

## Uticaj hipertrigliceridemije na male, guste LDL i HDL čestice u koronarnoj arterijskoj bolesti

Aleksandra Zeljković<sup>1\*</sup>, Jelena Vekić<sup>1</sup>,  
Vesna Spasojević-Kalimanovska<sup>1</sup>, Zorana Jelić-Ivanović<sup>1</sup>,  
Nataša Bogavac-Stanojević<sup>1</sup>, Slavica Spasić<sup>1</sup>,  
Dimitra Kalimanovska-Oštrić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

<sup>2</sup> Institut za kardiovaskularne bolesti, Klinički centar Srbije, 11000 Beograd, Srbija

---

### Kratak sadržaj

Poremećaji koncentracije lipoproteina doprinose progresiji ateroskleroze u koronarnoj arterijskoj bolesti (KAB). Ispitivanjem zastupljenosti malih, gustih čestica lipoproteina niske (LDL) i visoke gustine (HDL), kao i otkrivanjem faktora koji utiču na njihovo povećano stvaranje, moguće je smanjiti rizik za pojavu budućih kardiovaskularnih događaja. U ovoj studiji ispitivali smo uticaj koncentracije triglicerida (TG) na veličinu i raspodelu LDL i HDL subfrakcija kod 181 pacijenta sa KAB i 178 zdravih osoba. LDL i HDL subfrakcije su razdvojene metodom vertikalne elektroforeze na gradijentu poliakrilamida, a koncentracije lipidnih parametara su određene rutinskim laboratorijskim metodama. Utvrdili smo da KAB pacijenti imaju značajno manje dijemetre LDL i HDL čestica ( $P < 0,001$ ), veći udeo LDL III, a manje HDL 2b subfrakcija ( $P < 0,05$ ). U KAB grupi povišena koncentracija TG bila je u korelaciji sa manjim LDL i HDL dijametrima i nižim udelom LDL I subfrakcija. Pacijenti sa hipertrigliceridemijom imali su manje LDL dijemetre ( $P < 0,01$ ) i veći udeo malih, gustih LDL čestica ( $P < 0,05$ ) u odnosu na normotrigliceridemične pacijente. Sem toga, kod pacijenata sa hipertrigliceridemijom uočena je preraspodela HDL subfrakcija ka manjim česticama. Naši rezultati ukazuju da je koncentracija TG u serumu glavni lipidni faktor rizika koji determiniše količinu malih, gustih LDL i HDL čestica u KAB.

**Ključne reči:** koronarna arterijska bolest; LDL; HDL; hipertrigliceridemija.

---

\*Adresa za korespondenciju : **Aleksandra Zeljković**

Katedra za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija, Tel: (+381 11) 3970284 Fax: (+381 11) 3972840

E-mail: [aleksandra.zeljkovic@pharmacy.bg.ac.rs](mailto:aleksandra.zeljkovic@pharmacy.bg.ac.rs)

## Uvod

Ateroskleroza je kompleksan proces koji ima multifaktorsku etiologiju i hroničan tok. U nizu sukcesivnih događaja tokom aterogeneze primarno mesto zauzima akumulacija holesterola u intimi krvnog suda. Stoga se povišena koncentracija holesterola u lipoproteinima niske gustine (LDL-h) i snižena koncentracija holesterola u lipoproteinima visoke gustine (HDL-h) smatraju glavnim lipidnim faktorima rizika za nastanak ateroskleroze. Ipak, i pored snažnih dokaza u prilog lipidnoj hipotezi, brojne studije su pokazale da određivanje koncentracija LDL-h i HDL-h nije uvek dovoljno za pravovremenu dijagnozu, kao i za prepoznavanje osoba sa povišenim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB).

U novije vreme dokazano je da etiopatogeneza ateroskleroze podrazumeva sadejstvo dislipidemije, inflamacije i oštećenja endotela pod dejstvom slobodnih kiseoničnih radikala (1), što je uticalo na pomeranje težišta istraživanja sa kvantitativnih na kvalitativna svojstva serumskih lipoproteina (2). Naime, lipoproteini predstavljaju heterogenu grupu čestica sastavljenu od većeg broja subfrakcija, koje se razlikuju po sadržaju lipida i proteina. Prethodna istraživanja pokazala su da pojedine LDL i HDL subfrakcije imaju različita funkcionalna svojstva i, sledstveno, različit stepen aterogenog, odnosno ateroprotektivnog delovanja. Sa stanovišta ateroskleroze najznačajnije su male, guste LDL čestice, jer imaju najveći aterogeni potencijal (3). S druge strane, kompleksan metabolizam i očigledne razlike u strukturi pojedinih HDL subfrakcija sugerišu i različitu protektivnu ulogu u aterogenezi, odnosno manje ili više izražena antiaterogena svojstva (4).

Funkcionalna svojstva LDL i HDL čestica u mnogome zavise od ukupnog vaskularnog okruženja u kome se one nalaze (3, 4). U tom smislu, važan modulatoreni efekat mogu imati i promene u koncentraciji serumskih lipida. Dobro je poznato da povišena koncentracija triglicerida (TG) u serumu povećava rizik za razvoj KVB. Kako je metabolizam lipoproteina suštinski povezan, povišena koncentracija TG značajno utiče na remodelovanje lipoproteinskih čestica i tako doprinosi povećanju njihovog aterogenog potencijala (5). Dokazano je da lipoproteini obogaćeni TG predstavljaju jedan od ključnih elemenata aterogeneze (6). Nelipidni faktori rizika za KVB kao što su gojaznost, pušenje, fizička neaktivnost, prekomeran unos alkohola, metaboličke bolesti i neki lekovi, takođe su unakrsno povezani sa serumskom koncentracijom TG, što dodatno komplikuje tumačenje laboratorijskih nalaza i evaluaciju pojedinačnog doprinosa TG razvoju bolesti (7).

Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita uticaj koncentracije TG na veličinu i raspodelu LDL i HDL subfrakcija kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću (KAB) i kod zdravih osoba.

## **Materijal i metode**

### ***Ispitanici***

U istraživanju je učestvovao 181 pacijent (118 muškaraca i 63 žene) sa KAB i 178 zdravih osoba. Pacijenti su na Institutu za kardiovaskularne bolesti Kliničkog centra Srbije podvrgnuti koronarnoj angiografiji na osnovu koje je procenjena težina koronarnog oboljenja. Indikacije za invazivnu dijagