prosečne i medijana vrednosti CRP>3 mg/L bile znatno veće u grupi AMD pacijenata u odnosu na KG (p=0,033). Sa povećanjem broja ispitanika, povećao se i broj onih pacijenata koji su imali ranu formu bolesti, tako da je dobijena velika razudenost izmerenih CRP vrednosti, i na taj način se značajnost razlike smanjila. Za razliku od CRP-a, za IL-6 i fibrinogen u većoj grupi ispitanika dobijena je značajna razlika između AMD ispitanika i KG. Dobijene različite vrednosti

parametara inflamacije u grupama AMD pacijenata formirane od različitih udela ispitanika sa ranom i kasnim formama bolesti govori u prilog hipoteze (prihvaćene od većine autora) koja govori da pojedine forme AMD-a predstavljaju odvojeni pato-histološki i klinički entitet i da se svaka forma javlja i razvija nezavisno jedna od druge tj. ne postoji prelaz od rane do kasne forme (tako np. kasna eksudativna forma se može javiti bez prisustva rane forme ili geografske atrofije i može biti prisutna samo na jednom oku, dok je drugo oko bez promena ili da na jednom oku postoji vlažna forma a na drugom suva forma ili rana forma AMD-a).

Klein sa sar. (218) takođe nije pronašao nikakvu vezu između koncentracije CRP-a i pojave AMD-a, niti između progresije AMD-a i vrednosti CRP-a. U jednoj drugoj studiji Kleina i sar (219), pomenuti autor nije uspeo da dokaže postojanje veze između pojave rane forme AMD-a i povišenih vrednosti CRP-a. U jednoj studiji preseka rađenoj u Nemačkoj, gde su ispitanici regrutovani iz pokrajine Muenster, istraživači su dobili značajno veće vrednosti CRP-a u AMD grupi u odnosu na KG. Oni su takođe uspeali da dokažu povezanost između stepena AMD-a i visine serumskog CRP-a (220) u «sirovoj» logističkoj analizi, međutim kada su uzeli u obzir i faktore rizika za kardiovaskulane bolesti nikakva asocijacija nije dobijena između visine CRP-a i progresije AMD-a (220). Slično prethodnim studijama, ni McGwin sa sar. (214) nije dokazao nikakvu asocijaciju između CRP-a i nastanka AMD-a u svojoj studiji preseka, mada je u svom radu naveo da su 42 ispitanika sa kasnom formom AMD-a imali i najveće vrednosti CRP-a (koje su u Seddonovoj studiji definisane kao cut-off vrednosti) i u toj grupi pacijenata su uspeali da dokažu asocijaciju između nivoa CRP-a i razvoja uznapredovane forme AMD-a (214, 216).

U jednoj prospektivnoj kohortnoj studiji Despriet-a i sar. (221) dokazano je da su povećane vrednosti CRP-a kod osoba koje su homozigoti za pojedinačni polimorfizam nukleotida za komplementni faktor H Y402H (CFH Y402H SNP) imaju povećan rizik za razvoj AMD-a. Ova studija nije uspela da dokaže da postoji povećan rizik za kasnu formu AMD-a kod onih osoba sa povećanim vrednostima CRP-a, sugerišući da postojanje SNP za CFH Y402H je važno, iz

razloga što tako genetski modifikovan CFH reaguje sa strukturom CRP-a, time obezbeđujući uslove za nastanak kasne forme AMD-a. Jedna druga studija je pokazala da homozigoti sa CFH Y402H SNP, imaju i povećano taloženje CRP-a u horoidu što se tumači kao predhodnica AMD-a (222). Suprotno tome, studija Shaumberga i sar (223) nije uspjela da dokaže da postoji bilo kakva veza između CFH Y402H SNP i razvoja AMD-a.

IL-6 se takođe ubraja među markere sistemske inflamacije. U prospektivnoj kohortnoj studiji Seddona i sar. (216) rađenoj sa ciljem da se utvrdi da li vrednosti IL-6 mogu poslužiti za predikciju AMD-a, dokazano je da se povišene vrednosti IL-6 mogu koristiti kao markeri progresije AMD-a. Suprotno od ove studije, Klein sa sar. (218) nije uspeo da dokaže nikakvu asocijaciju IL-6 sa AMD-om. S obzirom na vezu između IL-6 i njegovog uticaja na sintezu CRP-a i fibrinogena, i vezu ovih markera sa inflamacijom u AMD-u, nameće se hipoteza o mogućoj povezanosti IL-6 i AMD-a i o mogućnosti korišćenja IL-6 u predikciji AMD-a.

Nedavno je Lip sa sar. (224) dokazao da pacijenti sa AMD-om imaju povišene vrednosti fibrinogena u odnosu na kontrolnu grupu. Jedna studija preseka koja je izvedena iz australijske studije «Blue-Mountaines Eye Study» uspjela da dokaže povišene vrednosti fibrinogena u kasnoj formi AMD-a u poređenju sa kontrolnom grupom (225). U toj studiji je potvrđeno da osobe koje imaju vrednosti fibrinogena preko 4,5 g/L imaju 6,7 puta veći rizik da dobiju kasnu formu AMD-a u odnosu na one ispitanike iz donjeg kvartila vrednosti fibrinogena (226). U drugoj studiji, koja je rađena na području Muenstera (Muenster Aging and Retina Study), istraživači su pokazali da povišene vrednosti fibrinogena koreliraju sa stepenom razvoja AMD-a (220). Istraživanje Kleina i sar. (218) nije uspjelo da dokaže bilo kakvu korelaciju između vrednosti fibrinogena i razvoja AMD-a. Dalje istraživanje ove problematike je potrebno kako bi se potvrdilo ili odbacilo mogućnost bilo kakve veze između koncentracije ovih inflamatornih markera i razvoja AMD-a.

### 5.2.1. VEZA IZMEĐU CRP-a OKSIDATIVNOG STRESA I DISLIPIDEMIJE

Reakcije inflamacije predstavljaju značajan izvor skobodnih radikala i reaktivnih kiseoničnih vrsta. Velika količina superoksid radikala se sekretuje od strane aktivisanih fagocita ili se sintetiše kao nuz-proizvod tokom biosinteze leukotriena, prostaglandina i lipidnih peroksida. Proinflamatorni citokini igraju centralnu ulogu u celularnom fiziološkom odgovoru na dejstvo oksidativnog stresa. Tokom ne-enzimske oksidativne modifikacije biomolekula pod dejstvom reaktivnih kiseoničnih vrsta, dolazi do transformacije LDL čestice u jednu aterogenu molekulu (E-LDL) koja ima sposobnost aktivacije komplementa i makrofaga i koja se pojavljuje u ranim atrosklerotskim lezijama ali i u stadijumu formiranja druzna u AMD-u. E-LDL ima sposobnost akumulacije u humanim vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama (VSMC) gde povećava ekspresiju receptora angiotenzina tip 1 (AT<sub>1</sub>-R) i stimuliše migraciju i proliferaciju VSMC ćelija i formaciju neointime. Svi ovi procesi imaju za posledicu znatno povećanje sinteze kiseoničnih radikala. Veliki broj objavljenih radova ukazuje na značajnu ulogu CRP-a kao medijatora endotelne disfunkcije. CRP u koncentracijama koje su poznate kao prediktorne koncentracije vaskularnih događaja, direktno utiče na povećanu sintezu endotelskih adhezivnih molekula ICAM-1, VCAM-1 i E-selektina koje omogućavaju interakciju između leukocita i endotela (227). CRP takođe, utiče na oslobađanje MCP-1, značajnog hemoatraktantnog hemokina koji olakšava transmigraciju leukocita kroz endotel (227). Nedavne studije su pokazale da CRP promovise i stimuliše sintezu nuklearnog faktora κB (NF-κB) u endotelskim ćelijama (228). Dokazano je da je CRP sposoban da direktno generiše superoksid anion u endotelskim ćelijama arteriola retine. Ove nalaze potvrđuju i radovi koji su dokazali da CRP može povećati sintezu superoksida u kultivisanim humanim endotelijalnim ćelijama aorte ali i u koronarnim arteriolama svinja (229). Fichtlscherer sa sar. (230) je u svojoj kliničkoj studiji dokazao da povećanje oksidativnog stresa i smanjenje biorasploživosti azot oksida (NO) je tesno

povezano sa povećanjem koncentracije CRP-a kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću. Nalazi Nagaoka i sar. (231) potvrđuju da se dejstvo CRP-a manifestuje ne samo na koronarne arterije već se odnosi i na retinalne arteriole i ovi efekti mogu biti uzrok nastanka retinalnih vaskularnih poremećaja.

Poznato je da CRP u koncentracijama koje su prediktivne za vaskularne bolesti, direktno inhibira dilataciju endotela izazvanu dejstvom NO u izolovanim retinalnim arteriolama svinja. Mehanizam koji je u osnovi ovih poremećaja podrazumeva aktivaciju kinaze p38 i stimulaciju sinteze superoksida dejstvom vaskularne NAD(P)H oksidaze. Nedavne kliničke studije su potvrdile da dejstvo statina je pozitivno na endotelsku funkciju, koji inaktivacijom puta RhoA/Rho kinaze smanjuju stepen oksidativnog stresa (232). S obzirom da na funkciju endotela značajnu ulogu ima azot oksid, i da je smanjena funkcija endotela značajna za nastanak raznih vaskularnih poremećaja, iz svega gore-navedenog jasno je, da je CRP ne samo marker inflamacije već i medijator razvoja vaskularnih poremećaja u cirkulaciji retine. Smanjenje inflamacije i oksidativnog stresa, inhibicijom aktivnosti RhoA/Rho kinaze može delovati pozitivno na očuvanje i poboljšanje endotelske funkcije (232, 233).

CRP po strukturi spada u porodicu pentraksina kalcijum-zavisnih vezujućih proteina plazme. Sastoji se od 5 identičnih ne-glikoziliranih polipeptidskih subjedinica od po 206 aminokiselinskih ostataka (svaki lanac) (234). Dokazano je da humani CRP ima sposobnost da se sa visokim afinitetom vezuje za rezidue fosfoholina, ali i druge ekstrinzične ligande dovodeći do agregacije i precipitacije molekulskih struktura koje su vezane za te rezidue. Autologni ligandi za koje se vezuje CRP su nativni i modifikovani lipoproteini plazme, oštećene ćelijske membrane, razni drugi fosfolipidi i slična jedinjenja, male čestice ribonukleoproteina i apoptotske ćelije, dok su ekstrinzični ligandi razni glikani i fosfolipidi, konstituenti raznih mikroorganizama, somatske i kapsularne komponente bakterija, gljivica i parazita, kao i razni produkti biljaka. Vezivanje CRP-a za lecitin (fosfatidil holin) i lipoproteine plazme smatra se prvim korakom u stvaranju penastih ćelija i aterogenezi (235). Dokazano je

da agregirani ali ne i nativni (ne-agregirani) CRP selektivno se vezuje samo za LDL i neke VLDL partikule seruma, dok se agregirani CRP vezuje za oksidisani LDL i parcijalno degradirani (razgrađeni) LDL. Ovakve čestice su pronađene ne samo u sastavu ateromatoznog plaka već i u sastavu druza (236). Vezan za makromolekularni ligand humani CRP biva prepoznat od strane C1q komponente komplementa i time se aktivira klasični put aktivacije komplementa, koji uključuje i C3 komponentu (glavne adhezivne molekule sistema komplementa) i terminalni membranski kompleks C5-C9. Vezani CRP obezbeđuje i vezivna mesta za faktor H regulišući na taj način alternativni put komplementa, amplifikaciju i aktivaciju C5 konvertaze (236).

#### 5.2.2. VEZA IZMEĐU CRP-a, IL-6 I FIBRINOGENA U SENILNOJ DEGENERACIJI MAKULE I STAROSTI

Starost je povezana sa visokom frekvencijom bolesti kao što su: ateroskleroza, periferna vaskularna bolest, koronarna arterijska bolest, osteoporoza, diabetes mellitus tip 2, demencija, AMD, Alzheimerova bolest, itd. Starost, takođe, karakteriše i pro-inflamatorno stanje koje doprinosi pojavi tih oboljenja. Ranije studije koje su se bavile uticajem starosti na inflamatorni odgovor organizma, ukazuju na značajnu ulogu IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i fibrinogena. Dokazano je, da je nivo ovih markera u akutno-faznom odgovoru organizma povećan kod raznih patoloških stanja, kao što je nestabilna angina i aneurizam (237) i pozitivno korelira sa rizikom za primarni i rekurentni infarkt miokarda i smrt (238). Povišena koncentracija hCRP-a ukazuje na povišen rizik za nastanak kardiovaskularne bolesti srca, infarkt miokarda i smrt među osobama sa anginom pectoris (239). Nedavne studije su pokazale da su IL-6 i TNF- $\alpha$  jači prediktori kardiovaskularne bolesti od samog CRP-a. U studiji "*Health Aging and Body Composition Study*" (240), je pokazano da osobe sa povišenim vrednostima IL-6 imaju 2–5 puta veći rizik za srčani udar, moždani

insult ili neke kardiovaskulane epizode od onih osoba koje imaju niže vrednosti ovog parametra. U toku stresa raste nivo IL-6. U studiji koja je ispitala starije osobe koje su bile pod stalnim (hroničnim) stresom, dokazano je da takve osobe imaju oko 4 puta veće vrednosti IL-6 od onih osoba koje nisu pod stresom (241). Dokazano je da osobe koje sintetišu visoke koncentracije IL-6 ne mogu da dostignu duboku starost, dok one osobe sa većim koncentracijama IL-10 se nalaze često među stogodišnjacima (242).

Kako je već ranije naznačeno, povećana enzimaska i ne-enzimaska modifikacija makromolekula tokom oksidativnog stresa (npr. sinteza E-LDL) aktivira sistem komplementa i produkciju makrofaga, stvaranje penastih ćelija i indukciju ranih aterosklerotskih lezija. Kako je u uvodnom delu naznačeno postoje sličnosti između procesa ateroskleroze u krvnim sudovima i stvaranja druza u makuli, tako da neki autori smatraju da je ateroskleroza u osnovi svih poremećaja u AMD-u. Oksidisane molekule se akumuliraju u vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama (VSMC) gde, između ostalog stimulišu ekspresiju gp130, signalnog lanca transdukcije receptora za IL-6, čime se stimuliše sinteza IL-6 (243).

IL-6 je član porodice IL-6 citokina u koju se ubrajaju još i IL-11, faktor inhibicije leukemije, onkostatina M, cilijarni neurotrofični faktor i kardiotrofin-1. Ekspresija IL-6 je regulisana raznim faktorima, među njima se ubrajaju i steroidni hormoni koji deluju i na translacionom i post-translacionom nivou. Kad je sintetisan, IL-6 povratno, indukuje proliferaciju VSMC i oslobađanje hemoatraktantnog proteina-1 (MCP-1) koji pospešuje transmigraciju leukocita kroz endotel (zajednički put dejstva sa CRP-om) (244). Jedna studija koristeći PCR tehniku, uspela je da dokaže da u aterosklerotskim lezijama pacijenata koji su bili podvrgnuti hirurškoj vaskularizaciji postoji 10–40 puta veće koncentracije mRNA za IL-6 u odnosu na ne-aterosklerotske arterije (245). Povećane koncentracije IL-6 ukazuju na visok rizik kako za subkliničku tako i za kliničku formu kardiovaskularne bolesti kod starijih žena i muškaraca (246). IL-6 povećava broj trombocita u cirkulaciji (247), a takođe može i da aktivira trombocite u uslovima "in vitro" preko mehanizma arahidonske kiseline (248).

Dokazano je, takođe, da IL-6 može stimulisati koncentraciju fibrinogena i smanjiti koncentraciju slobodnog proteina S. Uticaj IL-6 na sintezu trombocita i fibrinogena može se manifestovati poremećajem koagulacije, pojavom patološke tromboze i nestabilnih plakova (249). U studiji Okopien i sar. (250), dokazano je da je nivo IL-6 bio znatno viši kod pacijenata sa dislipidemijom IIa i IIb, i da su te koncentracije jako dobro korelisale sa debljinom intime i medije krvnih sudova. Danas se smatra da inhibicijom signalnog puta transdukcije za IL-6 mogu se prevenirati putevi inflamacije i nastanak bolesti koje u osnovi imaju inflamaciju kao što su bolesti starijeg doba (DM2, Alzheimer-ova bolest, demencija, AMD, itd).

### 5.3. ANALIZA VREDNOSTI LIPOPROTEINA

U ovom istraživanju dokazano je, da su serumske koncentracije ukupnog, LDL- i non-HDL-holesterola značajno veće kod AMD pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu ( $p=0,0001$ ,  $p=0,007$  i  $p=0,0015$ ). Takođe smo dokazali da se vrednosti ova tri parametra značajno razlikuju između ispitivanih AMD podgrupa u odnosu na KG, tako da je pronađena značajna razlika između kasne-vlažne forme AMD-a ( $p=0,0001$ ,  $p=0,028$  i  $p=0,004$ ) i rane forme AMD-a ( $p=0,001$ ,  $p=0,004$  i  $p=0,011$ ) u odnosu na KG. Vrednosti HDL-holesterola, i subfrakcije HDL<sub>2</sub>- i HDL<sub>3</sub>-holesterola se nisu značajno razlikovale u AMD i kontrolnoj grupi, ali su značajno niže vrednosti HDL<sub>2</sub>-holesterola (protektivne subfrakcije) dobijene u podgrupi kasne-vlažne forme AMD-a ( $p<0,05$ ), odnosu na KG. Vrednost triglicerida su bile neznatno veće u AMD grupi u odnosu na KG ali je razlika bila na granici značajnosti ( $p=0,097$ ). Izmerene vrednosti apolipoproteina nisu pokazivale značajnije razlike između dve testirane grupe, a ni između pojedinačnih podgrupa.

Slično našim nalazima, i grupa bugarskih istraživača (251), dobila je visoke vrednosti ukupnog i esterifikovanog holesterola u pacijenata sa makularnim edemom u odnosu na kontrolnu grupu, ali za razliku od naših rezultata, dobili



su i značajne razlike u vrednostima triglicerida ali ne i LDL-holesterola između dve ispitivane grupe. Nowak sa sar. (252), ispitujući jednu grupu AMD pacijenata starijih od 65 godina, dobio je značajno veće vrednosti ukupnog i LDL-holesterola i triglicerida, a niže vrednosti HDL-holesterola u odnosu na kontrolnu grupu. Oni su takođe, dobili i veće vrednosti Apo B, a snižene vrednosti Apo A1 u AMD grupi u odnosu na kontrolnu grupu, dok Lp(a) nije pokazivao nikakvu razliku između dve grupe ispitanika. U istraživanju Tomany-a i saradnika (253) u kojem je upoređivao rezultate iz 3 populacione – kohortne studije i to: Beaver Dam Eye Study, Blue Mountain Eye Study i Rotterdam Study, dokazao da su samo visoke vrednosti ukupnog holesterola a niske vrednosti HDL-holesterola kada su udružene sa pušenjem, asocirane su sa incidencom senilne degeneracije makule, a naročito sa incidencom geografske atrofije. Van Leeuwen sa sar. (254), koristeći podatke iz Rotterdam Studije ispitao odnos serumskog holesterola i apo E genotipa na rizik za nastanak rane i kasne forme AMD-a. Od ukupnog broja ispitanika (oko 4 000), 400 ispitanika (10%) tokom ispitivanja je razvilo neku formu AMD-a. U toj grupi ispitanika, ovi istraživači su dokazali da je samo koncentracija HDL- ali ne i ukupnog holesterola asocirana sa povećanim rizikom za nastanak AMD-a (OR:1,20; 95% CI 1,06–1,35). Jaču asocijaciju su dobili između  $\epsilon 4$  alela Apo E i incidence AMD-a. Klein sa sar. (255), koristeći rezultate Beaver Dam Eye Study, dokazao među 3684 ispitanika, starosti 43–86 godina, koji su praćeni 5 godina, da je između ostalih faktora rizika kao što su: pušenje, hipertenzija, slaba fizička aktivnost, preterano konzumiranje alkohola, itd., samo su veće vrednosti HDL-holesterola asocirane sa incidencom geografske atrofije (OR:1,29; 95%CI 1,05–1,58; p=0,01). Za razliku od svih navedenih autora, Abalain sa sar. (256) nije našao nikakvu razliku u vrednostima ukupnog-, HDL- i LDL-holesterola, triglicerida i fosfolipida između grupe od 84 AMD ispitanika i kontrolne grupe, dok su vrednosti apo E, apo B i Lp(a) bile znatno veće u serumu AMD ispitanika u odnosu na kontrolnu grupu.

Rezultati dosadašnjih epidemioloških studija su vrlo neujednačeni po pitanju vrednosti serumskih lipoproteina i njihovog uticaja na nastanak i razvoj

senilne degeneracije makule. Delom, ova varijabilnost je rezultat istraživanja različitih formi i stepena AMD-a, a delom zbog primene različitih lipoproteinskih profila. Neki autori smatraju da postoji i lokalna produkcija lipoproteina unutar RPE ćelija i Bruchove membrane i da promene koje nastaju u makuli tokom razvoja AMD-a su delimično i rezultat te lokalne sinteze lipoproteina.

U uslovima povećanog oksidativnog stresa, dolazi do povećane oksidacije lipoproteina, a naročito onih lipoproteina koji sadrže apo B100, koji su kritični ne samo za nastanak ateroskleroze već i AMD-a (257). Preuzimanje tako oksidisanih lipoproteina se vrši uglavnom preko receptora CD36, koji je glavni receptor za preuzimanje oksidovanog LDL-a, i koji je u velikoj meri eksprimiran u RPE ćelijama. Ovo preuzimanje se vrši vezivanjem dela CD36 za oksidisani PAPC (1-palmitoil-2-arahidonil-sn-glicero-3-fosfoholin) ili PALC (1-palmitoil-2-linoleoil-sn-glicero-3-fosfoholin) koji su prisutni u oksidovanim lipoproteinima (258). Pored uloge u "čišćenju" oksidisanih lipoproteina iz Bruchove membrane, CD36 ima i ulogu indukcije imunog odgovora (259). Jedna od patogenih komponenti oksidovanih lipoproteina jesu i oksisteroli, koji su metaboliti neesterifikovanog holesterola i nastaju bilo oksidacijom LDL-a ili kao nuz proizvod dejstvom mitohondrijalnih enzima. Poznato je da ljudsko oko može proizvesti značajne koncentracije 7-ketoholesterola i sličnih jedinjenja kao direktni rezultat funkcije fotoreceptora. Mnogi oksisteroli, kao što su: 7-ketoholesterool, 24-hidroksiholesterol, 25-hidroksiholesterol, 27-hidroksiholesterol itd. nastaju oksidativnom konverzijom holesterol estara. Oksisteroli imaju pro-inflamatorne i citotoksične efekte na RPE ćelije. Dokazano je da 27-hidroksiholesterol povećava sintezu kiseoničnih radikala i potrošnju glutaciona, smanjuje membranski potencijal mitohondrija, remeti homeostazu kalcijuma, podstiče inflamaciju preko stimulacije sinteze NF $\kappa$ B, A $\beta$  peptida i indukuje apoptozu kultivisanih RPE ćelija (260). Oksisteroli imaju sposobnost indukcije sinteze IL-8 (261, 262). RPE ćelije mogu da preuzimaju velike količine oksisterola, što rezultuje indukcijom inflamatornog odgovora pa čak i apoptozom. Histopatološke studije su potvrdile prisustvo 7-ketoholesterola u

depozitima horiokapilarisa i Bruchove membrane kod starijih majmuna (263). S obzirom na akumulaciju holesterol estara u druzama i Bruchovoj membrani, tokom starenja, njihove tendencije da se oksiduju u oksisterole kao i njihov toksični efekat na RPE ćelije, jasno je da lipoproteini imaju značajan uticaj na nastanak AMD-a (264).

Dokazano je, da je oskidacija lipoproteina koje sadrže apo B100 u osnovi ateroskleroze i formiranja penastih ćelija. Mnogi autori smatraju da postoje sličnosti između ateroskleroze tj. procesa formiranja plaka i formiranja druzua u Bruchovoj membrani. U tom konceptu, centralno mesto ima retencija LDL čestica unutar arterijskog zida i započinjanje čitave "kaskade" događaja koje se često sreću pod nazivom: hipoteza ateroskleroze-odgovor na retenciju lipida (265). Dokazane sličnosti između procesa ateroskleroze i formiranja druzua u Bruchovoj membrani, tj. prisustva hipoteze-odgovor na retenciju lipida su sledeće: a) lipoproteini koji sadrže apo B100 se akumuliraju u Bruchovoj membrani na istim mestima gde se akumuliraju bazalni depoziti u druzama; b) oksidativno modifikovani proteini i lipidi su prisutni u Bruchovoj membrani (kao i u aterosklerotskom plaku), i to na mestu druzua i bazalnih depozita gde mogu da indukuju patološki fenotip u RPE ćelijama (266); i c) akumulacija inflamatornih medijatora u druzama i bazalnim depozitima ukazuju na ulogu imunog odgovora u patogenezi AMD-a (267). Osim ovih sličnosti, prisustvo enzima matriks metaloproteinaza (MMP) u visokoj koncentraciji u Bruchovoj membrani i RPE ćelijama, a naročito prisustvo MMP-2 i MMP-9 ukazuje takođe na veliku asocijaciju između procesa ateroskleroze i formiranja patoloških lezija u AMD-u. Poznato je da ovi enzimi učestvuju u procesima razgradnje komponenata ekstracelularnog matriksa, proces koji vodi do destabilizacije i rupture plaka u aterosklerozi čime se uslovljavaju razni kardiovaskularni događaji (npr. AIM) (268).

#### 5.4. POVEZANOST LIPIDA SA INFLAMACIJOM I OKSIDATIVNIM STRESOM

Među oksidisanim lipidima prisutnim u oks-LDL čestici, 7-ketoholesterol je najsnažniji u inicijaciji inflamacije i citotoksičnom odgovoru (262, 263). Uloga ovog jedinjenja u inflamaciji je ispitana u mnogim ćelijskim vrstama kao što su: monociti/makrofagi (269), astrociti (270), glatke mišićne ćelije krvnih sudova (271), fibroblasti (272) kao i retinalne ćelije kod različitih sisara (273). 7-ketoholesterol je sposoban da indukuje proces transkripcije i oslobađanje velikog broja pro-inflamatornih citokina kao što su: VEGF, IL-1, IL-6 i IL-8, najverovatnije posredovana makrofagama, glatkim mišićnim ćelijama aorte i endotelijalnim ćelijama (263, 274–277). U ovim ćelijama 7-ketoholesterol indukuje oksidativni stres i sintezu kiseoničnih vrsta, najverovatnije mehanizmom koji uključuje up-regulaciju NADPH oksidaze 4 (278). Oslobođene kiseonične vrste indukuju pro-inflamatorni put, aktivacijom NFκB i fosforilacijom kinaze p38, mitogenom aktivisane protein kinaze (MAPK), ekstracelularne signalom-regulisane kinaze (ERK) kao i c-Jun N-terminalne protein kinaze (279), koje dovode do povećane transkripcije pro-inflamatornih molekula. Opisan je do sada, još jedan mehanizam pro-inflamatornog delovanja 7-ketoholestera, koji podrazumeva translokaciju HuR proteina iz nukleusa u citoplazmu (280). HuR protein je jedan RNK-vezujući protein koji povećava stabilnost citokina i mRNK vezane za njihovu sintezu i na taj način promoviše inflamaciju (280). Oks-LDL i 7-ketoholesterol mogu dovesti do translokacije kalcijumskih kanala ćelije i povećanja intracelularne koncentracije jonizovanog kalcijuma ( $Ca^{2+}$ ), čime se aktivira MAPK kinaza i sinteza i otpuštanje citokina (281). U kultivisanim RPE ćelijama, 7-ketoholesterol stimuliše sintezu i oslobađanje vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (VEGF) i IL-8 (263). Dokazano je da tretirane RPE ćelije svinja, sa 7-ketoholesterolom, dovode do povećane sinteze slobodnih kiseoničnih radikala i IL-8 (261). Nedavni radovi su pokazali da 7-ketoholesterol indukuje sintezu citokina (VEGF, IL-6 i IL-8) preko 3 različita signalna puta uključujući AKT-PKCζ-, NF-κB, p38MAPK, i ERK (282).

Koristeći seriju specifičnih inhibitora kinaza, dokazano je da inflamacija izazvana 7-ketoholesterolom, posredovana je NF- $\kappa$ B i AKT-PKC $\zeta$ -. Ovi autori smatraju da MAPK/ERK kinazni put ne učestvuje direktno u aktivaciji NF- $\kappa$ B, već da aktiviraju druge transkripcione faktore koji rade u kombinaciji sa NF- $\kappa$ B, i na taj način pojačavaju indukciju citokina (282). U studiji Larrayoz-a i sar. (282) korišćene su veoma male količine 7-ketoholesterol (10–20  $\mu$ M) da bi se indukovala sinteza slobodnih kiseoničnih radikala, koji su izmereni u svakoj ćelijskoj liniji. Ovi grupa autora smatra da se ovi efekti 7-ketoholesterol ostvaruju vezivanjem sa površinskim receptorima ćelija, i formiranjem membranskih kristala, delujući kao nespecifični aktivatori (283). Ovakav koncept kompleksne interakcije između oksisterola, proteina i membrana je nedavno predložen ali nije u potpunosti ispitan (284).

Postoji mišljenje, da hronična inflamacija prouzrokovana dejstvom 7-ketoholesterol i sličnih jedinjenja može izazvati tri vrste efekta: gubitak funkcije ćelije, smrt ćelije i transformaciju (neoplaziju). Ćelije koje su hronično izložene dejstvu 7-ketoholesterol, su pod stalnim stresom koji može zahvatiti i okolne ćelije i dovesti do gubitka pojedinih funkcija pa čak i do apoptoze. Lipidna oksidacija se smatra glavnim uzročnikom hronične inflamacije koja je vezana za proces starenja. Akumulacija 7-ketoholesterol u horiokapilarisu i RPE ćelijama može dovesti do gubitka funkcije sa posledicama na fotoreceptore. Indukcija sinteze VEGF zajedno sa gubitkom funkcije RPE ćelija i horoida može oslabiti Bruchovu membranu i dovesti do neovaskularizacije i nastanka „vlažne“ forme AMD-a (262).

## 5.5. ANALIZA KORELACIJA ANTIOKSIDANASA SA DRUGIM PARAMETRIMA I MEĐUSOBNO

Veliki broj korelacija je dobijeno između ispitivanih markera antioksidativne zaštite, lipidnog statusa i inflamacije. Sa markerima inflamacije, enzimski antioksidansi su korelisali pozitivno i negativno. SOD je korelisao pozitivno sa IL-6 samo u ranoj formi AMD-a ( $r=0,612$ ,  $p=0,066$ ) dok je GPx negativno korelisao sa CRP-om kako u celokupnoj AMD grupi ( $r=-0,222$ ;  $p=0,041$ ) tako i u podgrupi kasne-eksudativne forme AMD-a ( $r=-0,254$ ;  $p=0,074$ ) ali na granici značajnosti. Značajna i pozitivna korelacija je dobijena između GR i fibrinogena u podgrupi rane AMD ( $r=0,609$ ;  $p=0,035$ ) dok je negativna korelacija dobijena između GPx i IL-6 samo u KG ( $r=-0,249$ ;  $p=0,054$ ). TAS je pokazivao inverzne korelacije sa markerima inflamacije, ali statistički značajne je dao samo sa IL-6 i to u ranoj AMD ( $r=-0,633$ ;  $p=0,045$ ). Od ostalih neenzimskih antioksidanasa, albumin je negativno korelisao sa IL-6 ( $r=-0,339$ ;  $p=0,022$ ) a direktni bilirubin sa CRP-om ( $r=-0,185$ ;  $p=0,059$ ) u celokupnoj AMD grupi, dok je acidum uricum pozitivno korelisao sa CRP-om ( $r=0,292$ ;  $p=0,02$ ) i sa IL-6 ( $r=0,398$ ;  $p=0,047$ ) u podgrupi eksudativne AMD. U kontrolnoj grupi dobijena je samo pozitivna korelacija između acidum uricum i CRP-a ( $r=0,268$ ;  $p=0,016$ ).

Neenzimski «scavengeri» slobodnih radikala kao što su feritin, transferin i haptoglobin, imali su mnogobrojne korelacije sa parametrima inflamacije. Tako npr. feritin je pozitivno korelisao sa CRP-om u podgrupi «vlažne» AMD ( $r=0,426$ ,  $p=0,001$ ) i u KG ( $r=0,206$ ;  $p=0,062$ ), a negativno u podgrupi kasne-suve AMD ( $r=-0,794$ ;  $p=0,017$ ), dok je sa IL-6 korelisao pozitivno u podgrupi «vlažne» AMD ( $r=0,533$ ;  $p=0,009$ ) kao i u grupi svih AMD ispitanika ( $r=0,326$ ,  $p=0,035$ ). Transferin je korelisao pozitivno samo sa CRP-om u podgrupi «vlažne» AMD i sa fibrinogenom u KG, ali obe korelacije su bile na granici značajnosti ( $p=0,084$  i  $p=0,078$ ). Najbrojnije korelacije je dao haptoglobin i to pozitivne korelacije sa svim markerima inflamacije i u svim ispitivanim grupama.

Sa ukupnim holesterolom, SOD je negativno korelisao u KG i u «vlažnoj» AMD ali na granici značajnosti ( $p=0,067$  i  $p=0,097$ ), sa HDL-holesterolom ( $r=-0,369$ ;  $p=0,011$ ) i Lp(a) ( $r=-0,393$ ;  $p=0,012$ ) u podgrupi «vlažne» AMD, a pozitivno sa trigliceridima u istoj podgrupi ( $r=0,372$ ;  $p=0,01$ ) i u grupi svih AMD ispitanika ( $r=0,243$ ;  $p=0,03$ ).

GPx je korelisao pozitivno sa HDL-holesterolom ali samo u KG ( $r=0,278$ ;  $p=0,012$ ), dok je sa HDL<sub>3</sub>-holesterolom korelisao pozitivno u svim grupama i podgrupama (osim u podgrupi «kasne-suve» AMD). Pozitivne, ali granične korelacije su dobijene između GPx-a i Apo A<sub>1</sub> u ranoj ( $r=0,475$ ;  $p=0,052$ ) i kasnoj-vlažnoj formi ( $r=0,261$ ;  $p=0,083$ ), dok je u grupi svih AMD ispitanika GPx pozitivno korelisao sa Apo A<sub>1</sub> ( $r=0,225$ ;  $p=0,052$ ), a negativno sa Apo B ( $r=-0,225$ ;  $p=0,052$ ). Značajna i negativna korelacija je dobijena između GPx-a i LDL-holesterola u podgrupi geografske atrofije ( $r=-0,753$ ;  $p=0,033$ ) dok je sa Apo E u istoj podgrupi, korelacija bila na granici značajnosti ( $r=-0,594$ ;  $p=0,093$ ).

Visoko značajne pozitivne korelacije između GR-a i LDL-holesterola dobijena je u «kasnoj-suvoj» formi AMD-a ( $r=0,829$ ;  $p=0,038$ ), kao i sa Apo E ( $r=0,847$ ;  $p=0,049$ ) u istoj podgrupi i u grupi svih AMD ispitanika ( $r=0,284$ ;  $p=0,049$ ). Granična korelacija je dobijena između GR i HDL<sub>2</sub>-holesterola u podgrupi «vlažne» AMD ( $r=0,900$ ;  $p=0,072$ ) i GR i Apo A<sub>1</sub> u KG ( $r=0,408$ ;  $p=0,078$ ), dok je sa ukupnim holesterolom, GR korelisao negativno ali samo u KG ( $r=-0,532$ ;  $p=0,077$ ).

Sa ukupnim HDL- i HDL<sub>2</sub>-holesterolom, TAS je korelisao negativno, ali samo u KG ( $p=0,04$  i  $p=0,037$ ), dok je u patološkim podgrupama TAS korelisao pozitivno sa HDL<sub>3</sub>-holesterolom (osim u podgrupi «suve» AMD), dok je negativno, TAS korelisao sa trigliceridima samo u podgrupi «eksudativne» AMD ( $r=-0,851$ ;  $p=0,011$ ).

Direktna korelacija je dobijena između albumina i HDL-hol. ( $p=0,035$ ) i Apo A<sub>1</sub> ( $p=0,029$ ) u ranoj podgrupi AMD-a, a sa Apo A<sub>1</sub> ( $p=0,039$ ) i Apo A<sub>2</sub> ( $p=0,001$ ) u «vlažnoj» AMD podgrupi. Korelacije mokraćne kiseline sa parametrima lipidnog statusa su bile negativne i to sa ukupnim holesterolom, HDL-hol., HDL<sub>2</sub>-hol., i LDL-holesterolom ( $p=0,03$ ;  $p=0,025$ ;  $p=0,012$ ;  $p=0,034$ ) u

kontrolnoj grupi, a sa ukupnim HDL-hol. ( $p=0,056$ ) i Apo A<sub>1</sub> ( $p=0,027$ ) u podgrupi AMD-a sa geografskom atrofijom.

Korelacije ukupnog i direktnog bilirubina sa parametrima lipidnog statusa su takođe bile negativne. Totalni bilirubin je korelisao sa Apo B ( $p=0,035$ ) i Apo E ( $p=0,007$ ) u grupi svih ispitanika sa AMD-om, kao i sa HDL3- holesterolom ali na granici značajnosti ( $p=0,084$ ), dok je u podgrupi «vlažne» AMD, statistički značajno korelisao samo sa Apo E ( $p=0,028$ ). Direktni bilirubin je negativno korelisao sa ukupnim holesterolom ( $p=0,011$ ), LDL-holesterolom ( $p=0,016$ ), Apo B ( $p=0,014$ ) i Apo E ( $p=0,002$ ) u grupi svih AMD ispitanika, a sa ukupnim holesterolom ( $p=0,037$ ), LDL-holesterolom ( $p=0,03$ ), trigliceridima ( $p=0,002$ ), Apo B ( $p=0,003$ ) i Apo E ( $p=0,011$ ) u kontrolnoj grupi. Značajne korelacije su dobijene još u podgrupi geografske atrofije između direktnog bilirubina i Apo B ( $p=0,028$ ), kao i u eksudativnoj AMD, između direktnog bilirubina i Apo E ( $p=0,008$ ).

Feritin je pozitivno korelisao sa Apo B ( $p=0,015$ ) u «vlažnoj» AMD podgrupi, a sa Lp(a) u ranoj AMD podgrupi ( $p=0,017$ ). Najbrojnije korelacije je dao transferin sa parametrima lipidnog statusa i to u podgrupi geografske atrofije sa ukupnim holesterolom ( $r=0,661$ ;  $p=0,047$ ), LDL-holesterolom ( $r=0,697$ ;  $p=0,037$ ), Apo A<sub>2</sub> ( $r=0,721$ ;  $p=0,03$ ), Apo B ( $r=0,648$ ;  $p=0,052$ ), dok je sa Apo E, korelacija bila na granici značajnosti ( $r=0,600$ ;  $p=0,07$ ). Pozitivna korelacija je dobijena između transferina i Apo A<sub>1</sub> ( $p=0,033$ ) u grupi svih AMD ispitanika i u podgrupi «vlažne» AMD ( $p=0,068$ ).

Najbrojnije pozitivne korelacije su dobijene između transferina i parametara lipidnog statusa u kontrolnoj grupi, i to sa ukupnim holesterolom ( $p=0,017$ ), LDL-holesterolom ( $p=0,058$ ), trigliceridima ( $p<0,001$ ) i Apo B ( $p=0,006$ ), dok je u podgrupi «vlažne» AMD, haptoglobin pozitivno korelisao sa trigliceridima ( $p=0,057$ ) i Lp(a) ( $p=0,03$ ). Jedine negativne korelacije između haptoglobina i HDL-holesterola ( $r=-0,611$ ;  $p=0,006$ ), Apo A<sub>1</sub> ( $r=-0,441$ ;  $p=0,069$ ) i Apo A<sub>2</sub> ( $r=-0,467$ ;  $p=0,057$ ) dobijene u podgrupi rane AMD. U grupi svih AMD ispitanika, haptoglobin je negativno korelisao sa HDL-holesterolom ( $p=0,043$ ) a pozitivno sa trigliceridima ( $p=0,022$ ).



Značajno je napomenuti da su u našoj studiji, parametri enzimske antioksidativne zaštite pozitivno korelisali međusobno, dok su sa parametrima neenzimske antioksidativne zaštite korelisali negativno. Tako npr. SOD je pozitivno korelisao sa GPx-om u obema grupama AMD i KG ( $p=0,002$  i  $p=0,027$ ), GPx sa GR ( $p=0,069$  samo u KG), SOD i GR ( $p=0,027$  samo u KG). SOD je negativno korelisao sa TAS-om u podgrupi rane AMD ( $r=-0,568$ ;  $p=0,016$ ), sa mokraćnom kiselinom ( $r=-0,401$ ;  $p=0,005$ ) u podgrupi «vlažne» AMD, i u grupi svih AMD ispitanika ( $r=-0,411$ ;  $p<0,001$ ) a pozitivno sa transferinom u istoj grupi ( $r=0,254$ ;  $p=0,027$ ). GPx je takođe negativno korelisao sa TAS-om ( $r=-0,314$ ;  $p=0,005$ ) u grupi svih AMD ispitanika, kao i u podgrupi «vlažne» AMD ( $r=-0,346$ ;  $p=0,016$ ), a pozitivnom sa direktnim bilirubinom ( $r=0,734$ ;  $p=0,038$ ) u podgrupi geografske atrofije i sa feritinom u podgrupi rane AMD ( $r=0,500$ ;  $p=0,039$ ), a negativno sa transferinom u podgrupi geografske atrofije ( $r=-0,695$ ;  $p=0,049$ ). GR je pozitivno korelisao sa TAS-om ( $r=0,479$ ;  $p=0,037$ ) a negativno sa feritinom ( $r=-0,441$ ;  $p=0,054$ ) ali samo u KG.

Značajno je takođe, napomenuti da je statistički značajna i negativna korelacija dobijena između SOD-a i starosti u AMD grupi ( $r=-0,285$ ;  $p=0,012$ ), GPx i atarosti ( $r=-0,844$ ;  $p=0,017$ ) i GPx i GR ( $r=-0,865$ ;  $p=0,035$ ) u podgrupi geografske atrofije, a pozitivna korelacija između GR i starosti u podgrupi geografske atrofije ( $r=0,844$ ;  $p=0,039$ ).

Veliki broj korelacija koji je dobijen između ispitivanih parametara govori o tesnim vezama koje postoje između datih parametara, međusobnom uticaju i povezanosti patogenetskih mehanizama koji su u osnovi ove bolesti. Dokazali smo da su enzimski antioksidansi međusobno pozitivno korelisali (SOD & GPx, SOD & GR, GR & GPx) a negativno sa parametrima neenzimskog antioksidantnog sistema zaštite (SOD & TAS, SOD & mokraćna kiselina, GPx & TAS, GPx & transferin, GR & feritin). To nije neobično, jer smo i u našim ranijim radovima pokazali da usled smanjenja antioksidativnog kapaciteta (što može biti posledica nekog patološkog stanja), organizam ponovo nastoji da uspostavi ravnotežu između oksidanasa i antioksidanasa povećanom sintezom drugih raspoloživih antioksidantnih jedinjenja (285). Enzimski antioksidansi su

pozitivno korelisali sa markerima inflamacije, dok su markeri neenzimskog antioksidativnog sistema zaštite negativno korelisali sa markerima inflamacije (TAS & IL-6, albumin & IL-6, direktni bilirubin & CRP). Mokraćna kiselina je pozitivno korelisala sa CRP-om i u AMD i u kontrolnoj grupi, što nas upućuje na zaključak da ovakav način korelisanja nije karakteristika samo degeneracije makule već, pre svega starosti. Ostali neenzimski antioksidansi, „scavengeri“ slobodnih radikala, transferin, feritin i haptoglobin pozitivno su korelisali sa markerima inflamacije, što znači da porast jedne grupe markera dovodi do porasta drugih markera, ali te korelacije nisu uvek bile istog pravca i smera u svim patološkim podgrupama. Paralelne korelacije koje su se javljale u patološkim podgrupama i u kontrolnoj grupi govore da su takve korelacije pre svega svojstvene starosti a ne bolesti. S druge strane, gubitak pojedinih korelacija u podgrupama AMD-a, a koje postoje u kontrolnoj grupi (npr. GPx & IL-6, transferin & fibrinogen, GPx & HDL, TAS & HDL-hol., TAS & HDL<sub>2</sub>-hol., mokraćna kiselina & ukupni holesterol, mokraćna kiselina & LDL-hol) kao i pojavljivanje novih korelacija koje nisu postojale u KG (transferin & ukupni holesterol, transferin & LDL-hol., haptoglobin & HDL-hol., haptoglobin & Apo A<sub>2</sub>, SOD & TAS, SOD & mokraćna kiselina, SOD & transferin, TAS & GPx, GPx & feritin, GPx & transferin itd) govore u prilog promene koncentracija i odnosa između pojedinih parametara, što se može tumačiti kao posledica bolesti tj. AMD-a.

Da su drugačiji međusobni odnosi pojedinih parametara u AMD i kontrolnoj grupi, govore i tabele (od XLV-LII) u kojima su prikazane vrednosti ispitivanih parametara na osnovu rastućih vrednosti lipidnih parametara. Sa porastom koncentracija svih lipoproteina, rastu i koncentracije markera inflamacije i to u obe grupe ispitanika, ali izraženiji porast se svakako dešava u AMD grupi. Porast markera inflamacije ipak nije bio ujednačen u svim podgrupama tako da je izostajala i statistička značajnost, osim u odnosu na rastuće vrednosti ukupnog holesterola (tabela XLV) kada je samo porast CRP-a bio i statistički značajan ( $p=0,015$ ). Parametri antioksidativne zaštite se različito ponašaju sa porastom koncentracija lipoproteinskih makera, u zavisnosti od izabranog lipidnog parametra.

Sa porastom koncentracija ukupnog holesterola, rastu vrednosti SOD-a ali samo u AMD grupi dok u KG padaju, dok se vrednosti GPx-a ponašaju suprotno, padaju u AMD grupi a rastu u KG. Aktivnost GR-a i koncentracije TAS-a pokazuju opadajući trend u obe grupe ali bez statistike značajnosti. Sa rastućim koncentracijama LDL-holesterola GR i GPx imaju tendenciju porasta u obe grupe ispitanika (AMD i KG), SOD pokazuje rastući trend ali samo u KG, dok TAS ima tendenciju opadanja u obe grupe. Pad koncentracija HDL-holesterola prati i aktivnost SOD-a ali samo u AMD grupi, dok u KG, aktivnost SOD-a raste. Aktivnost GPx-a opada u obe grupe sa padom HDL-holesterola, a koncentracija TAS-a raste u obe grupe, dok GR raste u AMD grupi a pada u KG. Koncentracije neenzimskih parametara pokazuju uglavnom opadajući trend sa porastom koncentracija ukupnog, LDL- i HDL-holesterola, ali statistička potvrda je dobijena samo za direktni bilirubin, mokraćnu kiselinu i haptoglobin, a u odnosu na HDL-holesterol i feritin ( $p=0,009$ ).

Iz svega gore navedenog se može takođe zaključiti da postoji veza između tri grupe parametara, ali oblik i smer korelacija, a ponekad i jačina, razlikuje se od kontrolne grupe do AMD grupe, što takođe govori u prilog hipotezi da se njihovi međusobni odnosi menjaju u senilnoj degeneraciji, ili postaju čvršći (veći koeficijent korelacije) ili menjaju smer (promena predznaka koeficijenta) ili se u potpunosti gube u AMD.

Slične rezultate su dobili i drugi istraživači koji su ispitivali ovu problematiku. Venza sa sar. (286) je ispitivao antioksidantne enzime i produkte oksidativne modifikacije kod starijih osoba, njihov uticaj i međusobne korelacije na pojavu senilne degeneracije makule. U grupi od 156 AMD ispitanika sa ranom formom, 152 ispitanika sa kasnom formom AMD-a (80 sa vlažnom AMD i 72 sa geografskom atrofijom) i 207 zdravih ispitanika, starosti od 60–82 godine, dobio je da starost značajno utiče na antioksidativni status i oksidativno oštećenje kod AMD ispitanika u odnosu na kontrolnu grupu. Rezultati tog ispitivanja pokazuju da postoji direktna korelacija između ispitivanih antioksidantnih enzima (SOD, GPx i CAT) a inverzna korelacija ovih enzima sa proizvodima oksidativnog oštećenja. Slične rezultate je dobio i Karaouzene sa

sar. (287) ispitivanjem lipidnog i oksidant/antioksidantnog statusa kod starijih i gojaznih ispitanika u poređenju sa mlađim ispitanicima normalne težine. Ovi istraživači su pokazali da gojazni ispitanici sa većim vrednostima triglicerida, ukupnog-, LDL- i HDL-holesterola imaju znatno niže vrednosti GPx, nezavisno od starosti, dok je aktivnost eritrocitne SOD pokazala zavisnost od starenja, tj. značajno niže vrednosti su dobijene kod starijih i gojaznih u odnosu na mlađe gojazne ispitanike. Inal sa sar. (288) je potvrdio gore pomenute rezultate. On je takođe dobio značajnu negativnu korelaciju između vrednosti SOD-a i starosti a pozitivnu između starosti i aktivnosti CAT, GPx i MDA. Weber sa sar. (289) je takođe dokazao da postoji visoka prevalenca hiperholesterolemije u starijoj populaciji, i da su naročito visoke vrednosti aterogenog LDL-holesterola nađene kod starijih osoba u korelaciji sa niskim vrednostima neenzimskih antioksidanasa (vitamin E) i «protektivnog» HDL-holesterola. U studiji Ridkera i saradnika (290) dokazano je da postoji značajna pozitivna korelacija između aterogenih lipo- i apoproteina; ukupnog holesterola ( $r=0,17$ ), non-HDL-holesterola ( $r=0,27$ ), LDL-holesterola ( $r=0,15$ ) i apo B ( $r=0,29$ ) sa CRP-om, a negativna korelacija CRP-a sa koncentracijom HDL-holesterola ( $r=-0,33$ ) i apo A1 ( $r=-0,19$ ) kod starijih osoba sa povećanim rizikom za kardiovaskularne bolesti. Suprotno gornjim nalazima, Yu sa saradnicima (291), u nastojanju da dokaže hipotezu da AMD i ateroskleroza imaju slične faktore rizika, uspeo da potvrdi da LDL i oks-LDL čestice ali ne i HDL čestice mogu da indukuju staračke promene na retinalnim endotelijalnim ćelijama, ali da te promene ne moraju da budu asocirane sa pojavom makularne degeneracije. Ozer sa sar. (292) je uspeo da pokaže da povišene vrednosti lipoproteinskih parametara: ukupnog, LDL-, non-HDL-holesterola i triglicerida nisu u korelaciji sa stepenom razvoja makularnog edema, ukoliko makularni edem nije asociran sa diabetes mellitusom tipa 2 i povišenim vrednostima HbA1c.

## 5.6. TUMAČENJE ROC KRIVIH ISPITIVANIH PARAMETARA

Primenom ROC krivih za sve ispitivane parametre, želelo se proceniti da li je pomoću primenjenih dijagnostičkih testova, moguće napraviti diskriminaciju između slučajeva sa AMD-om i slučajeva bez AMD-a, i koje bi to bile granične vrednosti (cut-off) ispitivanih parametara koje bi bile optimalne vrednosti za razdvajanje zdravih od bolesnih ispitanika. Primenom ROC krivih za parametre antioksidativne zaštite, dobili smo da su granične vrednosti odlučivanja o prisustvu ispitivane bolesti, za SOD, one vrednosti koje su manje od 1134 U/gHb, za GPx<31 U/L, za GR<55 U/L i za TAS<1,25 mmol/L. Osetljivost dijagnostičkog testa za SOD, koji izražava verovatnoću da će rezultat biti pozitivan (tj. manji od cut-off vrednosti) u slučaju prisustva AMD-a je bila 43,2%, dok je specifičnost tj. sposobnost testa da isključi bolest ukoliko je rezultat negativan (tj. vrednost SOD >1134 U/gHb) iznosila je 69%. Površina ispod krive za SOD je iznosila: AUC=0,531; 95% CI za AUC 0,452–0,609; Z=0,689 pri P=0,492. S obzirom da interval poverenja uključuje i vrednost od 0,5 a primenjeni model nije bio i statistički značajan, ovaj parametar ne može da se koristi kao prediktor bolesti. GPx je na osnovu ROC krive pokazao da je osetljivost testa zadovoljavajuća (73,5%) ali suviše niska specifičnost (41,2%), površina ispod krive AUC=0,578 sa intervalom poverenja od 0,454–0,695, što takođe uključuje vrednost od 0,5, te prema tome ni ovaj parametara nije dobar prediktor bolesti. Veću specifičnost testa je pokazao GR (75%) uz nižu ostljivost (57,6%) i AUC=0,632 sa intervalom poverenja: 95% CI =0,487–0,761, ali ni ove vrednosti nisu dovoljno dobre da bi GR mogao biti dobar prediktor. Za razliku od gore analiziranih parametara, TAS je pokazao da test poseduje zadovoljavajuću osetljivost (71,3%) i specifičnost (75%), sa površinom ispod krive od 0,758 i sa 95% CI od 0,689–0,817, što isključuje vrednost od 0,5, što svrstava ovaj parametar u moguće prediktore AMD-a.

ROC krive za parametre inflamacije pokazale su, da su fibrinogen i IL-6 sa osetljivošću dijagnostičkog testa od 66,7% tj. 44,7% za IL-6, i specifičnošću od 66,3% tj. 78,7% za IL-6, sa površinama ispod krive od 0,668 (95% CI 0,563–

0,762) za fibrinogen i 0,620 (95% CI 0,514–0,718) za IL-6, koje isključuju vrednost od 0,5, uz cut-off vrednosti za fibrinogen od >3,7 g/L i za IL-6>3,5 pg/mL, mogući prediktori AMD-a.

Parametri lipidnog statusa, slično gore analiziranim parametrima, pokazali su se kao slabi mogući prediktori senilne degeneracije makule. Od svih parametara lipidnog statusa, kao najbolji mogući prediktor pokazao se ukupni holesterol, sa osetljivošću testa od 61,5%, specifičnošću od 64,7%, AUC=0,639 (95% CI 0,547–0,724) koja isključuje vrednost od 0,5 i cut-off vrednosti >5,9 mmol/L. Ostali lipidni parametri kao što su: HDL<sub>3</sub>-holesterol, LDL- i non-HDL-holesterol pokazali su zadovoljavajuću specifičnost (84,1%, 72,4% i 87,7%) ali nižu osetljivost (35,9%, 45,5%, i 37%), sa površinom ispod krive od 0,601 za HDL<sub>3</sub>-holesterol (95%CI 0,508–0,698), 0,610 za LDL-holesterol (95% CI 0,518–0,697) i 0,643 za non-HDL-holesterol (95% CI 0,533–0,727) (sve tri površine ne uključuju vrednost od 0,5) sa cut-off vrednostima većim od 0,73 mmol/L za HDL<sub>3</sub>-holesterol, >4,1 mmol/L za LDL-holesterol i >5,03 mmol/L za non-HDL-holesterol, što ih čini slabim mogućim prediktorima AMD-a. Vrednosti triglicerida veće od 1,1 mmol/L, bi mogle da posluže kao mogući prediktor AMD-a jer imaju zadovoljavajuću osetljivost (79,8%) ali nižu specifičnost, površina ispod krive iznosi 0,612, 95% CI 0,520–0,699 koja ne uključuje vrednost od 0,5.

Od ispitivanih parametara antioksidativne zaštite, ROC kriva je pokazala da se samo albumin, mokraćna kiselina i feritin mogu koristiti kao mogući prediktori AMD-a. Dijagnostički test za albumin je pokazao osetljivost od 55%, specifičnost od 77%, površina ispod krive 0,677 (95% IP 0,603–0,745; Z=4,73; P=0,0001) i cut-off vrednosti od 43 g/L. Za mokraćnu kiselinu osetljivost dijagnostičkog testa je bila 66,1%, specifičnost 54,7%, površina ispod krive 0,618 (95%IP 0,543–0,690; Z=2,83; P=0,005), što isključuje vrednost od 0,5, sa graničnim vrednostima razdvajanja od 290 µmol/L, dok za feritin, osetljivost testa je bila 53,1%, specifičnost 69%, AUC=0,615 (95% IP 0,539–0,687; Z=2,74; P=0,006) i granicom odlučivanja od 55 µg/L.

## 5.7. TUMAČENJE ASOCIJACIJA IZMEĐU POJAVE SEILNE DEGENERACIJE MAKULE I ISPITIVANIH PARAMETARA

Osim utvrđivanja cut-off vrednosti ispitivanih parametara i mogućnost njihovog korišćenja kao prediktore degeneracije makule u starijoj populaciji, cilj ovog istraživanja je bio da se odredi povezanost svakog parametra sa osnovnom bolešću, tj. da se ispita verovatnoća pojavljivanja bolesti ukoliko ispitanik ima veće ili manje vrednosti datih parametara u odnosu na utvrđene cut-off vrednosti. Za tu svrhu korišćena je univarijantna logistička regresiona analiza i vrednost OR (Odds Ratio), koja predstavlja pravu meru asocijacija (povezivanja) između varijabli. Na taj način je dokazano da su svi ispitivani markeri inflamacije bili povezani sa nastankom bolesti, a naročito one vrednosti koje su bile veće od utvrđenih cut-off vrednosti. Tako npr. vrednosti IL-6 > 3,5 pg/mL pokazuju 1,38–7,45 puta veću verovatnoću pojavljivanja bolesti (OR: 3,21; 95% CI 1,38–7,45; P=0,005) u odnosu na one vrednosti koje su ispod ovih cut-off vrednosti. Vrednosti fibrinogena veće od 3,7 g/L daju 3,93 puta veću verovatnoću (OR: 3,93; 95% CI 1,82–8,48; P=0,000), a vrednosti CRP > 8,2 mg/L, čak skoro 20 puta veću verovatnoću (OR: 19,88; 95% CI 2,62–151,1; P<0,000) nastanka AMD u odnosu na one vrednosti koje su niže od ovih cut-off vrednosti.

Od ispitanih parametara enzimske antioksidativne zaštite, sa osnovnom bolešću su povezane samo vrednosti GR koje su niže od 55 U/L (OR: 4,08; 95% IP 1,30–12,71; P=0,01), dok od neenzimskih parametara značajno povezani su TAS, albumin, mokraćna kiselina, haptoglobin, direktni bilirubin i feritin. Niže vrednosti TAS-a daju preko 7 puta veću verovatnoću da ispitanici razviju AMD, dok oni ispitanici koji imaju vrednosti TAS-a niže od utvrđenih cut-off vrednosti od 1,25 mmol/L imaju 193 puta veću šansu da dobiju AMD (OR: 193,2; 95% IP 27,7–1349,1; P<0,000) u odnosu na one ispitanike sa većim vrednostima TAS-a. Ispitanici sa vrednostima albumina nižim od 43 g/L imaju skoro 4 puta veće šanse (OR: 3,95; 95% IP 2,12–7,39; P<0,000) da razviju AMD,

dok ispitanici sa nižim vrednostima feritina ( $<55,7 \mu\text{g/L}$ ) (OR; 2,52; 95% IP 1,37–4,62;  $P=0,002$ ), skoro 3 puta veće šanse, isto kao i ispitanici sa vrednostima direktnog bilirubina nižim od  $1 \mu\text{mol/L}$  (OR; 2,99; 95% IP 1,06–8,48;  $P=0,027$ ) dok ispitanici sa nižim vrednostima mokraćne kiseline ( $<290 \mu\text{mol/L}$ ) (OR: 2,15; 95% IP 1,21–3,83;  $P=0,009$ ) i haptoglobina ( $<1,51 \text{g/L}$ ) (OR: 1,94; 95% IP 1,05–3,56;  $P=0,031$ ) imaju 2 puta veće šanse da razviju bolest u odnosu na one ispitanike sa većim vrednostima ovih parametara, što ukazuje na značajnu ulogu ovih parametara u očuvanju antioksidativne zaštite organizma, i da njihov nedostatak može biti povezan sa nastankom senilne degeneracije makule.

Primenom logističke regresione analize dokazali smo da povećane vrednosti lipoproteinskih parametara povezane su sa nastankom AMD-a. Tako npr., dokazali smo da su ispitanici sa većim vrednostima ukupnog holesterola (iznad cut-off vrednosti od  $5,9 \text{mmol/L}$ ) (OR: 2,42; 95% IP 1,30–4,50;  $P=0,005$ ), kao i oni koji imaju LDL-holesterol iznad  $4,1 \text{mmol/L}$  (OR: 2,33; 95% IP 1,23–4,39;  $P=0,008$ ) non-HDL-holesterol  $>5,0 \text{mmol/L}$  (OR:3,00; 95% IP 1,28–7,00;  $P=0,006$ ), HDL<sub>3</sub>-holesterola  $>0,73 \text{mmol/L}$  (OR: 2,51; 95% IP 1,17–5,35;  $P=0,016$ ) imaju u proseku 2-3 puta veću verovatnoću da dobiju AMD, dok oni ispitanici sa vrednostima triglicerida preko  $1,1 \text{mmol/L}$  imaju skoro 5 puta veću verovatnoću da dobiju AMD (OR: 4,72; 95% IP 1,11–20,1;  $P=0,013$ ) u odnosu na one ispitanike sa nižim vrednostima triglicerida. Ovim smo potvrdili ranije postavljene teorije da su lipoproteini značajni faktori rizika za nastanak AMD-a i da ova bolest kao i ateroskleroza (a po nekim autorima i Alzheimerova bolest) deli istu patofiziološku osnovu tj. sličan mehanizam nastanka bolesti, koji predviđa zadebljanje Bruchove membrane, (bazalne membrane kod ateroskleroze), nakupljanje lipoproteina ispod Bruchove membrane, (intima i medijia krvnih sudova i formiranje penastih ćelija), aktivacija inflamatornih citokina i raznih faktora rasta, formiranje bazalnih depozita i druza i dalji razvoj bolesti u pravcu suve-geografske atrofije ili «vlažne» horoidne neovaskularizacije (265). U tom slučaju ovakvi nalazi su u suprotnosti sa teorijama koje govore da su lipidi prisutni u Bruchovoj membrani neovaskularnog porekla, i da najverovatnije nastaju kao produkt metabolizma RPE



ćelija i da su upravo ovi lipoproteini zaslužni za nastanak bolesti a ne akumulacija vaskularnih lipoproteina.

Slično našim nalazima, Cohen sa sar. (181) je dokazao da postoji značajna asocijacija između antioksidantnih enzima i AMD-a. Oni su našli da osobe sa nižim vrednostima GR-a (OR:1,63; 95% IP 1,0–8,0, P=0,05) i GPx-a (OR:1,36; 95% IP 1,0–2,0) imaju veće šanse da razviju AMD u odnosu na one osobe sa normalnim vrednostima ovih enzima. Evans sa sar. (293) je otišao jedan korak dalje pa je u svojoj studiji (meta analiza) koja je obrađivala 3 kliničke studije i rezultate ispitivanja više od 23 000 ispitanika, pokazao da disbalans između oksidanasa i antioksidanasa koji se fiziološki javlja sa starenjem jedinke, može da se popravi antioksidantnom suplementacijom, koja na taj način, može smanjiti rizik za razvoj AMD-a, pa čak može smanjiti progresiju kasne forme AMD-a i gubitak vida (OR:0,77; 95% IP 0,62–0,96). Naši nalazi su u skladu sa rezultatima Ramana i sar. (293) koji je dokumentovao da su povišene vrednosti ukupnog serumskog holesterola (OR:9,09), LDL-holesterola (OR: 2,72) i non-HDL-holesterola (OR:1,99) značajno asocirane sa razvojem makularnog edema. Van Leeuwen sa sar. (250) je dobio u Rotterdam Studiji da je samo koncentracija HDL-holesterola asocirana sa razvojem AMD-a a ne i povišene koncentracije drugih lipoproteina (OR:1,20; 95% IP 1,06–1,35), dok je Klein sa sar. (251) potvrdio ove nalaze van Leeuvena i dokazao da su povišene vrednosti HDL-holesterola bile asocirane sa razvojem geografske atrofije (OR:1,29; 95% IP 1,05–1,58; P=0,01). Schaumberg sa sar. (294) je u desetogodišnjoj, multicentričnoj studiji praćenja, koja je obradila preko 275 000 ispitanika, dobio da veću verovatnoću da razviju AMD imaju osobe sa većim vrednostima hsCRP-a (OR:3,09; 95% IP 1,39–6,88; P=0,02) i fibrinogena (OR:2,01; 95% IP 1,07–3,75) u odnosu na one ispitanike sa nižim vrednostima ovih parametara. Klein sa sar. (295) je u multicentričnoj, populacionoj studiji preseka na 5887 ispitanika, starosti 45-85 god., dokazao da su hsCRP (OR:2,34; 95% IP 1,33–4,13) i IL-6 (OR:2,06; 95% IP 1,21–3,49) bili visokoznačajno asocirani samo sa razvojem geografske atrofije a ne i ostalih formi AMD-a, dok su osobe bele, crne

i hispano rase sa SNP CFH Y402H (C>T genotip) imale veću verovatnoću da razviju ranu formu AMD-a u odnosu na T-T genotip.

## 5.8. TUMAČENJE REZULTATA MULTIPLE REGRESIONE ANALIZE

U ovoj studiji, mi smo otišli korak dalje od ostalih autora, pa smo osim asocijacija hteli da ispitamo i mogućnost predikcije bolesti pomoću sniženih ili povišenih vrednosti pojedinih parametara. Koristeći više, različitih statističkih modela, primenom multiple regresione analize dokazali smo da su markeri inflamacije izuzetno dobri mogući prediktori AMD-a, naročito povišene vrednosti CRP-a, IL-6 i fibrinogena i to one vrednosti koje se nalaze iznad utvrđenih „cut-off“ vrednosti tj. CRP>8,2 mg/L, IL-6>3,5 pg/mL i fibrinogen>3,7 g/L. Upotrebom klasnih intervala pojedinih markera inflamacije kao nezavisne varijable, u modelu gde su zavisne varijable svi ispitanici (AMD i KG) objasnili smo 75%–87% slučajeva sa dodatnim varijabilitetom od 75% (za fibrinogen) do 87% (za IL-6) pripadnost određenoj grupi. Na taj način smo dokazali da je u tom statističkom modelu (koji je bio značajan  $p<0,001$ ) najjači prediktor AMD-a bio IL-6 ( $\beta=0,932$ ), zatim CRP ( $\beta=0,893$ ) i na kraju fibrinogen ( $\beta=0,868$ ).

Antioksidantni parametri su se takođe pokazali kao dobri mogući prediktori AMD-a (ali slabiji od markera inflamacije) ali samo kada se koriste u statističkom modelu zajedno sa parametrima inflamacije. Koristeći 3 različita statistička modela ponderisana klasnim intervalima pojedinih markera inflamacije (veće i manje vrednosti od cut-off vrednosti), u kojima su zavisne varijable bili svi ispitanici iz AMD i KG, a nezavisne varijable parametri antioksidantne zaštite, pokazali smo, da se kao dobar mogući prediktor AMD-a u svakom modelu izdvojio TAS. To znači da TAS može da posluži kao dobar mogući prediktor AMD-a, u onim slučajevima kada figuriraju veće vrednosti CRP-a (CRP>8,2 mg/L;  $\beta=0,448$ ), povišene vrednosti IL-6 (IL-6>3,5 pg/mL;  $\beta=0,487$ ) ili veće vrednosti fibrinogena (>3,7 g/L;  $\beta=0,454$ ). U sličnom

statističkom modelu koristeći iste zavisne varijable i iste pondere ali različite antioksidanse, tj. parametre neenzimske antioksidantne zaštite, u modelu gde se kao ponder koristio klasni intervali CRP-a (manje i veće od 8,2 mg/L) kao slabi ali mogući prediktori AMD-a su se izdvojili mokraćna kiselina ( $\beta=0,297$ ;  $p=0,0048$ ), feritin ( $\beta=0,258$ ;  $p=0,029$ ) i albumin ( $\beta=0,203$ ;  $p=0,018$ ). U statističkom modelu u kojem se kao ponder koristio IL-6 sa klasnim intervalima većim i manjim od utvrđenih cut-off vrednosti kao jedini mogući prediktor AMD- izdvojila se mokraćna kiselina ( $\beta=0,375$ ;  $p=0,001$ ). Upotrebom fibrinogena kao pondera u statističkom modelu gde su nezavisne varijable bili neenzimski antioksidansi a, zavisne varijable ispitanici iz obe grupe, nije se izdvojio nijedan mogući prediktor AMD-a.

Koristeći iste statističke modele u kojima su zavisne varijable ispitanici sa AMD-om i kontrolna grupa, a nezavisne varijable lipoproteinski parametri, ponderisan klasnim intervalima markera inflamacije, nije se izdvojio nijedan mogući prediktor AMD-a.

## 5.9. ASOCIJACIJA POLA, BMI, HTA, PUŠENJA i DM2 SA SENILNOM DEGENERACIJOM MAKULE

### 5.9.1. Asocijacija pola sa senilnom degeneracijom makule

Naše ispitivanje je pokazalo da postoje značajne razlike u vrednostima kako antioksidantnih parametara (SOD, GPx, TAS, albumin, feritin, transferin, direktni bilirubin, mokraćna kiselina) tako i lipo- i apoproteinskih parametara (ukupni-, HDL-, LDL-, non-HDL-holesterola, subfrakcija HDL-holesterola, Apo A1 i Apo E) između muškaraca i žena. U ovoj studiji dokazano je da su žene značajno češće (>70%) oboljevale od AMD-a u odnosu na muškarce. Žene iz ispitivanih grupa nisu koristile supstytucionu hormonsku terapiju. Postoji mišljenje da gubitak protektivnog efekta estrogena na Bruchovu membranu kod postmenopauzalnih žena uzrokuje veću incidencu AMD -neovaskularne forme kod starijih žena u odnosu na muškarce. Stoga je Cousins i sar. (297) predložio

tumačenje da deficit estrogena može prouzrokovati povećanu podložnost nastanku sub-RPE depozita usled poremećaja regulacije metaboličkog obrta Bruchove membrane. Dosadašnje studije su pokazale da je AMD 2 puta prevalentnija kod satrijih postmenopauzalnih žena u poređenju sa muškarcima iste starosne dobi. Nižu aktivnost SOD-a, a veću koncentraciju proizvoda oksidativne modifikacije proteina i lipida (8-OHdG, MDA, proteinskih karbonila i uznapredovanih proizvoda oksidacije proteina) našao je Cakatay sa sar. (298) kod ostarelih ženki pacova u odnosu na ostarele mužjake, dok se vrednosti GPx i CAT nisu značajno razlikovale između dve ispitivane grupe

Do sada je serija epidemioloških studija sprovedena, koje sugerišu da nedostatak estrogena kod post-menopauzalnih žena može doprineti nastanku i razvoju AMD-a (299, 300). Nedavno je studija pod nazivom «Women's Health Initiative Sight Exam Study» sprovedena sa ciljem da se ispita da li lečenje žena preparatima estrogena može uticati na pojavu AMD-a, pokazala da lečenje žena preparatima estrogena i njihovih konjugovanih derivata i progesteronom, ne utiču na pojavu rane forme AMD-a, ali mogu da smanje rizik nastanka mekih druzi i vlažne forme AMD-a (301). Nekoliko drugih studija je pokazalo da postoji smanjen rizik za AMD kod žena koje su dobijale supstitucionu terapiju estrogenima u postmenopauzalnom dobu. Fiziološko dejstvo estrogena je posredovano efektima koji nastaju vezivanjem estrogena za dva tipa receptora: ER $\alpha$  i ER  $\beta$ . Dokazano je da su oba tipa receptora prisutna i aktivna na RPE ćelijama izolovanih u humanom oku muškaraca i žena, i da mutacije gena za ER $\alpha$  može prouzrokovati veću incidencu kasne (vlažne) forme AMD-a (299). Cousins sa sar. (297) je dokazao da nedostatak estrogena kod starih ženki C57B/6 miša dovodi do zadebljanja Bruchove membrane sa formiranjem depozita ispod sloja RPE, što prethodi procesu stvaranja druzi i nastanku AMD-a, i da su te promene Bruchove membrane izraženije kod ženki miša nego kod mužjaka. Souied sa sar. (302) je pokazao da osobe koje imaju  $\epsilon$ 2 genotip Apo E (c526C>T) imaju 4,8 puta veći rizik za nastanak AMD-a. Ovakve promene su ovi istraživači dokazali isključivo kod žena, što upućuje na to da su

osobe ženskog pola pod većim rizikom za nastanak AMD-a od muškaraca iste starosne dobi.

Ipak, dosadašnji epidemiološki podaci nisu pokazali protektivni efekat reproduktivne istorije ili supstitucione terapije hormonima na AMD. Rotterdam studija je pokazala da su žene sa prevremenom menopauzom, nakon operativnog uklanjanja jajnika imale značajno povećan rizik za nastanak kasne AMD (303). Podaci iz EDCCS (304) studije su pokazali da je verovatnoća za nastanak AMD-a za 70% smanjena kod žena koje su uzimale supstitucionu terapiju za vreme trajanja studije u poređenju sa ženama koje nisu to uzimale. Za razliku od ove studije, podaci iz Beaver Dam, Blue Mountains i Rotterdam Eye Study pokazuju da supstituciona hormonska terapija nije povezana sa petogodišnjom incidencom kasne AMD (305–307).

### 5.9.2. Asocijacija hipertenzije sa senilnom degeneracijom makule

Naše ispitivanje je pokazalo da hipertoničari koji imaju AMD, imaju znatno niže vrednosti GR-a, TAS-a, albumina i mokraćne kiseline, a veće vrednosti fibrinogena, ukupnog-, LDL- i non-HDL-holesterola u odnosu na hipertoničare iz kontrolne grupe. S obzirom da su ovi parametri ključni faktori rizika za razvoj AMD-a, jasno je zašto je hipertenzija jedan od najčešće ispitivanih faktora rizika za nastanak AMD-a. Mada, epidemiološki podaci nisu konzistentni, jer neke studije pokazuju povezanost (304, 308) a neke ne (306).

Fraser-Bell sa sar. (141) je u populacionoj studiji (The Los Angeles Latino Eye Study) u kojoj su ispitani uticaji raznih kardiovaskularnih faktora rizika na nastanak senilne degeneracije makule, u grupi od 5875 ispitanika starijih od 60 godina, metodama logističke analize, uspeli su da dokažu značajnu asocijaciju AMD-a i dijastolnog krvnog pritiska (OR:1,8; 95%CI 1,1–2,8), a naročito nekontrolisanog dijastolnog krvnog pritiska (OR:3,3; 95%CI 1,2–9,3), kao i asocijaciju gojaznosti sa AMD-om (OR: 1,6; 95%CI 1,0–2,3), dok je snižen intraokularni pritisak bio asociran sa nastankom geografske atrofije (OR:0,4;

95%CI 0,3–0,5). Asocijacija povišenog krvnog pritiska i AMD je dobro dokumentovana u raznim populacionim studijama. Tako npr. u Framingamskoj studiji (The Framingham and Eye Studies) dokazana je značajna asocijacija između povišenog krvnog pritiska i pojave AMD-a (309).

U Beaver Dam Studiji, osobe koje su lečene i kontrolisane zbog hipertenzije imale su dva puta veći rizik za nastanak eksudativne AMD nakon 10 god. u odnosu na normotenzivne, dok su osobe sa nekontrolisanom HTA imale 3 puta veći rizik za nastanak eksudativne AMD u istom periodu praćenja. S druge strane, povećanje sistolnog pritiska tokom prvih 5 godina praćenja bilo je povezano sa povećanom incidencom kasne AMD u narednih 5 godina u poređenju sa osobama kojima je sistolni pritisak bio snižen (310). U case-control studiji, Hyman-a i sar. utvrđeno je da osobe iz grupe sa neovaskularnom formom AMD-a imaju češće povišen dijastolni krvni pritisak (češće preko 95 mmHg) u odnosu na kontrolnu grupu (OR 4,4; 95%CI 1,4–14,2) (311). U Eye Disease Case-Control Study (EDCCS) (304) utvrđena je značajna povezanost između sistolnog pritiska i neovaskularne forme AMD (OR 1.7; 95% CI 1,0–2,8 za sistolni pritisak >155 mmHg u poređenju sa sistolnim krvnim pritiskom <118 mmHg). U AREDS studiji (308), osobe sa hipertenzijom su 1,5 puta češće imale neovaskularnu AMD (95% CI 1,2–1,8) u poređenju sa normotenzivnim osobama. U Macular Photocoagulation Study (312), postojanje sistemske hipertenzije na početku studije bilo je povezano sa razvojem CNV (horoidalna neovaskularizacija) na drugom nezahvaćenom oku (OR 1.7; 95% CI 1,2–2,4).

U Beaver Dam Studiji (306) viši pulsni pritisak (razlika između sistolnog i dijastolnog pritiska) na početku studije bio je povezan sa povećanjem desetogodišnje incidence neovaskularne AMD (RR 1.3; 95%CI 1.14–1,6; P<0.001) i progresijom AMD (RR 1.08; 95% CI 1.01–1.17 P=0.03). Povećan pulsni pritisak je verovatno povezan sa smanjenjem elastičnosti arterija, što za posledicu ima povećanje razlike između sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska.

Santos, u svojoj studiji (313), rađenoj na 200 dobrovoljaca starijih od 55 god., nije našao nikakvu asocijaciju između AMD-a i hipertenzije (p=0,198), dok je Simić sa sar. (314), dokazao da pacijenti sa gradusom 2 i 3 esencijalne

hipertenzije imaju niže vrednosti SOD-a i CAT koji su značajno negativno korelisali sa sistolnim i dijastolnim krvnim pritiskom ( $r=-0,331$ ;  $p<0,05$ ;  $r=-0,365$ ;  $p<0,05$ ) a veće vrednosti GPx koji je pozitivno korelisao sa vrednostima krvnog pritiska ( $r=0,328$ ;  $p<0,05$ ).

Opšte je poznato da se oksidativni stres pojačava sa starenjem i da je povezan s hipertenzijom. Antioksidativni tretman (lečenje) pojačava antioksidativni sistem zaštite. S toga je Rybka sa saradnicima (315) ispitao vezu između starenja i nekih markera oksidativnog stresa kod starijih koji boluju od hipertenzije u komparaciji sa zdravim ispitanicima. Parametri oksidativnog stresa su izmereni preko koncentracije glutationa, i aktivnosti enzima GPx, GR, CAT i Cu,Zn-SOD u eritrocitima u korelaciji sa starošću. Dokazao je, da je najeksplicitnije opadanje aktivnosti sa starenjem pokazao SOD kako u ispitanika sa hipertenzijom tako i u kontrolnoj grupi. Prosečne vrednosti SOD-a su bile značajno veće u HTA grupi nego u KG, kao i prosečne vrednosti GSH i GR. Zaključak autora je bio da starenje izaziva značajnu promenu aktivnosti SOD-a, ali da to opadanje aktivnosti nije modulirano postojanjem hipertenzije niti uzimanjem terapije za lečenje hipertenzije. Veće vrednosti GSH i GR u hipertoničara u odnosu na KG ukazuju na značajnu ulogu metabolizma glutationa u patogenezi hipertenzije, a takođe i na ulogu antihipertenzivne terapije.

U radu Langlois-a i sar. (316), koncentracija mokraćne kiseline je bila znatno veća u pacijenata sa hipertenzijom ali bez periferne arterijske bolesti u poređenju sa normotenzivnim osobama. Ova grupa istraživača je uspela da dokaže da su koncentracije mokraćne kiseline i CRP-a, zajedno sa starošću i pušenjem nezavisno asocirani sa hipertenzijom.

### 5.9.3. Asocijacija senilne degeneracije makule sa indeksom telesne mase

U ovoj studiji smo pokazali da sa porastom indeksa telesne mase javljaju se razlike u vrednosti TAS-a, albumina, feritina, mokraćne kiseline, IL-6, ukupnog i non-HDL-holesterola i triglicerida. Sa porastom BMI, ispitanici iz kontrolne grupe imali su veće vrednosti TAS-a ( $p < 0,0001$ ), albumina ( $p = 0,002$ ), feritina ( $p = 0,001$ ) i mokraćne kiseline ( $p < 0,001$ ) u odnosu na pripadajuće BMI podgrupe u grupi pacijenata sa senilnom degeneracijom. Primećeno je da u AMD grupi, sa rastućim vrednostima BMI, postoji tendencija rasta vrednosti albumina, haptoglobina, feritina, CRP-a i fibrinogena (Tabela LXXVI), kao i u KG, s tim da je veći porast vrednosti ovih parametara dobijen u KG nego u AMD grupi.

Veće vrednosti lipidnih parametara po rastućim vrednostima BMI su dobijene u AMD grupi u odnosu na odgovarajuću podgrupu kontrolne grupe. Sa rastućim vrednostima BMI, rastu i vrednosti non-HDL-holesterola i triglicerida u obema grupama a opadaju vrednosti ukupnog HDL-holesterola i subfrakcije HDL<sub>3</sub>-holesterola

Postojanje asocijacije između BMI i AMD je do sada dosta ispitivano. Smatra se da osobe koje su gojazne imaju povišen oksidativni stres, veće oksidativno oštećenje i veći stepen inflamacije (povišeni markeri inflamacije) i samim tim veći rizik za nastanak AMD-a.

U Beaver dam Eye Study (306) je pokazano da postoji značajna asocijacija između povišenih vrednosti BMI, odnosa struk-kuk i pojave rane forme AMD-a kod žena, dok je u Blue Mountain Eye Study, dokazano da postoji povišen rizik za ranu formu AMD-a kod osoba koji imaju BMI iznad dozvoljenog opsega (302). Nijedna od ovih studija nije potvrdila asocijaciju između visokih vrednosti BMI i pojave kasne forme AMD-a. Slično ovim studijama i POLA Studija (Pathologies Oculaire Liees a l'Age) sprovedena u Francuskoj, potvrdila je povišen rizik za nastanak kasne forme AMD kod osoba koje imaju prekomernu telesnu težinu (313). AREDS studija je pokazala da postoji značajna asocijacija između BMI i neovaskularne AMD i geografske atrofije. U follow-up studiji, u



kojoj je prosečno vreme praćenja bilo 6,3 godine, u grupi od 788 ispitanika koji su imali povećan rizik za nastanak AMD-a, dokazano je da je veći BMI povezan sa incidencom geografske atrofije (OR:1,93; 95% IP 1,25–2,65) (314). Fraser-Bell sa sar. (304) je takođe potvrdio da među 6000 Latino ispitanika, ispitani na faktore rizika za AMD, BMI je bio asociran sa nastankom anomalija retinalnog pigmentnog epitela, dok je povezanost BMI i rane forme AMD-a bila na granici značajnosti. Suprotno ovim studijama, Moeini i sar (315) na manjoj grupi od 50 AMD ispitanika, nije uspeo da dokaže bilo kakvu povezanost gojaznosti sa incidencom AMD-a. Santos, u svojoj studiji (309), rađenoj na 200 dobrovoljaca starijih od 55 god., našao je značajnu asocijaciju između gojaznosti (BMI) ( $p<0,001$ ), ženskog pola ( $p=0,045$ ) i prisustva katarakte ( $p=0,044$ ) i incidence AMD-a.

#### **5.9.4. Asocijacija AMD-a sa diabetes mellitusom tipa 2 (DM2)**

U našoj studiji smo pokazali da AMD ispitanici sa tipom 2 DM imaju i značajno niže vrednosti TAS-a ( $p<0,000$ ), feritina ( $p=0,06$ ), mokraćne kiseline ( $p=0,031$ ), a znatno veće vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0,016$ ), LDL-holesterola ( $p=0,09$ ), non-HDL-holesterola ( $p=0,016$ ) i triglicerida ( $p<0,001$ ) u odnosu na dijabetičare iz kontrolne grupe. Dijabetičari iz AMD grupe imali su i znatno niže vrednosti ukupnog HDL-holesterola kao i subfrakcije HDL<sub>2</sub>-holesterola u odnosu na nedijabetičare iz iste patološke grupe.

U studiji Fraser-Bell-a nije pronađena nikakva asocijacija između pojave AMD i diabetesa mellitusa (141), kao ni u studijama: Colorado-Wisconsin Study of Age-related Maculopathy (320), američka studija- National Health and Nutrition Examination Survey III (321) i Cardiovascular Health Study (322) dok je u AREDS studiji (318), Beaver Dam Eye Study (323) i Blue Mountain Eye Study (324) potvrđena ovakva asocijacija. Smatra se da prisustvo DM u različitim populacijama može imati različit uticaj na pojavu AMD.

Clemons sa sar. (318), je u AREDS studiji, ispitujući faktore rizika za AMD u grupi od preko 3 000 ispitanika od kojih je 788 imalo kasnu formu AMD-a na jednom oku, dok je preostalih 2 506 imalo visok rizik za nastanak AMD-a, našao visoku asocijaciju između AMD-a i dijabetesa (OR: 1,88; 95%CI 1,07–3,31), a naročito je BMI bio povezan sa incidencom geografske atrofije. Choi sa sar. (325) je ispitao grupu od 3 008 ispitanika, starosti između 50 i 88 godina i našao je, da je kod 88 ispitanika prisutna AMD a u grupi od 315 ispitanika prisutna DM2. Metodama logističke regresione analize dokazao je da su dijabetičari tipa 2 češće bolovali od AMD-a u odnosu na nedijabetičare. U ovoj studiji je dokazano da je diabetes tip 2 češće asociran sa ranom formom AMD-a (OR:1,87; 95% IP 1,07–3,28). Suprotno od ove studije, Klein sa sar. (323) nije pronašao nikakvu asocijaciju između dijabetesa i rane forme AMD-a, ali je zato našao da starije osobe (starije od 75 godina) koje su bolovala od dijabetesa imale veću frekvenciju eksudativne (vlažne) forme AMD-a (9,4% )u odnosu na one osobe bez dijabetesa (4,7%). Ova studija je pokazala da je relativni rizik za pojavu eksudativne forme AMD-a kod starijih muškaraca sa diabetesom (stariji od 75 god.), bio veći (RR=10,2; 95% IP 2,4–43,7) u odnosu na žene sa DM2 (RR:1,1; 95% IP 0,4–3,0). Choundhury sa sar. (326) je u jednoj studiji praćenja koja je trajala 4 godine sa namenom da utvrde faktore rizika za AMD, pronašao je, da je diabetes mellitus tip2, nezavisno povezan sa incidencom povećane pigmentacije RPE ćelija, tj. sa promenama koje su svojstvene ranim formama AMD-a. Tan sa sar. (327) koristeći podatke iz Blue Mountains Eye Study, pokazao da prisustvo dijabetesa može da predskazuje incidencu geografske atrofije (RR: 3,89; 95% IP 1,36–11,08) ali ne i neovaskularne forme AMD-a. S druge strane, ova grupa autora nije uspela da dokaže bilo kakvu vezu između povišenog krvnog pritiska i incidence AMD-a, ali su uspeli da dokažu da povišeni lipoproteini mogu biti prediktori AMD-a naročito kasne forme. Oni su našli da su povećane koncentracije HDL-holesterola inverzno asocirane sa incidencom kasne AMD (RR:0,74; 95% IP 0,56–0,99), dok je odnos ukupni/HDL-holesterol, prediktor kako kasne-eksudativne forme AMD-a (RR:1,35; 95% IP 1,07–1,70) tako i geografske atrofije (RR:1,63; 95% IP 1,18–2,25).

U AREDS studiji, Chin sa sar. (328) u kohortnoj studiji na 4099 ispitanika starosti od 55–80 god., dokazao je da osobe sa većim glikemijskim indeksom, a nisu dijabetičari) imaju veće šanse da razviju konfluentne druze, geografsku atrofiju, pa čak i horoidalnu neovaskularizaciju u odnosu na osobe sa nižim glikemijskim indeksom (OR: 1,42; 95% IP 1,09–1,84). Oni su uspeli da dokažu povezanost težine AMD-a i glikemijskog indeksa ( $p < 0,001$ ). Osobe sa većim glikemijskim indeksom imaju 49% veći rizik da dobiju geografsku atrofiju u odnosu na one sa nižim glikemijskim indeksom. Ovi sutori sugerišu da smanjenje glikemijskog indeksa koji predstavlja „novi“ faktor rizika za AMD koji se može modifikovati, može se uticati na smanjenje rizika za nastanak AMD-a.

#### **5.9.5. Asocijacija senilne degeneracije makule sa pušenjem**

Pušenje cigareta smatra se najjačim faktorom rizika okoline za nastanak AMD-a. Epidemiološki podaci iz Beaver Dam Eye studije ukazuju na to da pušenje je udruženo sa nastankom rane AMD i progresijom bolesti u odnosu na nepušače (306). Clemons sa saradnicima (318) je pronašao u ARED studiji, da pušenje utiče na razvoj rane forme AMD-a do uznapredovane forme. Khan sa sar. (329) je takođe potvrdio ovaj dokaz i dokazao da se sa povećanjem pušačkih godina povećava i rizik za nastanak AMD-a, tako da osobe koje su pušile 40 i više godina po 1 kutiju cigareta dnevno, imaju 2,75 puta veći rizik za AMD-om u odnosu na nepušače, i to veći rizik za nastanak geografske atrofije (OR: 3,43; 95% IP 1,28–9,29) nego za nastanak vlažne forme AMD-a (OR: 2,49; 95% IP 1,06–5,82). Ova grupa autora je pokazala da prestanak pušenja smanjuje rizik za razvoj AMD-a, naročito kod osoba koje su prestale da puše pre više od 20 godina (329).

RPE ćelije predstavljaju target ćelije delovanja štetnih materija iz dima cigareta koje dovode do raznih patoloških promena na nivou RPE ćelija. Mitchell je pokazao u Blue Mountain studiji da je pušenje udruženo sa

povećanim rizikom za nastanak raznih abnormalnosti RPE ćelija (330). U AREDS studiji, dokazano je, da je pušenje povezano sa nastankom geografske atrofije, što je okarakterisano atrofijom RPE ćelija, uzrokovano apoptozom i smrću ćelija (318). Dim cigareta predstavlja jak oksidans koji u sebi sadrži 4 700 raznih hemijskih jedinjenja. Neka od tih jedinjenja mogu izazvati i oštećenja DNK. U radu Fujihare, korišćeno je prisustvo vakuola koji se smatra sekundarnim znakom promena u RPE ćelijama i stvaranja druza (331). Ovaj autor smatra da intenzitet sinteze slobodnih radikala pušenjem, utiče na nastanak ultrastrukturnih promena (oštećenja) RPE ćelija. Primenom TUNEL eksperimenata dokazano je da miševi koji su bili izloženi dimu cigareta imaju izraženiju apoptozu RPE ćelija.

Delacourt sa sar. (332) je u sklopu POLA studije takođe dokazao da postoji povećan rizik za AMD među pušačima, naročito među onima koji su aktivni pušači više od dvadeset godina, ali manje od 40 god. (OR:3,2, 95% IP 1,3–3,7), ali da svakako najveći rizik nose pušači sa dužim pušačkim stažom (>40 god.) (OR:5,2, 95% IP 2,0–13,6). Oni su našli da prestanak pušenja nosi takođe određeni rizik za nastanak AMD-a, i da je taj rizik veći kod onih pušača koji su prestali da puše pre 10 godina (OR:9,0; 95% IP 3,0–27,0) u odnosu na one bivše pušače koji su prestali da puše špre 10-19 godina (OR:4,0; 95% IP 1,3–12,0). Martin-Timon sa sar. (333) je dokazao u studiji koja je obuhvatila 126 ispitanika (52 pušača i 74 nepušača), da je pušenje, zajedno sa gojaznošću (BMI) povezano (asocirano) sa većim vrednostima triglicerida ( $r=0,245$ ;  $p=0,007$ ) i insulinskom rezistencijom ( $r=0,628$ ;  $p<0,001$ ).

## 6. ZAKLJUČCI

Na osnovu svega izloženog može se zaključiti sledeće:

1. Da se prosečne vrednosti SOD-a značajno ne razlikuju između AMD i KG, mada su značajno veće vrednosti dobijene u podgrupama rane AMD i geografske atrofije (GA) u odnosu na KG, ali je samo u podgrupi GA dobijena i statistička potvrda ( $p=0,049$ ).
2. Da se prosečne vrednosti GPx nisu značajno razlikovale u AMD grupi u odnosu na KG, ali je znatno veća aktivnost zabeležena u podgrupi rane forme AMD-a u odnosu na KG ( $p=0,049$ ).
3. Značajno niže vrednosti GR su dobijene u podgrupama rane forme AMD-a ( $p=0,04$ ) i kasne suve-forme AMD u odnosu na KG, kao i u grupi svih ispitanika sa AMD-om u odnosu na KG ( $p=0,07$ ).
4. Statistički značajno niže vrednosti TAS-a su dobijene kako u grupi svih AMD ispitanika ( $p<0,0001$ ), tako i u svim podgrupama u odnosu na KG ( $p<0,001$ ), a naročito u podgrupi vlažne AMD gde su zabeležene najniže vrednosti TAS-a u odnosu na KG ( $p<0,0001$ ).
5. Značajno niže vrednosti albumina su dobijene u AMD grupi u odnosu na KG ( $p=0,0001$ ), a takođe i u podgrupama vlažne ( $p=0,004$ ) i rane AMD ( $p=0,0001$ ) u odnosu na KG.
6. Vrednosti mokraćne kiseline su takođe bile značajno niže u AMD grupi u odnosu na KG ( $p=0,006$ ), a takođe i u svim pojedinačnim podgrupama AMD: u vlažnoj formi ( $p=0,044$ ), ranoj ( $p=0,048$ ) i u suvoj formi AMD ( $p=0,055$ ) ali na granici značajnosti.
7. Vrednosti ukupnog i direktnog bilirubina se nisu značajno razlikovale između dve ispitivane grupe ( $p>0,05$ ), a takođe ni između pojedinih podgrupa AMD-a u odnosu na KG.
8. Vrednosti feritina koje su bile neparametarski distribuisane, pokazale su značajnu razliku između AMD i KG. Značajno niže vrednosti su izmerene u

AMD grupi ( $p=0,008$ ), a naročito u podgrupama vlažne ( $p=0,015$ ) i suve forme ( $p=0,042$ ) u odnosu na KG.

9. Vrednosti transferina kao antioksidantnog markera bile su slične u AMD i KG, ali je dobijena značajna razlika između samih pojedinih podgrupa AMD-a. Najveće vrednosti transferina su izmerene u podgrupi suve forme AMD-a koje su se značajno razlikovale od prosečnih vrednosti kontrolne grupe ( $p=0,0009$ ). Postojala je takođe značajna razlika u prosečnim vrednostima transferina između podgrupe rane ( $p=0,008$ ) i kasne-vlažne forme AMD-a ( $p=0,007$ ) u odnosu na suvu-formu bolesti.
10. Vrednosti haptoglobina se nisu značajno razlikovale između AMD i KG kao ni u pojedinim podgrupama AMD-a u odnosu na KG ( $p>0,05$ ).
11. Dobijene su značajno veće vrednosti CRP-a u AMD grupi u odnosu na KG, ali i u „vlažnoj“ podgrupi AMD-a u odnosu na KG, ali zbog velike razuđenosti rezultata, razlika je bila na granici značajnosti ( $p=0,056$  i  $p=0,057$ ).
12. Vrednosti IL-6 su takođe bile povišene u AMD grupi u odnosu na KG ( $p=0,07$ ). Mada je postojala znatna razlika u vrednostima IL-6 između suve forme AMD-a i KG nije dobijena i statistička potvrda, što se objašnjava izraženom heterogenom distribucijom rezultata u podgrupama.
13. Vrednosti fibrinogena su bile znatno veće u grupi AMD-a u odnosu na KG ( $p=0,007$ ). Dobijena je takođe statistički značajna razlika u koncentraciji fibrinogena između podgrupe vlažne AMD i KG ( $p=0,023$ ).
14. Koncentracija ukupnog holesterola je takođe bila značajno veća u grupi svih AMD ispitanika u odnosu na KG ( $p=0,0001$ ), kao i između svih ispitivanih AMD podgrupa međusobno i u odnosu na KG ( $p=0,001$ ).
15. Statistički značajna razlika je dobijena i u vrednostima LDL-holesterola između AMD i KG ( $p=0,007$ ), kao i između svih AMD podgrupa i KG ( $p=0,036$ ). Statistički značajno veće vrednosti LDL-holesterola su dobijene u podgrupama rane i kasne-vlažne forme AMD-a u odnosu na KG.
16. Koncentracije non-HDL-holesterola su bile znatno veće u AMD grupi u odnosu na KG ( $p=0,002$ ). Najveća razlika je dobijena između vlažne forme

- AMD-a i KG ( $p=0,004$ ), zatim između rane AMD i KG ( $p=0,011$ ). Značajna razlika je doijena između KG i grupe svih ispitanika sa AMD-om ( $p=0,0015$ ).
17. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima HDL-holesterola, kako između grupe svih AMD ispitanika i KG, tako ni između pojedinačnih podgrupa međusobno ili u odnosu na KG ( $p>0,05$ ).
  18. Nije dobijena statistički značajna razlika u vrednostima subfrakcija HDL<sub>2</sub>- i HDL<sub>3</sub>-holesterola u odnosu na KG ( $p=0,870$ ;  $p=0,084$ ), ali su dobijene značajno niže vrednosti subfrakcije HDL<sub>2</sub>-holesterola u podgrupama vlažne forme AMD-a i podgrupi geografske atrofije u odnosu na KG ( $p=0,05$  i  $p=0,0027$ ).
  19. Nije dobijena značajna razlika u vrednostima triglicerida između AMD i KG ( $p=0,097$ ), niti između pojedinačnih podgrupa međusobno niti u odnosu na KG.
  20. Nije dobijena, takođe značajna razlika u vrednostima apoproteina apo A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B, E i Lp(a) između AMD i KG, niti između pojedinih podgrupa međusobno ili u odnosu na KG.
  21. Pozitivna korelacija je dobijena između vrednosti SOD-a i IL-6, GR i fibrinogena, haptoglobina i CRP-a, haptoglobina sa IL-6 kao i sa fibrinogenom ( $p<0,05$ ) u AMD podgrupama, a negativna između GPx-a i CRP-a, TAS-a i IL-6, albumina i IL-6, direktnog bilirubina i CRP-a i feritina i CRP-a.
  22. SOD je negativno korelisao sa ukupnim holesterolom, HDL-i LDL-holesterolom a pozitivno sa trigliceridima.
  23. GPx je pozitivno korelisao sa HDL<sub>3</sub>-holesterolom u podgrupama AMD ispitanika ( $p=0,01$ ;  $p=0,016$  i  $p=0,037$ ), kao i sa Apo A<sub>1</sub> u AMD grupi ( $p=0,05$ ), a negativno sa LDL-holesterolom ( $p=0,033$ ) i Apo A<sub>2</sub> ( $p=0,052$ ) u podgrupi suve forme AMD-a.
  24. GR je pozitivno korelisao sa LDL-holesterolom ( $p=0,042$ ) i Apo E u podgrupi suve forme AMD-a ( $p=0,038$ ).

25. TAS je pozitivno korelisao sa subfrakcijom HDL<sub>3</sub>-holesterola u ranoj i vlačnoj formi AMD-a ( $p=0,016$ ,  $p=0,05$ ) a negativno sa trigliceridima ( $p=0,011$ ).
26. Između albumina i HDL<sub>3</sub>-holesterola postojala je direktna korelacija ( $p=0,029$ ), kao i između albumina i Apo A1 ( $p=0,014$ ), i albumina i Apo A2 ( $p=0,001$ ) u AMD grupi, dok je acidum uricum negativno korelisao sa HDL-holesterolom ( $p=0,056$ ) i Apo A1 ( $p=0,027$ ) u podgrupi geografske atrofije.
27. Ukupni i direktni bilirubin su negativno korelisali sa apo B ( $p=0,035$ ,  $p=0,014$ ) i apo E ( $p=0,007$ ,  $p=0,002$ ), a direktni bilirubin još i sa ukupnim holesterolom ( $p=0,011$ ) i LDL-holesterolom ( $p=0,016$ ) u podgrupama AMD-a.
28. Feritin je direktno korelisao sa Apo B ( $p=0,015$ ) u podgrupi „vlažne“ forme AMD-a i sa Lp(a) u podgrupi rane forme ( $p=0,017$ ), dok je transferin korelisao sa totalnim holesterolom ( $p=0,047$ ), LDL-holesterolom ( $p=0,037$ ), Apo A1 ( $p=0,033$ ) Apo A2 ( $p=0,03$ ), Apo B ( $p=0,052$ ) i Apo E ( $p=0,027$ ) u podgrupama AMD-a.
29. Haptoglobin je negativno korelisao sa HDL-holesterolom ( $p=0,043$  i  $p=0,006$ ) i Apo A2 ( $p=0,054$ ) u podgrupi rane AMD, a pozitivno sa trigliceridima ( $p=0,057$ ) i Lp(a) ( $p=0,03$ ) u podgrupi vlažne AMD.
30. SOD je negativno korelisao sa TAS-om ( $p=0,016$ ) i mokraćnom kiselinom ( $p<0,001$ ), a pozitivno sa transferinom ( $p=0,027$ ) u grupi AMD ispitanika, dok je GPx negativno korelisao sa TAS-om ( $p=0,005$ ) i transferinom ( $p=0,049$ ), a pozitivno sa direktnim bilirubinom ( $p=0,038$ ) i feritinom ( $p=0,039$ ).
31. Enzimski antioksidansi su međusobno pozitivno korelisali (SOD i GPx, SOD i GR, GPx i GR) a negativno su korelisali sa starošću ispitanika (SOD i starost,  $p=0,012$ ; i GPx i starost  $p=0,017$ ).
32. Sa porastom koncentracija svih lipoproteina, rastu i koncentracije markera inflamacije i to u obe grupe ispitanika, ali izraženiji porast se svakako dešava u AMD grupi, ali zbog neujednačenih vrednosti statistička potvrda je dobijena samo za CRP ( $p=0,015$ ). Sa porastom koncentracija ukupnog



holesterola, rasle su i vrednosti SOD-a ali samo u AMD grupi dok su u KG padale, dok su vrednosti GPx-a, padale u AMD grupi a rasle u KG.

Aktivnost GR-a i koncentracije TAS-a pokazuju opadajući trend u obe grupe ali bez statistike značajnosti.

33. Sa rastućim koncentracijama LDL-holesterola GR i GPx imaju tendenciju porasta u obe grupe ispitanika (AMD i KG), SOD pokazuje rastući trend ali samo u KG, dok TAS ima tendenciju opadanja u obe grupe. Pad koncentracija HDL-holesterola prati i aktivnost SOD-a ali samo u AMD grupi, dok u KG, aktivnost SOD-a raste. Aktivnost GPx-a opada u obe grupe sa padom HDL-holesterola, a koncentracija TAS-a raste u obe grupe, dok GR raste u AMD grupi a pada u KG. Koncentracije neenzimskih parametara pokazuju uglavnom opadajući trend sa porastom koncentracija ukupnog, LDL- i HDL-holesterola, ali statistička potvrda je dobijena samo za direktni bilirubin, mokraćnu kiselinu i haptoglobin, a u odnosu na HDL-holesterol i feritin ( $p=0,009$ ).
34. Sa porastom vrednosti markera inflamacije, rasle su i vrednosti GR-a, mokraćne kiseline, feritina, haptoglobina, ukupnog holesterola, LDL- i non-HDL-holesterola ( $p<0,05$ ), apo B i apo E, a opadale vrednosti SOD-a, GPx-a, TAS-a ( $p<0,0001$ ), HDL-holesterola i subfrakcija HDL<sub>2</sub> i HDL<sub>3</sub>-holesterola.
35. Primenom ROC krive utvrđene su cut-off vrednosti ispitanih parametara ispitane su mogućnosti da se ti parametri koriste kao prediktori AMD-a. Utvrđene cut-off vrednosti datih parametara su: CRP>8,2 mg/L, IL-6>3,5 pg/mL, fibrinogen >3,7 g/L, SOD<1134 U/gHb, GPx<31 U/gHb, GR<55 U/L, TAS<1,25 mmol/L, albumin <43 g/L, mokraćna kiselina<290  $\mu$ mol/L, ukupni bilirubin<13  $\mu$ mol/L, direktni bilirubin<1  $\mu$ mol/L, feritin <55,7 pg/mL, transferin<2,38 g/L, haptoglobin <1,51 g/L, ukupni holesterol>5,9 mmol/L, LDL-holesterol>4,1 mmol/L, non-HDL-holesterol>5,03 mmol/L, HDL-holesterol<1,12 mmol/L, HDL<sub>2</sub>-holesterola<0,37 mmol/L, HDL<sub>3</sub>-holesterola>0,73 mmol/L i triglicerida>1,1 mmol/L.
36. U odnosu na osetljivost (Os) i specifičnost (Sp) dijagnostičkog testa i površine ispod krive (AUC), kao mogući prediktori bi mogli da se koriste: TAS

(Os:71,3%, Sp:75%, AUC 0,758; 95% IP 0,680–0,817), albumin (Os: 55%, Sp: 77%, AUC 0,677; 95% IP 0,603–0,745), mokraćna kiselina (Os: 66,1%, Sp: 54,7%, AUC 0,618, 95% IP 0,543–0,690), IL-6 (Os: 44,7%, Sp: 78,7%, AUC 0,620; 95% IP 0,514–0,718), fibrinogen (Os: 66,7%, Sp: 66,3%, AUC 0,668; 95% IP 0,563–0,762), ukupni holesterol (Os: 61,5%, Sp: 64,7%, AUC 0,639; 95% IP 0,547–0,724), LDL-holesterol (Os: 45,5%, Sp: 72,4%, AUC 0,610; 95% IP 0,518–0,697), non-HDL-holesterol (Os: 37%, Sp: 87,7%, AUC 0,643; 95% IP 0,533–0,727) i trigliceridi (Os: 79,8%, Sp: 35,5%, AUC 0,617; 95% IP 0,520–0,699).

37. Primenom logistične regresione analize utvrđena je povezanost svakog ispitivanog parametra sa osnovnom bolešću. Na taj način je utvrđeno da porast CRP-a iznad cut-off vrednosti od 8,2 mg/L povećava verovatnoću za AMD skoro 20 puta (OR: 19,88; 95% IP 2,62–151,1), porast fibrinogena iznad 3,7 g/L povećava verovatnoću za AMD 4 puta (OR: 3,93; 95% IP 1,82–8,48), dok porast IL-6 preko 3,5 pg/mL povećava verovatnoću AMD-a za oko 3 puta (OR: 3,21, 95% IP 1,38–7,45).
38. Osobe koje imaju niže vrednosti SOD-a (<1134 U/gHb) imaju u proseku za 66% veće šanse da razviju AMD, dok osobe sa vrednostima GPx-a ispod utvrđenih cut-off vrednosti (<31 U/gHb) imaju za 13% veće šanse za AMD u odnosu na one osobe koje imaju vrednosti ovih parametara iznad cut-off vrednosti. Smanjenje GR ispod 55 U/L povećava više od 4 puta verovatnoću za AMD u odnosu na vrednosti GR-a koje su uznađ 55 U/L (OR: 4,08; 95% IP 1,30–12,71).
39. Smanjenje koncentracije albumina na vrednosti ispod 43 g/L povećava verovatnoću razvoja AMD-a za oko 25 % (OR: 1,25; 95% IP 1,11–1,41), mokraćne kiseline ispod 290  $\mu$ mol/L za 2 puta (OR:2,15; 95% IP 1,21–3,83) a direktnog bilirubina za oko 3 puta (OR:2,99; 95% IP 1,06–8,48).
40. Vrednosti TAS-a ispod 1,25 mmol/L povećavaju verovatnoću AMD-a čak 193 puta (OR: 193,7; 95% IP 27,7–1349,1), dok feritin<55,7 pg/mL i haptoglobin <1,51 g/L u proseku oko 2 puta povećavaju verovatnoću AMD-

- a u odnosu na vrednosti koje su iznad datih cut-off vrednosti ( $OR_{fer}$ : 2,52; 95% IP 1,37–4,62;  $OR_{hpt}$ :1,94; 95% IP 1,05–3,56).
41. Povećanje lipidnih markera iznad utvrđenih cut-off vrednosti i to: ukupnog holesterola iznad 5,9 mmol/L, LDL-holesterola >4,1 mmol/L, HDL3-holesterola>0,73 mmol/L a sniženje ukupnog HDL-holesterola<1,12 mmol/L povećava verovatnoću AMD u proseku oko 2 puta ( $OR_{hol}$ : 2,42; 95% IP 1,30–4,50;  $OR_{LDL}$ : 2,33; 95% IP 1,23–4,39;  $OR_{HDL}$ : 2,00; 95% IP 0,96–4,18;  $OR_{HDL3}$ : 2,51, 95% IP 1,17–5,35), dok povećanje non-HDL-holesterola >5,03 mmol/L povećava verovatnoću AMD-a za oko 3 puta (OR: 3,0; 95% IP 1,28–7,0). Povećanje koncentracije triglicerida preko 1,1 mmol/L, povećava se verovatnoća za AMD 5 puta (OR: 4,72; 95% IP 1,11–20,1).
  42. Primenom multiple regresione analize utvrđeno je da se markeri inflamacije: CRP>8,2 mg/L, IL-6>3,5 pg/mL i fibrinogen >3,7 g/L mogu koristiti kao nezavisni prediktori AMD-a jer imaju izuzetnu jaku snagu predikcije, što se može videti iz vrednosti  $\beta$  i t-testa: CRP>8,2 mg/L:  $\beta=0,893$ ,  $t=27,11$ ,  $p<0,0001$ ; IL-6>3,5 pg/mL:  $\beta=0,932$ ,  $t=26,3$ ,  $p<0,0001$ ) i fibrinogen>3,7 g/L:  $\beta=0,868$ ;  $t=19,6$ ,  $p<0,001$ .
  43. TAS može takođe biti dobar prediktor AMD-a, naročito one vrednosti koje su niže od 1,25 mmol/L, ali samo onda kada postoje i veće vrednosti CRP-a (>8,2 mg/L):  $\beta=0,448$ ;  $t=4,11$ ,  $p=0,000$  ili IL-6>3,5 pg/mL:  $\beta=0,487$ ,  $t=3,85$ ,  $p=0,0004$ , tj. fibrinogena>3,7 g/L:  $\beta=0,454$ ,  $t=3,98$ ,  $p=0,0002$ ).
  44. Slično gornjem nalazu, vrednosti albumina<43 g/L, mokraćne kiseline<290  $\mu$ mol/L i feritina<55,7 pg/mL mogu poslužiti kao dobri ali slabiji prediktori AMD-a, ali samo kada postoje i vrednosti CRP>8,2 mg/L ( $\beta_{alb.}=0,203$ ;  $t=2,39$ ,  $p=0,018$ ;  $\beta_{m.kis.}=0,297$ ;  $t=2,86$ ,  $p=0,0048$  i  $\beta_{ferit.}=0,258$ ;  $t=2,19$ ,  $p=0,029$ ).
  45. U slučajevima kada je IL-6>3,5 pg/mL, vrednosti mokraćne kiseline<290  $\mu$ mol/L mogu takođe da posluže kao dobri mogući prediktori AMD-a:  $\beta=0,375$ ;  $t=3,39$ ,  $p=0,001$ .
  46. Ispitivanjem datih parametara po polu, dobili smo da žene sa AMD-om imaju znatno veće vrednosti SOD-a, GPx-a, GR-a, holesterola, LDL-holesterola, non-HDL-holesterola, Apo A1, Apo A2, Apo B, a niže vrednosti

TAS-a, feritina, ukupnog i direktnog bilirubina, CRP-a, IL-6 i fibrinogena u odnosu na muškarce sa AMD-om, što se tumači hormonalnim statusom žene tj. nedostatkom estrogena u post-menopauzalnom periodu.

47. Naše ispitivanje je pokazalo da je postojala značajna razlika u ispitivanim parametrima u odnosu na rastuće vrednosti indeksa telesne mase između AMD i KG. AMD ispitanici imaju veće vrednosti albumina, feritina, haptoglobina, mokraćne kiseline, CRP-a i fibriongena, lipidnih parametara non-HDL-holesterola i triglicerida, a niže vrednosti HDL-holesterola i subfrakcije HDL<sub>3</sub>-holesterola, sa rastućim vrednostima BMI u odnosu na ispitanike kontrolne grupe.
48. Prisustvo diabetesa tip 2, povećava vrednosti SOD-a, GPx-a, TAS-a, haptoglobina, direktnog bilirubina i triglicerida u AMD grupi u odnosu na AMD pacijente bez DM2.
49. AMD ispitanici sa arterijskom hipertenzijom imali su veće vrednosti GR-a, haptoglobina, totalnog i direktnog bilirubina, CRP-a, IL-6 u odnosu na AMD pacijente bez hipertenzije a veće vrednosti GPx, haptoglobina, CRP-a, IL-6 i fibrinogena a niže vrednosti TAS-a, albumina, feritina i ukupnog bilirubina u odnosu na hipertoničare iz kontrolne grupe.
50. Veće vrednosti GPx-a, GR-a, feritina, ukupnog holesterola, LDL- i non-HDL-holesterola i triglicerida imali su pušači sa AMD u odnosu na nepušače iz iste grupe, a niže vrednosti GR-a, feritina i mokraćne kiseline u odnosu na pušače iz KG.

### **Konačni zaključci:**

1. Ovim ispitivanjem je dokazano da osobe sa AMD-om imaju značajno snižen antioksidantni status organizma, izmereno kroz vrednosti enzimskog (GR) i neenzimskog antioksidantnog statusa (TAS), što ukazuje na deficijenciju antioksidantnog sistema zaštite kao mogućeg uzročnika AMD-a. Dokazano je da su i pojedine komponente neenzimskog antioksidantnog sistema zaštite

deficijentne i to: albumin, mokraćna kiselina i feritin, koje su bile niže u AMD grupi odnosu na KG.

2. Dokazano je da su parametri inflamacije CRP, IL-6 i fibrinogen bili znatno povišeni u odnosu na KG, što upućuje na značajnu implikaciju inflamatornih procesa u patogenezi AMD-a.
3. Lipoproteinski parametri su takođe bili značajno povišeni u AMD grupi u odnosu na KG, a naročito vrednosti ukupnog holesterola, LDL-holesterola, non-HDL-holesterola i triglicerida što upućuje i na uticaj dislipidemije na patogenezu AMD-a.
4. Iz dobijenih mnogobrojnih korelacija može se zaključiti da postoji veza između tri grupe parametara, ali oblik i smer korelacija, a ponekad i jačina, razlikuje se od kontrolne grupe do AMD grupe, što takođe govori u prilog hipotezi da se njihovi međusobni odnosi menjaju u senilnoj degeneraciji, ili postaju čvršći (veći koeficijent korelacije) ili menjaju smer (promena predznaka koeficijenta) ili se u potpunosti gube u AMD.
5. Dokazano je da su svi ispitivani parametri povezani sa osnovnom bolešću, što se videlo iz njihovih OR vrednosti, a naročito su visoko asocirane vrednosti inflamatornih i lipidnih markera koje su iznad cut-off vrednosti (CRP>8,2 mg/L, IL>3,5 pg/mL i fibrinogen>3,7 g/L, ukupni holesterol>5,9 mmol/L, LDL-holesterol>4,1 mmol/L, non-HDL-holesterola>5,03 mmol/L i trigliceridi>1,1 mmol/L) i vrednosti antioksidantnih parametara koje su ispod cut-off vrednosti (SOD<1134 U/gHb, GPx<31 U/gHb, GR<55 U/L, TAS<1,25 mmol/L, albumin<43 g/L, mokraćna kiselina<290 μmol/L, direktni bilirubin<1,0 μmol/L i feritin<55,7 pg/mL).
6. Dokazano je da se parametri inflamacije i to u vrednostima koje su iznad cut-off vrednosti mogu koristiti kao značajni mogući prediktori AMD-a, dok vrednosti antioksidantnih parametara mogu poslužiti kao mogući prediktori AMD-a i to samo TAS, mokraćna kiselina, albumin i feritin, ali samo u slučajevima kada je CRP>8,2 mg/L ili IL-6>3,5 pg/mL.

## 7. LITERATURA:

1. Klein R, Klein BE, Jensen SC, Meuer SM. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1997;104:7–21
2. Georgijević A, Tomić Z. Primena fototerapije u lečenju subfovealne horoidalne neovaskularizacije. *Srp Arh Celok Lek* 2007; 135 (11-12):629–34
3. Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1992;99:933–43
4. Evans J, Wormald R. Is the incidence of registrable age-related macular degeneration increasing? *Br J Ophthalmol* 1996;80:9–14
5. Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophtalmol* 2004;122(4):5986–14
6. Augustin AJ, Dick HB, Offerman I, Schmidt-Erfurth U. The significance of oxidative mechanisms in diseases of the retina. *Klin Monatsbl Augenheikld* 2002;219(9):631–43
7. Harman D. Ageing: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298–300.
8. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999;283:1482–8
9. Ohia SE, Opere CA, LeDay AM. Pharmacological consequences of oxidative stress in ocular tissues. *Mutation Res* 2005;579:22–36
10. Bosch-Morell F, Roma J, Marin N, Romero B, Rodriguez-Galietero A, Johnsen-Soriano S, Diaz-Llopis M, Romero FJ. Role of oxygen and nitrogen species in experimental uveitis: anti-inflammatory activity of the synthetic antioxidant ebselen. *Free Radic Biol Med* 2002;33:669–75
11. Žoric L, Jovanovic P. Oksidativni stres u patogenezi očnih bolesti. *Sven, Niš* 2006

12. Gotto H, Wu GS, Chen F. Lipid peroxidation in experimental uveitis: sequential studies. *Curr Eye Res* 1992;11:489–99
13. Rao NA, Wu GS. Oxygen free radicals and retinopathy of prematurity (Editorial comment) *Br J Ophtalmol* 1996;80:387
14. Muller A, Villain M, Favreau B, Sandilon F, Privat A, Bonne C. Differential effects of ischemia-reperfusion on pigmented and albino rabbit retina. *J Ocul pharmacol Ther* 1996;12:337–42
15. Djordjevic V, Pavlović D, Kocić G. Biohemija slobodnih radikala. Medicinski fakultet Nis 2000
16. Čolak E. New markers of oxidative damage to macromolecules. *J Med Biochem* 2008; 27(1):1–16
17. Thomas JP, Maivrino M, Ursini F, Girrotti AW. Protective sction of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1990;265:454–61
18. Rose RC, Richer SP, Bode AM. Ocular oxidants and antioxidant protection. *Proc Soc.Exp Biol Med* 1998;217:397–407
19. Shichi H. Cataract formation and prevention. *Expert Opin Invest Drugs* 2004;13:691–701
20. Wu GS, Zhang J, Rao NA. Peroxynitrite and oxidative damage in experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 1997;38:1333–9
21. Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *FASEB J* 1995;12:1173–82
22. Satici A, Guzey M, gurler B, Vural H, Gurkan T. Malondialdehyde and antioxidant enzyme levels in the aqueous hummor of rabbits in endotoxin-induced uveitis. *Eur Ophtalmol* 2003;13:779–83
23. Dani C, Cecchi A, Bertini G. Role of oxidative stress as physiopathologic factor in the pretern infant. *Minerva Pediatr* 2004;56:381–94
24. Head K. Natural therapies for ocular disorders. Part I. Diseases of retina. *Altern Med Rev* 1999;27:342–59

25. Shimmura S, Suematsu M, Shimoyama M, Tsubota K, Oguchi Y, Ishimura Y. Subthreshold UV radiation-induced peroxide formation in cultured corneal epithelial cells: the protective effects of lactoferrin. *Exp Eye Res* 1996; 63:519–26
26. Schempp H, Elstner EF. Free radicals in the pathogenesis of ocular diseases. In: haefliger IO, Flammer J. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Lippincot-Raven, Philadelphia 1998; 112
27. Yan DB, Trope GE, Ethier CR, Menon IA, Wakeham A. Effects of hydrogen peroxyde-induced oxidative damage on outflow facility and washout in pig eyes. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 1991; 32:2515–20
28. Taguchi H, Ogura Y, Takanashi T, Hashizoe M, Honda Y. In vivo quantitation of peroxides in the vitrous humor by fluorophotometry. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 1996;37:1444–50
29. Hunt RC, Handy I, Smith A. Heme-mediated reactive oxygen species toxicity to retinal pigment epithelial cells is reduced by hemopexin. *J Cell Physiol* 1996; 168:81–6
30. Rao NA, Wu GS. Oxygen free radicals and retinopathy of prematurity (Editorial comment) *Br J Ophtalmol* 1996; 80:387
31. Muller A, Villain M, Favreau B, Sandillon F, Privat A, Bonne C. Diffrential effects of ischemia-reperfusion on pigmented and albino rabbit retina. *J Ocul Pharmacol Ther* 1996; 12:337–42
32. Garland DL. Ascorbic acid and the eye. *Am J Clin Nutr* 1991;54(Suppl):1198S–1202S
33. Rathbun WB. Glutathione in ocular tissues. In: Dolphin D, Avramovic O, Poulson R, editors. Glutathione: chemical, biochemical, and medical aspects. New York: Wiley; 1989. p. 469–510.
34. Sasaki H, Giblin FJ, Winkler BS, Chakrapani B, Leverenz V, Shu CC. A protective role for glutathione-dependent reduction of dehydroascorbic acid in lens epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36(9):1804–17.
35. Winkler BS, Boulton ME, Gottsch JD, Sternberg P. Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999; 5:32–45



36. Rózanowski B, Burke J, Sarna T, Rózanowska M. The pro-oxidant effects of interactions of ascorbate with photoexcited melanin fade away with aging of the retina. *Photochem Photobiol.* 2008;84(3):658–70.
37. Winkler BS, Orselli SM, Rex TS. The redox couple between glutathione and ascorbic acid: a chemical and physiological perspective. *Free Radic Biol Med* 1994; 17:333–49
38. Boscoboinik D, Szewczyk A, Azzi A. Alpha-tocopherol (vitamin E) regulates vascular smooth muscle cell proliferation and protein kinase C activity. *Arch Biochem Biophys.* 1991;286(1):264–9
39. Friedburg D, Manthey KF. Glutathione and NADP linked enzymes in human senile cataract. *Exp Eye Res* 1973; 15:173–7
40. Garland DL. Ascorbic acid in the eye. *Am J Clin Nutr* 1991; 54 (Suppl):1198S–1202S
41. Fecondo JV, Augusteyn RC. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in human cataractous lens. *Exp Eye Res* 1983; 36:15–8
42. Berman ER. *Biochemistry of the eye.* Plenum Press, New York, 1991
43. Tate DJ JR, Miceli MV, Newsome DA. Phagocytosis and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced catalase and methallothionein gene expression in human retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:1271–9
44. De Jong P. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1474–85
45. Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2004;122(4):598–614
46. Augustin AJ, Dick HB, Offerman I, Schmidt-Erfurth U. The significance of oxidative mechanisms in diseases of the retina. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2002;219(9):631–43
47. Whitehead AJ, Mares JA, Danis RP. Macular Pigment: A review of current knowledge. *Arch Ophthalmol.* 2006;124:1038–45.

48. Snodderly DM, Auran JD, Delori FC. The macular pigment, II: spatial distribution in primate retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1984;25:674–85
49. Weiser H, Kormann AW. Provitamin A activities of carotenoids and physical functions in animals. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;691:213–5.
50. Mares-Perlman JA, Fisher AI, Klein R, Palta M, Block G, Millen AE, Wright JD. Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 2001;153:424–32
51. Broekmans WM, Berendschot TT, Klopping-Ketelaars IA, de Vries AJ, Goldbohm RA, Tijburg LB, Kardinaal AF, van Poppel G. Macular pigment density in relation to serum and adipose tissue concentrations of lutein and serum concentrations of zeaxanthin. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:595–603
52. Hammond BR Jr, Johnson EJ, Russell RM, Krinsky NI, Yeum KJ, Edwards RB, Snodderly DM. Dietary modification of human macular pigment density. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38:1795–1801.
53. Morrison JD, Mc Grath D. Assessment of the optical contribution to the age-related deterioration in vision. *Q J Exp Physiol* 1985; 70:249–56
54. Lai Y, Masuda K, Magnum MD. Subretinal displacement of photoreceptor nuclei in human retina. *Exp Eye Res* 1982; 34:219–28
55. Tucker GS. Refractile bodies in the inner segments of cones in the aging human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:708–15
56. Wing GL, Blanchard GC, Weiter JJ. The topography and the age relationship of lipofuscin concentration in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978;17:601–9
57. Young RV. Pathophysiology of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 1987;31:113–21
58. Feeney-Burns L, Burns RP, Gao C. Age-related macular changes in humans over 90 years old. *Am J Ophthalmol* 1990; 109: 265–70

59. Schraemaeyer U, Heimann K. Current understanding on the role of retinal pigment epithelium and its pigmentation. *Pigment Cell Res* 1999; 12(4): 219–36
60. Burns RP, Feeny-Burns L. Clinocomorphologic correlations of drusen of Bruch's membrane. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1980; 78:206–12
61. Robinson WG Jr, Kuwabara T, Bieri JG. Deficiencies of vitamins E and A in the rat. Retinal damage and lipofuscin accumulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980; 19: 1030–8
62. Cai J, Nelson KC, Wu M, Stenberg P, Jones DP. Oxidative damage and protection of RPE. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19(2): 205–21
63. Katz ML, Eldred GE. Retinal light damage reduces autofluorescent pigment deposition in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30:37–48
64. Sun K, Cai H, Tezel TH, Paik D, Gaillard ER, Del Priore LV. Bruch's membrane aging decreases phagocytosis of outer segments by retinal pigment epithelium. *Mol Vis*. 2007;13:2310–9.
65. Nowak J. Age-related macular degeneration: pathogenesis and therapy. *Pharmacological Reports* 2006;58:353–63
66. Boulton M, Dontsov A, Jarvis-Evans J, Ostrovsky M, Svistunenko D. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator. *J Photochem Photobiol B* 1993; 19:201–4.
67. Rozanowska M, Jarvis-Evans J, Korytowski W, Boulton ME, Burke JM, Sarna T. Blue light-induced reactivity of retinal age pigment. In vitro generation of oxygen-reactive species. *J Biol Chem* 1995; 270:18825–30.
68. Rozanowska M, Wessels J, Boulton M, Burke JM, Rodgers MA, Truscott TG, Sarna T. Blue light-induced singlet oxygen generation by retinal lipofuscin in non-polar media. *Free Radic Biol Med* 1998; 24:1107–12.
69. Mulroy L, McGarvey DJ, Truscott TG, Boulton M, Davies S. Age related macular degeneration: understanding the roles of lipofuscin, macular carotenoid pigments and reactive oxygen species. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39:S129.

70. Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984; 25:195–200
71. Boulton ME. Ageing of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res* 1991; 11:125–51.
72. Ham WT Jr, Ruffolo JJ Jr, Mueller HA, Guerry D 3d. The nature of retinal radiation damage: dependence on wavelength, power level and exposure time. *Vision Res* 1980; 20:1105–11
73. Marshall J. Radiation and the ageing eye. *Ophthalmic Physiol Opt* 1985; 5:241–63.
74. Eldred GE, Katz ML. Fluorophores of the human retinal pigment epithelium: separation and spectral characterization. *Exp Eye Res* 1988; 47:71–86.
75. Winkler BS, Solomon FJ, Orselli SM. Effects of oxidized glutathione on ATPase activities in rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991;32(10):2840–2.
76. Wassell J, Davies S, Bardsley W, Boulton M. The photoreactivity of the retinal age pigment lipofuscin. *J Biol Chem*. 1999;274(34):23828–32
77. Sparrow JR, Boulton M. RPE, lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Exp Eye Res* 2005;80:595–606
78. Warburton S, Southwick K, Hardman RM, Secret AM, Grow RK, Xin H, Wooley AT, Burton GF, Thulin CD. Examining the proteins of functional retinal lipofuscin using analysis as a guide for understanding its origin. *Mol Vis* 2005;11:1122–34
79. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005;85:845–81
80. Algvare PV, Seregard S. Drusen maculopathy: a risk factor for AMD. Can we prevent visual loss? *acta Ophtalmol Scand* 2003;81:427–9
81. McConnell V, Silvestri G. Age-related macular degeneration. *Ulster Med J* 2005;74:82–92

82. Coleman H, Chan CC, Ferris III F, Chew E. Age-related macular degeneration. *Lancet* 2008;372(9652):1835–45
83. Green WR. Histopathology of age-related macular degeneration. *Mol Vis*. 1999;5:27.
84. Mullins RF, Russell SR, Anderson DH, Hageman GS. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *Faseb J*. 2000;14:835–46
85. Sarks SH, Arnold JJ, Killingsworth MC, Sarks JP. Early drusen formation in the normal and aging eye and their relation to age related maculopathy: a clinicopathological study. *Br J Ophthalmol* 1999;83:358–68.
86. Gupta N, Brown KE, Milam AH. Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2003;76:463–7
87. Anderson DH, Ozaki S, Nealon M, Neitz J, Mullins RF, Hageman GS, Johnson LV. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: implications for the process of drusen formation. *Am J Ophthalmol* 2001;131:767–81.
88. Lutty G, Grunwald J, Majji AB, Uyama M, Yoneya S. Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Mol Vis* 1999;5:35–8
89. Kim SY, Sadda S, Humayun MS, de Juan E, Jr, Melia BM, Green WR. Morphometric analysis of the macula in eyes with geographic atrophy due to age-related macular degeneration. *Retina* 2002;22:464–70
90. Lamb LE, Simon JD. A2E: a component of ocular lipofuscin. *Photochem Photobiol* 2004;79:127–36
91. Fishkin N, Jang YP, Itagaki Y, Sparrow JR, Nakanishi K. A2-rhodopsin: a new fluorophore isolated from photoreceptor outer segments. *Org Biomol Chem*. 2003;1(7):1101–5

92. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Morphology of early choroidal neovascularisation in age-related macular degeneration: correlation with activity. *Eye* 1997;11:515-22.
93. Anderson DH, Mullins RF, Hageman GS, Johnson LV. A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am J Ophthalmol* 2002;134:411-31.
94. Chen J, Connor KM, Smith LE. Overstaying their welcome: defective CX3CR1 microglia eyed in macular degeneration. *J Clin Invest* 2007;117:2758-62
95. Beatty S, Koh HH, Henson D, Boulton M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2000;45:115-34
96. Strauss O. The Retinal Pigment Epithelium in Visual Function. *Physiol. Rev.* 2005; 85: 845-81
97. Miceli MV, Liles MR, Newsome DA. Evaluation of oxidative processes in human pigment epithelial cells associated with retinal outer segment phagocytosis. *Exp Cell Res* 1994;214: 242-9
98. Boulton M, Dayhaw-Barker P. The role of the retinal pigment epithelium: topographical variation and ageing changes. *Eye* 2001;15: 384-9
99. Beatty S, Murray IJ, Henson DB, Carden D, Koh H, Boulton ME. Macular pigment and risk for age-related macular degeneration in subjects from a Northern European population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 439-46
100. Landrum JT, Bone RA, Moore LL, Gomez CM. Analysis of zeaxanthin distribution within individual human retinas. *Methods Enzymol* 1999; 299: 457-67
101. Bone RA, Landrum JT, Friedes LM, Gomez CM, Kilburn MD, Menendez E, Vidal I, Wang W. Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. *Exp Eye Res* 1997;64: 211-8

102. Sparrow JR, Zhou J, Cai B. DNA is a target of the photodynamic effects elicited in A2E-laden RPE by blue-light illumination. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44: 2245–51
103. Boulton M. The role of melanin in the RPE. In: *The Retinal Pigment Epithelium* edited by Marmor MF and Wolfensberger TJ. Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1998, p. 68–75
104. Delori FC, Goger DG, Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1855–66.
105. Beatty S, Koh H, Phil M, Henson D, Boulton M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2000;45: 115–34
106. Mullins RF, Russell SR, Anderson DH, Hageman GS. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB J* 2000;14: 835–46
107. Hammes HP, Hoerauf H, Alt A, Schleicher E, Clausen JT, Bretzel RG, Laqua H. N (epsilon) (carboxymethyl) lysin and the AGE receptor RAGE colocalize in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40: 1855–9
108. Lu M, Kuroki M, Amano S, Tolentino M, Keough K, Kim I, Bucala R, Adamis AP. Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 1998;101: 1219–24
109. Sparrow JR, Fishkin N, Zhou J, Cai B, Jang YP, Krane S, Itagaki Y, Nakanishi K. A2E, a byproduct of the visual cycle. *Vis Res* 2003;43: 2983–90
110. Sparrow JR, Vollmer-Snarr HR, Zhou J, Jang YP, Jockusch S, Itagaki Y, Nakanishi K. A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. Vitamin E and other antioxidants inhibit A2E-epoxide formation. *J Biol Chem* 2003; 278: 18207–13

111. Bergmann M, Schutt F, Holz FG, and Kopitz J. Inhibition of the ATP-driven proton pump in RPE lysosomes by the major lipofuscin fluorophore A2-E may contribute to the pathogenesis of age-related macular degeneration. *FASEB J* 2004;18: 562-4
112. Shaban H, Gazzotti P, Richter C. Cytochrome *c* oxidase inhibition by *N*-retinyl-*N*-retinylidene ethanolamine, a compound suspected to cause age-related macula degeneration. *Arch Biochem Biophys* 2001;394: 111-6
113. Finnemann SC, Leung LW, Rodriguez-Boulan E. The lipofuscin component A2E selectively inhibits phagolysosomal degradation of photoreceptor phospholipid by the retinal pigment epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99: 3842-7
114. Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Ianchulev S, Adamis AP. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 2003;48: 257-93
115. Crabb JW, Miyagi M, Gu X, Shadrach K, West KA, Sakaguchi H, Kamei M, Hasan A, Yan L, Rayborn ME, Salomon RG, Hollyfield JG. Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99: 14682-7,
116. Hageman GS, Luthert PJ, Victor Chong NH, Johnson LV, Anderson DH, Mullins RF. An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2001;20: 705-32
117. Hageman GS, Mullins RF, Russell SR, Johnson LV, Anderson DH. Vitronectin is a constituent of ocular drusen and the vitronectin gene is expressed in human retinal pigmented epithelial cells. *FASEB J* 1999;13: 477-84
118. Kanda A, Abecasis G, Swaroop A. Inflammation in the pathogenesis of AMD-Kanda A, *Br J Ophthalmol* 2008;92(4):448-50



119. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005;308:385–9
120. Yates JR, Sepp T, Matharu BK, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Hayward C, Morgan J, Wright AF, Ambrecht AM, Dhillon B, Deary IJ, Redmond E, Bird AC, Moore AT; Genetic Factors in AMD Study Group. Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2007;357:533–61
121. Zarepari S, Buraczynska M, Branham KE, Shah S, Eng D, Li M, Pawar H, Yashar BM, Moroi SE, Lichter PR, Petty HR, Richards JE, Abecasis GR, Elner VM, Swaroop A. Toll-like receptor 4 variant D299G is associated with susceptibility to age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet* 2005;14:1449–55
122. Goverdhan SV, Howell MW, Mullins RF, Osmond C, Hodgkins PR, Self J, Avery K, Lotery AJ. Association of HLA class I and class II polymorphisms with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:1726–34
123. Higgins GT, Wang JH, Dockery P, Cleary PE, Redmond HP. Induction of angiogenic cytokine expression in cultured RPE by ingestion of oxidized photoreceptor outer segments. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:1775–82
124. Kelly J, Ali Khan A, Yin J, Ferguson TA, Apte RS. Senescence regulates macrophage activation and angiogenic fate at sites of tissue injury in mice. *J Clin Invest* 2007;117:3421–6
125. Edwards AO, Ritter R III, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):421–4.
126. Despriet DD, Klaver CC, Wittteman JC, Bergen AA, Kardys I, de Maat MP, Boekhoorn SS, Vingerling JR, Hofman A, Oostra BA, Uitterlinden AG, Stijnen T, van Duijn CM, de Jong PT. Complement factor H

- polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration. *JAMA* 2006;296(3):301–9
127. Rodriguez de Cordoba S, Esparza-Gordillo J, Goicoechea de Jorge E, Lopez-Trascasa M, Sanchez-Corral P. The human complement factor H: functional roles, genetic variations and disease associations. *Mol Immunol* 2004;41(4):355–67.
  128. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Nouredine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):419–21.
  129. Hakobyan S, Harris CL, van der Berg CW, Fernandez-Alonso MC, Goicoechea de Jorge E, Rodriguez de Cordoba S, Rivas G, Mangione P, Pepys MB, Morgan BP. Complement factor H binds to denatured rather than to native pentameric C-reactive protein. *J Biol Chem* 2008; 283:30451–60
  130. Deangelis MM, Silveira AC, Carr EA, Kim IK. Genetics of age-related macular degeneration: current concepts, future directions. *Semin Ophthalmol* 2011;26(3):77–93
  131. Lederman M, Weiss A, Chowers I. Association of neovascular age-related macular degeneration with specific gene expression patterns in peripheral white blood cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(1):53–8
  132. Degn SE, Jensenius JC, Thiel S. Disease-causing mutations in genes of the complement system. *Am J Hum Genet* 2011;68(6):689–705
  133. Bressler SB, Maguire MG, Bressler NM, Fine SL. The Macular Photocoagulation Study Group: Relationship of drusen and abnormalities of the retinal pigment epithelium to the prognosis of neovascular macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 1990;108:1442–7
  134. Vidaurri J, Peer J, Halfon S. Association between drusen and some of the risk factors for coronary artery disease. *Ophthalmologica* 1984;188:243–8

135. Bailey TA, Kanuga N, Romero IA, Greenwood J, Luthert PJ, Sheetam ME. Oxidative stress affects the junctional integrity of retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(2):675–84
136. Taylor HR, West S, Munoz B. The long term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol* 1992;110:99–113
137. Algvere PV, Marshall J, Seregard S. Age-related maculopathy and the impact of blue light hazard. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84(1):4-15
138. Klein R, Klein BE, Jensen SC, Cruickshanks KJ. Sunlight and the 5-year incidence of early age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol* 2001;119:246–50
139. Kim I, Ryan AM, Rohan R, Amano S, Agular S, Miller JW, Adamis AP. Constitutive expression VEGF, VEGFR-1 and VEGFR-2 in normal eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:2115–21
140. Kliffen M, Sharma HS, Mooy CM. increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy. *Br J Ophthalmol* 1997;81:154–62
141. Fraser-Bell S, Wu J, Klein R, Azen SP, Hooper C, Foong AWP, Varma R, Los Angeles Latino Eye Study Group et al. Cardiovascular risk factors and age-related macular degeneration: the Los Angeles Latino Eye Study. *Am J Ophthalmol*. 2008;145:308–16
142. Age-Related Eye Disease Study Research Group, SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, Ferris FL 3rd, Gensler G, Lindblad AS, Milton RC, Seddon JM, Sperduto RD. The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study. AREDS Report No. 22. *Arch Ophthalmol*. 2007. pp. 1225–32.
143. SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, Davis MD, Ferris FL 3rd, Gensler GR, Kurinij N, Lindblad AS, Milton RC, Seddon JM, Sperduto RD; Age-Related Eye Disease Study Research Group. The relationship

- of dietary lipid intake and age-related macular degeneration in a case-control study. *Arch Ophthalmol*. 2007;125:671–9
144. Gridle CFJ, Marshal J. Ageing changes in Bruch's membrane and their functional implications. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1987;98:172–5
  145. King A, Gottlieb E, Brooks DG, Murphy MP, Dunaief JL. Mitochondria-derived reactive oxygen species mediate blue light-induced death of retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol* 2004;79(5):470–5
  146. Muradian K, Schachtschabel DO. The role of apoptosis in aging and age-related disease:update. *Z Gerontol Geriatr* 2001;34(6):441–6
  147. Liang FQ, Godley BF. Oxidative stress-induces mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2003;76(4):397–43
  148. Weigel AL, Handa JT, Hjalmeland LM. Microarray analysis of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-, HNE, or tBH-treated ARPE-19 cells. *Free Radic Biol Med* 2002;33(10):1419–32
  149. Donoso LA, Kim D, Frost A, Callahan A, Hageman G. The role of inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 2006;51:137–52
  150. Junghans A. Macular pigments lutein and zeaxanthin as blue light filters studied in liposomes. *Arch Biochem Biophys* 2001;391:160–4
  151. Sommerburg O. Lutein and zeaxanthin are associated with photoreceptors in the human retina. *Curr Eye Res* 1999;19(6):491–5
  152. Elsner AE, Burns SA, Weiter JJ. Cone photopigment in older subjects: decreased optical density in early age-related macular degeneration. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2002;19(1):215–22
  153. Liang FQ, Green L, Wang C. Melatonin protects human retinal pigment epithelial cells against oxidative stress. *Exp Eye Res* 2004, 78(6):1069–75
  154. Frank RN, Amin RH, Puklin JE. Antioxidant enzymes in the macular retinal epithelium of eyes with neovascular age related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1999;127(6):694–709

155. Evereklioglu C, Er H, Doganoy S, Cekmen M, Turkoz Y, Otlly B, Ozerol E. Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients with age-related macular degeneration. *Doc Ophthalmol* 2003;106(2):129–36
156. Li D, Sun F, Wang K. Caloric restriction retards age-related changes in rat retina. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;309(2):457–63
157. Ayalasomayajula SP, Kompella UB. Induction of vascular endothelial growth factpr by 4-hydroxynonenal and its prevention by glutathione precursors in retinal pigment epitjelial cells. *Eur J Pharmacol* 2002;449(3):13–20
158. Nicolas MG, Fujiki K, Murayama K. Studies on the mechanism of early onset macular degeneration in cynomongoulus monkeys. Suppression of metallothionein synthesis in the retina in oxidative stress. *Exp Eye Res* 1996;62(4):399–408
159. Ohta Y. Prolonged marginal ascorbic acid deficiency induces oxidative stress in retina of guinea pig. *Int J Vit Nutr Res* 2002;2:63–70
160. Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo controlled clinical trial of high dose supplementation with vitamins C and Em beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration an vision loss. AREDS raport No.8. *Arch Ophtalmol* 2001;119(19):1417–36
161. Roodenburg AJC. Amount of fat un the diet affects bioaviliability of lutein esters but not  $\alpha$  and  $\beta$ -carotene, and vitamin E in humans. *Am J Clin Nutr* 2000; 117:1187–93
162. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The effect of five-year zinc supplementation on serum zinc, serum cholesterol and hematocrit in persons randomly assigned to treatment group in the age-related eye disease study. AREDS Report No. 7 *J Nutr* 2002;132(4):697–702
163. Seddon JM, Cote J, Rosner B. Progression of age-related nacular degeneration: association with dietary fat, transunsaturated fat, nuts, and fish intake. *Arch Ophtalmol* 2003;121(12):1728–37

164. Evans JR. Ginko biloba extract for age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;2:CD001775
165. FDA Approval Report. What`s New in ACP Medicine 2005;29(6)
166. Ahir A, Guo L, Hassain A, Matshall J. Expression of metalloproteinases from human pigment epithelial cells and their effects on the hidraulic conductivity of Bruch`s membrane. *Invest Ophtalmol Vis Sci* 2002;43:458–65
167. Anderson DH, Mullins RF, Hageman GS, Johnson LV. A role of local inflammmation in the formation of drusen in the aging eye. *Am J Ophtalmol* 2002;134:411–31
168. Margrain TH, Boulton M, Marshal J. Do blue light filters confer protection against age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2004;23(5):523–31
169. Goldstein S, Michel C, Boors A, Saran M, Czapsky G. A critical re-evaluation of some assay methods for superoxide dismutase activity. *Free Radical Biol Med* 1988;4:295–303
170. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158–63
171. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993;84:407–12
172. Goldberg DM, Spooner RJ. In Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. 3rd ed. New York: academic Press 1974, Vol 3, p. 258–65
173. Noell WK, Walker VS, Kang BS, Berman S. Retinal damage by light in rats. *Invest Ophthalmol* 1966; 5:450–73
174. Young RW. Solar radiation and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 1988; 32:252–69ž

175. Boulton ME. Ageing of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res* 1991; 11:125–51
176. Sohal RS, editor. *Age Pigments*. New York: Elsevier/North Holland Biomedical Press; 1981
177. Gottsch JD, Pou S, Bynoe LA, Rosen GM. Hematogenous photosensitization. A mechanism for the development of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 31:1674–82
178. Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, Hiller R, Blair N, Burton TC, Farber MD, Gragoudas ES, Haller J, Miller DT, et al. Dietary carotenoids, vitamin A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA* 1994; 272:1413–20.
179. Snodderly DM. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:1448S–61S.
180. Mayne ST. Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *FASEB J* 1996; 10:690–701.
181. Cohen SM, Olin KL, Feuer WJ, Hjelmeland L, Keen CL, Morse LS. Low glutathione reductase and peroxidase activity in age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 1994;78(10):791–4
182. Samiec PS, Drews-Botsch C, Flagg EW, Kurtz JC, Strenberg P Jr, Reed RL, Jones DP. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration and diabetes. *Free Radic Biol Med* 1998;24(5):699–704
183. Pansarasa O, Castagna L, Colombi B, Vecciet J, Felzani G, Marzatico F. Age and sex differences in human skeletal muscle: role of reactive oxygen species. *Free Radic Res* 2000;33(3):287–93
184. Evereklioglu C, Er H, Doganay S, Cekmen M, Turkoz Z, Otlu B, OzerolB. Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients

- with age-related macular degeneration. *Doc Ophthalmol* 2003;106(2):129–36
185. Totan Y, Yagei R, Bardak Y, Ozgurt H, Kendir F, Yilmaz G, Sahin S, Sahin Tig U. Oxidative macromolecular damage in age-related macular degeneration. *Curr Eye Res* 2009;34(12):1089–93
186. Gautam N, Das S, Mahapatra SK, Chakraborty SP, Kundu PK, Roy S. Age associated oxidative damage in lymphocytes. *Oxid Med Cell Longev* 2010;3(4):275–82
187. Jia L, Dong Y, Yang H, Pan X, Fan R, Zhai L. Serum superoxid dismutase and malodialdehyde levels in a group of Chinese patients with ahe-related macular degeneration. *Aging Clin Exp Res* 2011;23(4):264–7
188. Yildirim Z, Uegun NI, Yildirim F. The role of oxidative stress and antioxidants in pathogenesis of age-related macular degeneration. *Clinics* 2011;66(5):743–6
189. Imamura Y, Noda S, Hashizuma K, Shinoda K, Yamaguchi M, Uchiyama S, Shimizu T, Mizushima Y, Shirasawa T, Tsubota K. Drusen, choroidal neovascularization and retinal pigment epithelium dysfunction in SOD1-deficient mice: a model of age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(20):11282–7
190. Gom I, Fukushima H, Shiraki M, Miwa Y, Takai K, Moriwaki H. Relationship between serum albumin level and aging in community-dwelling self-supported elderly population. *J Nutr Sci Vitamol (Tokyo)*2007;53(1):37–42
191. Era S, Kuwata K, Imai H, Nakamura K, Hayashi T, Sogami M. Age-related change in redox state of human serum albumin. *Biochim Biophys Acta* 1995;1247(1):12–6
192. Kawai K, Yoh M, Hayashi T, Imai H, Negawa T, Tomida M, Sogami M, Era S. Effect of diabetic retinopathy on redox state of aqueous humor and serum albumin in patients with senile cataract. *Tokai J Exp Clin Med* 2001;26(3):93–6



193. Virgolici B, Stoian I, Muscurel C, Maracine M, Moraru C, Dinu V. Plasma redox status and premature onset of senile cataract. *Rom J Intern Med* 2007;45(1):59-65
194. Weiner DE, Tighiouart H, Reynolds R, Seddon JM. Kidney function albuminuria and age-related macular degeneration in NHANES III. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(10):3159-65
195. Oettl K, Reibnegger G, Schmut O. The redox state of human serum albumin in eye diseases with and without complications. *Acta Ophthalmol* 2011;89(2):174-9
196. Odhiambo A, Perlman DH, Huang H, Costello CE, Farber HW, Steinberg MH, McComb ME, Klings ES. Identification of oxidative post-translational modification of serum albumin in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension and pulmonary hypertension of sickle cell anemia. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007;21(14):2195-203
197. Ogasawara Y, Namai T, Togawa T, Ishii K. Formation of albumin dimers induced by exposure to peroxides in human plasma: a possible biomarker for oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;340(2):353-8
198. Subramani S, Khor SE, Livingstone BI, Kulkarni UV. Serum uric acid levels and its association with age-related macular degeneration. *Med J Malaysia* 2010;65(1):36-40
199. Krizova L, Kalousova M, Kubena A, Benakova H, Zima T, Kovarik Z, Kavoda J, Kalvodova B. Increased uric acid and glucose concentrations in vitreous and serum of patients with diabetic macular oedema. *Ophthalmic Res* 2011;46(2):73-9
200. Mehryar M, Farvardin M, Hosseini H, Aslani M. Potential role of uric acid in the molecular pathogenesis of age-related macular degeneration. *Med Hypotheses* 2006;66(4):793-5

201. Lu Z, Dong B, Wu H, Chen T, Zhang Y, Wu J, Xiao H. Serum uric acid level in primary hypertension among Chinese nonagenarians-centenarians. *J Hum Hypertens* 2009;23(2):113-21
202. Sun CC, Luo FF, Wei L, Lei M, Li GF, Liu ZL, Le WD, Xu PY. Association of serum uric acid levels with the progression of Parkinson's disease in Chinese patients. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125(4):583-7
203. Horwath-Winter J, Kirchengast S, Meinitzer A, Washswender C, Faschinger C, Schmut O. Determination of uric acid concentrations in human tear fluid, aqueous humor and serum. *Acta Ophthalmol* 2009;87(2):188-92
204. Blasiak J, Szaflik J, Szaflik JP. Implications of altered iron homeostasis for age-related macular degeneration. *Front Biosci* 2011;16:1551-9
205. Garcia-Castañeiras S. Iron, the retina and the lens: a focused review. *Exp Eye Res* 2010;90(6):664-78
206. Chowers I, Wong R, Dentchev T, Farkas RH, Iacovelli J, Gunatilaka TL, Medeiros NE, Presley JB, Campochiaro PA, Curcio CA, Dunaief JL, Zack DJ. The iron carrier transferrin is upregulated in retinas from patients with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(5):2135-40
207. Dunaief JL. Iron induced oxidative damage as a potential factor in age-related macular degeneration: the Cogan Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(11):4660-4
208. Hadziahmetovic M, Song Y, Wolkow N, Iacovelli J, Grieco S, Lee J, Lyubarsky A, Pratico D, Connelly J, Spino M, Harris ZL, Dunaief JL. The oral iron chelator deferiprone protects against iron overload-induced retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(2):959-68
209. Gnana-Prakasam JP, Martin PM, Smith SB, Ganapathy V. Expression and function of iron-regulatory proteins in retina. *IUBMB life* 2010;62(5):363-70

210. Chen H, Lukas TJ, Du N, Suyeoka G, Neufeld AH. Dysfunction of the retinal pigment epithelium with age: increased iron decreases phagocytosis and lysosomal activity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(4):1895–902
211. Deleon E, Lederman M, Berenstein E, Meir T, Chevion M, Chowers I. Alteration in iron metabolism during retinal degeneration in rd10 mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(3):1360–5
212. Kliffen M, de Jong PT, Luidier TM. Protein analysis of human maculae in relation to age-related maculopathy. *Lab Invest* 1995;73(2):267–72
213. Seider N, Beiran I, Miller-Lotan R, Dori D, Karp J, Miller B, Levy AP. Haptoglobin phenotype in age-related macular degeneration patients. *Am J Ophthalmol* 2003;136(5):911–4
214. McGwin G, Hall TA, Xie A, Owsley C. The relation between C reactive protein and age-related macular degeneration in the Cardiovascular Health Study. *Br J Ophthalmol* 2005; 89(9):1166–70
215. Boekhoorn SS, Vingerling JR, Witteman JCM, Hofman A, De Jong PT. C-reactive protein level and risk of aging macula disorder. The Rotterdam Study. *Arch Ophthalmol*. 2007;125(10):1396–1401
216. Seddon JM, George S, Rosner B, Rifai N. Progression of the age-related macular degeneration: prospective assessment of C-reactive protein, interleukin 6 and other cardiovascular biomarkers. *Arch Ophthalmol* 2005;123(6):774–82
217. Čolak E, Kosanović-Jaković N, Žorić L, Radosavljević A, Stanković S, Majkić-Singh N. The association of lipoprotein parameters and C-reactive protein in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmic Res* 2011;46(3):125–132
218. Klein R, Klein BE, Knudtson MD, Wong TY, Shankar A, Tsai MY. Systemic markers of inflammation, endothelial dysfunction, and age-related maculopathy. *Am J Ophthalmol*. 2005;140:35–44

219. Klein R, Klein BE, Marino EK, Kuller LH, Furberg C, Burke GL, Hubbard LD. Early age-related maculopathy in the cardiovascular health study. *Ophthalmology* 2003;110:25-33
220. Dasch B, Fuhs A, Behrens T, Meister A, Wellmann J, Fobker M, Pauleikhoff D, Hense HW. Inflammatory markers in age-related maculopathy: cross-sectional analysis from the Muenster Aging and Retina Study. *Arch Ophthalmol.* 2005;123:1501-6
221. Despret DD, Klaver CC, Witteman JC, Bergen AA, Kardys I, de Maat MP, Boekhoorn SS, Vingerling JR, Hofman A, Oostra BA, Uitterlinden AG, Stijnen T, van Duijn CM, de Jong PT. Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration. *JAMA* 2006;296:301-9
222. Johnson PT, Betts KE, Radeke MJ, Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV. Individuals homozygous for the age-related macular degeneration risk-conferring variant of complement factor H have elevated levels of CRP in the choroid. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103:17456-61
223. Schaumberg DA, Christen WG, Kozlowski P, Miller DT, Ridker PM, Zee RY. A prospective assessment of the Y402H variant in complement factor H, genetic variants in C-reactive protein, and risk of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47:2336-40
224. Lip PL, Blann AD, Hope-Ross M, Gibson JM, Lip GY. Age-related macular degeneration is associated with increased vascular endothelial growth factor, hemorheology and endothelial dysfunction. *Ophthalmology* 2001;108:705-10
225. Smith W, Mitchell P, Leeder SR, Wang JJ. Plasma fibrinogen levels, other cardiovascular risk factors, and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 1998;116:583-7
226. Yeh ET, Willerson JT. Coming of age of C-reactive protein: using inflammation markers in cardiology. *Circulation* 2003;107:370-1

227. Pasceri V, Chang J, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001;103:2531-4
228. Verma S, Badiwala MV, Weisel RD, Li SH, Fedak PWM, Li RK, Mickle DAG. C-reactive protein upregulates the NF- $\kappa$ B signaling pathway in saphenous vein endothelial cells: implications for atherosclerosis and restenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1886-91
229. Qamirani E, Ren Y, Kuo L, Hein TW. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent NO-mediated dilation in coronary arterioles by activating p38 kinase and NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:995-1001
230. Fichtlscherer S, Breuer S, Schachinger V, Dimmeler S, Zeiher AM. C-reactive protein levels determine systemic nitric oxide bioavailability in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2004;25:1412-8
231. Nagaoka T, Kuo L, Ren Y, Yoshida A, Hein TW. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent nitric oxide-mediated dilatation of retinal arterioles via enhanced superoxide production. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2053-60
232. Wassmann S, Ribaldo N, Faul A, Laufs U, Bohm M, Nickenig G. Effect of atorvastatin 80 mg on endothelial cell function (forearm blood flow) in patients with pretreatment serum low-density lipoprotein cholesterol levels <130 mg/dL. *Am J Cardiol* 2004;93:84-8
233. Žorić L, Kosanović-Jaković N, Čolak E, Radosavljević A, Jakšić V, Stević S. Oksidativni stres u sklopu faktora rizika od nastanka i razvoja senilne degeneracije makule. *Vojnosanit pregl* 2008;65(4):313-8
234. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111(12):1805-12

235. Chang MK, Binder CJ, Torzewski M, Witzum JL. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand:phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*2002;99:13043–8
236. Scholl HPN, Charbel Issa P, Walier M, Janzer S, Polloh-Kopp B, Börncke F, Fritsche LG, Chong NV, Fimmers R, Wienker T, Holz FG, Weber BHF, Oppermann M. Systemic complement activation in age-related macular degeneration. *PloS ONE* 2008;3(7):e2593
237. Blasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri G, Rebuzzi AG, Ginnetti F, Dinarello CA, Maseri A. Increasing level of interleukin (IL)-1 Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increasing risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999;99:2079–84
238. Ridker PM, Rifai N, Stampher MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000;101:1767–72
239. Ford ES, Giles WH. Serum C-reactive protein and fibrinogen concentration and self-reported angina pectoris and myocardial infarction: findings from National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Clin Epidemiol* 2000;53:95–102
240. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchewsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Rubin SM, Ding J, Simonsick EM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study. *Circulation* 2003; 108(19):2317–22
241. Kieck-Glaser JK, Preacher KJ, McCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(15):9090–5
242. Caruso C, Lio D, Cavallone L, Franceschi C. Aging, longevity, inflammation and cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1028:1–13

243. Klouche M, Rose-John S, Schmiedt W, Bhakdi S. Enzymatically degraded, monoxidized LDL induces human vascular smooth muscle cell activation, foam cell formation and proliferation. *Circulation* 2000; 101(15):1799-805
244. Nabata T, Morimoto S, Koh E, Shiraishi T, Ogihara T. Interleukin-6 stimulates c-myc expression and proliferation of cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem Int* 1990;20(3):445-53
245. Seino Y, Ikeda U, Ikeda M, Yamamoto K, Misawa Y, Hasegawa T, Kano S, Shimada K. Interleukin 6 gene transcripts are expressed in human atherosclerotic lesions. *Cytokine* 1994; 6(1):87-91
246. Cesari M, Penninx BW, Newman AB, Kritchevsky SB, Nicklas BJ, Sutton-Tyrrell K, Tracy RP, Rubin SM, Harris TB, Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health) Aging and Body Composition [Health ABC] Study. *Am J Cardiol* 2003;92(5):522-8
247. Williams N, Bertoncetto I, Jackson A, Arnold J, Kavnoudias H. The role of interleukin 6 in megakaryocyte formation, megakaryocyte development and platelet production. *Ciba Found Symp* 1992;167:160-70
248. Oleksowicz L, Mrowiec Z, Zuckerman D, Isaacs R, Dutcher J, Puszkun E. Platelet activation induced by interleukin 6 evidence for a mechanism involving arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost* 1994;72:302-8
249. Burstein SA. Effects of interleukin 6 on megakaryocytes and on canine platelet function. *Stem Cells* 1994;12:386-93
250. Okopien B, Hyper M, Kowalsky J, Belowsky D, Madej A, Zielinski M, Tokarz D, Kalina Z, Herman ZS. A new immunological marker of atherosclerotic injury of arterial wall. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001;109(3-4):241-8

251. Golubović-Arsovska M. Association of dyslipidaemia with macular oedema and hard exudates in diabetic maculopathy. *Prilozi* 2007;28(2):149-60
252. Nowak M, Swietochowska E, Marek B, Szapska B, Wielkoszynski T, Kos-Kudla B, Karpe J, Kajdaniuk D, Sieminska L, Glogowska-Szelang J, Nowak K. Changes in lipid metabolism in women with age-related macular degeneration. *Clin Exp Med* 2005;4(4):183-7
253. Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Vingerling JR, Klein BE, Smith W, De Jong PT. Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology* 2004; 111(7):1280-7
254. Van Leeuwen R, Klaver CC, Vingerling JR, Hofman A, Van Duijn CM, Stricker BH, De Jong PT. Cholesterol and age-related macular degeneration: is there a link? *Am J ophthalmol* 2004;137(4):750-2
255. Klein R, Klein BE, Tomany SC, Cruickshanks KJ. The association of cardiovascular disease with the long-term incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 2003;110(6):1273-80
256. Abalain JH, Carre JL, Legalise D, Robinet A, Legall F, Meskar A, Floch HH, Colin J. Is age-related macular degeneration associated with serum lipoprotein and lipoparticle levels? *Clin Chim Acta* 2002;326(1-2):97-104
257. Olofsson SO, Boren J. Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *J Int Med* 2005;258(5):395-410
258. Podrez EA, Poliakov E, Shen Z, Zhang R, Deng Y, Sun M, Finton PJ, Shan L, Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL, Hoff HF, Salomon RG, Hazen SL. A novel family of atherogenic oxidized phospholipids promotes macrophage foam cell formation via the scavenger receptor



- CD36 and is enriched in atherosclerotic lesions. *J Biol Chem* 2002;277(41):38517–23
259. Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, van Gils JM, Deng J, Halle A, Rayner KJ, Boyer L, Zhong R, Frazier WA, Lacy-Hulbert A, Khoury JE, Golenbock DT, Moore KJ. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nat Immunol* 2010;11(2):155–61
260. Dasari B, Prasanthi JR, Marwarha G, Singh BB, Ghribi O. The oxysterol 27-hydroxycholesterol increase  $\beta$ -amyloid and oxidative stress in retinal pigment epithelial cells. *BMC Ophthalmol* 2010;10(22)
261. Joffre C, Leclere L, Buteau B, Martine L, Cabaret S, Malvitte L, Acar N, Lizard G, Bron A, Creuzot-Garcher C. Oxysterols induced inflammation and oxidation in primary porcine retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res* 2007;32(3):271–80
262. Rodriguez IR, Larrayouz IM. Cholesterol oxidation in the retina: implications of 7KCh formation in chronic inflammation and age-related macular degeneration. *J Lip Res* 2010;51:2847–62
263. Moreira EF, Larrayoz IM, Lee JW, Rodriguez IR. 7-ketocholesterol is present in lipid deposits in the primate retina: potential implication in the induction of VEGF and CNV formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(2):523–32
264. Javitt NB, Javitt JC. The retinal oxysterol pathway: a unifying hypothesis for the cause of age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol* 2009;20(3):151–7
265. Curcio CA, Johnson M, Huang JD, Rudolf M. Aging, age-related macular degeneration, and the response-to-retention of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Prog Ret Eye Res* 2009;28 (6):393–422
266. Yamada Y, Ishibashi K, Ishibashi K, Bhutto IA, Tian J, Luttj DA, Handa JT. The expression of advanced glycation endproduct receptors in RPE cells associated with basal deposits in human maculas. *Exp Eye Res* 2006;82(5):840–8

267. Lommatzsch A, Hermans P, Muller KD, Bornfeld N, Bird AC, Pauleikhoff D. Are low inflammatory reactions involved in exudative age-related macular degeneration? Morphological and immunohistochemical analysis of AMD associated with basal deposits. *Gre Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246(6):803–10
268. Chau KY, Sivaprasad S, Patel N, Donaldson TA, Luthert PJ, Chong NV. Plasma levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 (MMP-2 and MMP-9) in age-related macular degeneration. *Eye* 2007;21:1511–5
269. Jessup W, Wilson P, Gaus K, Kritharides L. Oxidized lipoproteins and macrophages. *Vascul Pharmacol* 2002; 38: 239–48
270. Lee CS, Joe EH, Jou I. Oxysterols suppress inducible nitric oxide synthase expression in lipopolysaccharide-stimulated astrocytes through liver X receptor. *Neuroreport* 2006;17: 183–7
271. Lee HS, Chang JS, Baek JA, Chung MY, Lee HC, Rhim BY, Sok DE, Rho MC, Kim YK, Kim K. TNF-alpha activates death pathway in human aorta smooth muscle cell in the presence of 7-ketocholesterol. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;333: 1093–9
272. Agrawal S, Agarwal ML, Chatterjee-Kishore M, Stark GR, Chisolm GM. Stat1-dependent, p53-independent expression of p21(waf1) modulates oxysterol-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 2002;22: 1981–92.
273. Ong JM, Aoki AM, Seigel GM, Sacerio I, Castellon R, Nesburn AB, Kenney MC. Oxysterol-induced toxicity in R28 and ARPE-19 cells. *Neurochem Res* 2003;28: 883–91
274. Sung SC, Kim K, Lee KA, Choi KH, Kim SM, Son YH, Moon YS, Eo SK, Rhim BY. 7-Ketocholesterol upregulates interleukin-6 via mechanisms that are distinct from those of tumor necrosis factor-alpha, in vascular smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2009. 46: 36–44

275. Erridge C, Webb DJ, Spickett CM. 25-Hydroxycholesterol, 7beta-hydroxycholesterol and 7-ketocholesterol upregulate interleukin-8 expression independently of Toll-like receptor 1, 2, 4 or 6 signalling in human macrophages. *Free Radic Res* 2007;41: 260–6
276. Napolitano M, Bravo E. Lipid metabolism and TNF-alpha secretion in response to dietary sterols in human monocyte derived macrophages. *Eur J Clin Invest*. 2005;35: 482–90
277. Luthra S, Dong J, Gramajo AL, Chwa M, Kim DW, Neekhara A, Kuppermann BD, Kenney MC. 7-Ketocholesterol activates caspases-3/7, -8, and -12 in human microvascular endothelial cells in vitro. *Microvasc Res* 2008;75: 343–50
278. Pedruzzi E, Guichard C, Ollivier V, Driss F, Fay M, Prunet C, Marie JC, Pouzet C, Samadi M, Elbim C. NAD(P)H oxidase Nox-4 mediates 7-ketocholesterol-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis in human aortic smooth muscle cells. *Mol Cell Biol* 2004;24: 10703–17
279. Palozza P, Serini S, Verdecchia S, Ameruso M, Trombino S, Picci N, Monego G, Ranelletti FO. Redox regulation of 7-ketocholesterol-induced apoptosis by beta-carotene in human macrophages. *Free Radic Biol Med* 2007; 42: 1579–90
280. Sung SC, Kim K, Lee KA, Choi KH, Kim SM, Son YH, Moon YS, Eo SK, Rhim BY. 7-Ketocholesterol upregulates interleukin-6 via mechanisms that are distinct from those of tumor necrosis factor-alpha, in vascular smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2009;46: 36–44
281. Ingueneau C, Huynh-Do U, Marcheix B, Athias A, Gambert P, Negre-Salvayre A, Salvayre R, Vindis C. TRPC1 is regulated by caveolin-1 and is involved in oxidized LDL-induced apoptosis of vascular smooth muscle cells. *J Cell Mol Med* 2009;13:1620–31

282. Larrayoz IM, Huang JD, Lee JW, Pascual I, Rodriguez IR. 7-Ketocholesterol-induced inflammation is mediated by multiple kinase signaling pathways via NFκB but independently of reactive oxygen species formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(10):4942–55
283. Phillips JE, Geng YJ, Mason RP. 7-Ketocholesterol forms crystalline domains in model membranes and murine aortic smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2001; 159: 125–35
284. Massey JB. Membrane and protein interactions of oxysterols. *Cur Opin Lipidol* 2006; 17: 296–301
285. Čolak E, Dimitrijević-Srećković V, Djordjević P, Stanković S, Glišić B, Srećković B, Majkić-Singh N. Biomarkers of enzymatic and non-enzymatic antioxidative defense in type 2 diabetes mellitus-comparative analysis. *Biochem Med* 2008;18(1):42–51
286. Venza I, Visalli M, Cucinotta M, Teti D, Venza M. Association between oxidative stress and macromolecular damage in elderly patients with age-related macular degeneration. *Aging Clin Exp Res* 2012;24(1):21–7
287. Karaouzene N, Merzouk H, Aribi M, Merzouk SA, Berrouiguet AY, Tessier C, Narce M. Effects of the association of aging and obesity on lipids, lipoproteins and oxidative stress biomarkers: a comparison of older with young men. *Nutr Metab cardiovasc Dis* 2011;21(10):792–9
288. Inal ME, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin Chim Acta* 2001;305(1-2):75–80
289. Weber U, Michaelis L, Wirth KE. Serum lipids and vitamins in senile macular degeneration. *Ophthalmologe* 1993;90(5):486–9
290. Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring J. Non-HDL, cholesterol, apolipoproteins A1 and B100, standard lipid measures, lipid ratios and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA* 2005;294(3):326–33
291. Yu AL, Lorenz RL, Haritoglou C, Kampik A, Welge-Lüssen U. Biological effects of native and oxidized low-density lipoproteins in

- cultured human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res* 2009;88(3):495–503
292. Ozer PA, Unlu N, Demir MN, Hazirolan DO, Acar MAS, Duman S. Serum lipid profile in diabetic macular edema. *Diabetes Complications* 2009;23(4):244–8
293. Evans J. Antioxidant supplements to prevent or slow down the progression of AMD: a systematic review and meta-analysis. *Eye* 2008;22:751–60
294. Raman R, Rani PK, Kulothungan V, Racheppalle SR, Kumaramanickavel G, Sharma T. Influence of serum lipids on clinically significant versus nonclinically significant macular edema: SM-DREAMS Report No13. *Ophthalmology* 2010;117(4):766–72
295. Schaumberg DA, Christen WG, Buring JE, Glynn RJ, Rifai N. High sensitive C-reactive protein, and the incidence of macular degeneration in women. *Arch Ophthalmol* 2007;125(3):300–5
296. Klein R, Knudtson MD, Klein BE, Wong TY, Cotch MF, Cheng KL, Burke GL, Saad MF, Jacobs DR, Sharrett RA. Inflammation, complement factor H, and age-related macular degeneration: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ophthalmology* 2008;115(19):1742–9
297. Cousins SW, Marin-Castano ME, Espinosa-Heidmann DG, Alexandridou A, Elliot S. Female gender, estrogen loss and sub-retinal deposit formation in aged mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44:1221–9
298. Cakatay U, Aydin S, Yanar K, Uzun H. Gender-dependent variations in systemic biomarkers of oxidative protein, DNA and lipid damage in rats. *Aging male* 2010;13(1):51–8
299. Boekhoorn SS, Vingerling JR, Uitterlinden MC, Van Meurs JB, Van Duijn CM, Pols HA, Hofman A, de Jong PT. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms associated with incident aging macula disorder. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(3):1012–7

300. Elliot SJ, Catanuto P, Espinosa-Heidmann DG, Fernandez P, Hernandez E, Saloupis P. Estrogen receptor  $\beta$  protects against in vivo injury in RPE cells. *Exp Eye Res* 2010;90(1):10-6
301. The Women's Health Initiative Study Group. Design of the Women's Health Initiative clinical trial and observational study. *Control Clin Trials*. 1998;19:61-109.
302. Souied EH, Benlian P, Amouyel P, Feingold J, Lagarde JP, Munnich A, Kaplan J, Coscas G, Soubrane G. The epsilon 4 allele of the apolipoprotein E gene as a potential protective factor for age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1998; 125:353-9
303. Vingerling JR, Dielemans I, Witteman JCM, Hofman A, Grobbee DE, de Jong PT. Macular degeneration and early menopause: a case-control study. *BMJ* 1995;310:1570-1
304. Eye Disease Case-Control Study Group. Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 1992; 110:1701-8
305. Klaver CC, Assink JJ, van LR, Wolfs RC, Vingerling JR, Stijnen T, Hofman A, de Jong PT. Incidence and progression rates of age related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(10): 2237-41
306. Klein R, Klein BE, Kundtson MD, Meuer SM, Swift M, Ganga RE. Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver dam Eye Study. *Ophthalmology* 2007;114(2):253-62
307. Wang JJ, Rochtchina E, Lee AJ, Chia EM, Smith W, Cumming RG, Mitchell P. Ten-years incidence and progression of age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007;114(1):92-8
308. Risk factors associated with age-related macular degeneration. A case-control study: Age-Related Eye Disease Study report No 3. *Ophthalmology* 2000;107(12):2224-32

309. Sperduto RD, Hiller R. Systemic hypertension and age-related maculopathy in the Framingham Study. *Arch Ophthalmol* 1986;104:216-19
310. Klein R, Klein BE, Tomany SC, Cruickshanks KJ. The association of cardiovascular disease with the log-term incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 2003;110(4):636-43
311. Hyman L, Schachat AP, He Q, Leske C. Age related macular degeneration risk factors Study Group. Hypertension, cardiovascular disease and age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2000;118:351-8
312. Ocult choroidal neovascularization. Influence on visual outcome in patients with age-related macular degeneration. Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol* 1996;114(4):400-12
313. Santos LP, Diniz JR, Leao AC, Sena MF. Age-related macular degeneration: analysis in two ophthalmological centers in Pernambuco-Brazil. *Arq Bras Ophthalmol* 2005;68(2):229-33
314. Simić DV, Mimić-Oka J, Plješa-Ercegovac M, Savić-Radojević A, Opačić M, Matić D, Ivanović B, Simić T. Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with degree of essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2006;20(2):149-55
315. Rybka J, Kupczyk D, Kedziora-Kornatowska K, Pawluk H, Czuczejko J, Szewczyk-Golec K, Kozakiewicz M, Antonioli M, Carvalho LA, Kedziora J. Age-related changes in an antioxidant defense system in elderly patients with essential hypertension compared with healthy controls. *Redox Rep* 2011;16(2):71-7
316. Langlois M, De Bacquer D, Duprez D, De Buyzere M, Delanghe J, Blaton V. Serum uric acid in hypertensive patients with and without peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 2003;168(1):163-8

317. Delcourt C, Lacroux A, Carrière I; POLA Study Group. The three-year incidence of age-related macular degeneration: the "Pathologies Oculaires Liées à l'Age" (POLA) prospective study. *Am J Ophthalmol*. 2005 Nov;140(5):924–6.
318. Clemons TE, Milton RC, Klein R, Seddon JM, Ferris FL 3rd, Age-Related Eye Disease Study Group. Risk factors for the incidence of advanced age-related macular degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no.19. *Ophthalmology* 2005; 112(4):533–9
319. Moeini HA, Masoudpour H, Ghanbari H. A study of the relation between body mass index and the incidence of age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2005;89(8):964–6
320. Cruickshanks K, Hamman RF, Klein R, Nondahl DM, Shetterly SM. The prevalence of age-related maculopathy by geographic region and ethnicity: the Colorado-Wisconsin Study of Age-Related Maculopathy. *Arch Ophthalmol* 1997;115(2):242–50
321. Klein R, Klein BK, Jensen SC, Mares-Perlman JA, Cruickshanks K, Palta M. Age-related maculopathy in a multiracial United States population: the National Health and Nutrition Examination Survey III. *Ophthalmology* 1999;106:1056–65
322. Klein R, Klein BK, Marino EK, Kuller LH, Furberg C, Burke GL, Hubbard LD. Early age-related maculopathy in the Cardiovascular Health Study. *Ophthalmology* 2003;110:25–33
323. Klein R, Klein BE, Moss SE. Diabetes, hypoglycemia, and age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmol* 1992;99(10):1527–34
324. Mitchell P, Wang JJ. Diabetes, fasting blood glucose and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Aust N Z J Ophthalmol* 1999;27:197–9



325. Choi JK, Lym YL, Moon JW, Shin HJ, Cho b. Diabetes mellitus and early age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2011;129(2):196-9
326. Choundhury F, Varma R, McKean-Cowdin R, Klein R, Azen SP, Los Angeles Latino Eye Study. Risk factors for four-year incidence and progression of age-related macular degeneration: the Los Angeles latino Eye Study. *Am J Ophthalmol* 2011;152(3):385-95
327. Tan JS, Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Cardiovascular risk factors and the long-term incidence of age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 2007;114(6):1143-50
328. Chin CJ, Milton RC, Gensler G, Taylor A. Association between dietary glycemic index and age-related macular degeneration in nondiabetic participants in the Age-related Eye Disease Study. *Am J Clin Nutr* 2007;86(1):180-8
329. Khan JC, Thurley DA, Shadhd H, Clayton DG, Yates JR, Bradley M, Moore AT, Bird AC, Genetic factors in AMD Study Group. Smoking and age-related macular degeneration: the number of pack years of cigarette smoking is a major determinant of risk for both geographic atrophy and choroidal neovascularization. *Br J Ophthalmol* 2006;90(1):75-80
330. Mitchell P, Wang JJ, Smith W, Leeder SR. Smoking and the 5-year incidence of age-related maculopathy: The Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol* 2002;120(10):1357-63
331. Fujihara M. Chronic cigarette smoking causes oxidative damage and apoptosis to RPE cells in mice. *Plos One* 2008; 3(9):e319
332. Delacourt C, Diaz JL, Ponton-Sanchez A, Popoz L. Smoking and age-related macular degeneration. The POLA Study. *Pathologies Oculaires Liees a l'Age*. *Arch Ophthalmol* 1998;116(8):1031-5
333. Martin-Timon I, Secades I, Botella-Carretero JJ. Smoking, obesity and body fat distribution are independently associated with insulin

resistance and other cardiovascular risk factors. Rev Clin Esp  
2007;207(3):107-11

## Biografija

Emina Čolak (rođena Milotin) rođena je 6 septembra 1960. godine, u Begejcima (danas Torak), opština Žitište, SR Srbija, od oca Sime i majke Ileana. Osnovnu školu je završila u rodnom mestu a usmereno (srednje) obrazovanje u Zrenjaninu, obe sa diplomom »Vuk Karadžić«. Farmaceutski fakultet je upisala školske 1979/80. godine u Sarajevu koji je završila 28.9.1983 godine. Staž je obavila u Centralnoj apoteci u Zrenjaninu, gde se zaposlila 3.01.1984. i u kojoj je radila do oktobra 1989. godine, kada je prešla u kliničko-biohemijsku laboratoriju Opšte bolnice »Dr. Đorđe Joanović« u Zrenjaninu. Specijalizaciju iz medicinske biohemije je upisala oktobra 1989. godine na Medicinskom fakultetu u Novom Sadu, koju je uspešno završila 20.11.1992. godine. Nakon završetka specijalizacije, radila je u gore pomenutoj kliničko-biohemijskoj laboratoriji do 3 januara 1996. godine, kada je prešla u Institut za medicinsku biohemiju KCS i to u Centralnu laboratoriju Urgentnog Centra (danas Služba za urgentnu laboratorijsku dijagnostiku KCS). Dana 1.04.2001. godine postavljena je za vršioca dužnosti načelnika G odeljenja (biohemijskog), koju je obavljala sve do 1.02.2003. godine, kada je postavljena za načelnika odeljenja Instituta za medicinsku biohemiju u Institutu za medicinu rada i radiološku zaštitu. Na toj funkciji je bila do 25.12.2006. godine, kada je prešla u Institut za ortopedsku hirurgiju i traumatologiju KCS, gde obavlja funkciju rukovodioca jedinice Centra za medicinsku biohemiju KCS. Dana 14.10.2005. god. odbranila je magistarski rad sa temom *»Uticao hiperglikemije na vrednosti parametara antioksidativne zaštite kod dijabetičara tipa 2 sa kardiovaskularnim komplikacijama«* na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu, ispred komisije u sastavu: Prof. dr Nada Majkić-Singh, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta, predsednik komisije i mentor, Prof. dr Svetlana Ignjatović, vanredni profesor Farmaceutskog fakulteta, član komisije i Prof. dr Predrag Djordjević; redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu član komisije.

Odlukom Ministarstva zdravlja br: 153-07-597/2005-02 od 1.04.2005. godine dodeljeno joj je zvanje »Primarijus«. Autor je i koautor preko 100 stručnih i naučnih radova, izlaganih na domaćim i stranim kongresima, ili objavljenih u celini u vodećim nacionalnim i međunarodnim časopisima. Odlukom Nastavno-naučnog Veća Medicinskog fakulteta u Beogradu br. 04/1935 donete na sednici održanoj 20.03.2006. god. aktivno učestvuje u edukaciji lekara na specijalizaciji iz oblasti kliničke biohemije. Dana 27.12.2011. god. odbranila je subspecijalistički rad pod naslovom *»Dijagnostički značaj Matriks metaloproteinaze-9 (MMP-9) kao ranog markera akutnog infarkta miokarda.«* ispred komisije u sastavu: Prof. dr Nada Majkić-Singh, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta, predsednik komisije i mentor, Prof. dr Vesna Spasojević-Kalimanovska, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta, član komisije i Prof. dr Svetlana Ignjatović, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta, član komisije.

Udata je i majka je dve ćerke. Govori tečno engleski i rumunski jezik.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а \_\_\_\_\_ ЧОЛАК ЕМИНА

број уписа \_\_\_\_\_

### Изјављујем


да је докторска дисертација под насловом

„ПОВЕЗАНОСТ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА, ИНФЛАМАЦИЈЕ И  
ДИСЛИПИДЕМИЈЕ У ПАТОГЕНЕЗИ СЕНИЛНЕ ДЕГЕНЕРАЦИЈЕ МАКУЛЕ“

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

Потпис докторанда

У Београду, 20.10.2012 год.

\_\_\_\_\_ 

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске  
верзије докторског рада**

Име и презиме аутора: ЕМИНА ЧОЛАК

Број уписа \_\_\_\_\_

Студијски програм: МЕДИЦИНСКА БИОХЕМИЈА

Наслов рада: „ПОВЕЗАНОСТ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА, ИНФЛАМАЦИЈЕ И  
ДИСЛИПИДЕМИЈЕ У ПАТОГЕНЕЗИ СЕНИЛНЕ ДЕГЕНЕРАЦИЈЕ МАКУЛЕ“

Ментор: Проф. др Нада Мајкић-Сингх

Потписани ЕМИНА ЧОЛАК

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

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

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

**Потпис докторанда**

У Београду, 20.10.2012 год.

  
\_\_\_\_\_

Прилог 3.

### Изјава о коришћењу

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

ПОВЕЗАНОСТ ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА, ИНФЛАМАЦИЈЕ И ДИСЛИПИДЕМИЈЕ  
У ПАТОГЕНЕЗИ СЕНИЛНЕ ДЕГЕНЕРАЦИЈЕ МАКУЛЕ

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

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

Потпис докторанда

У Београду, 20.10.2012.год.

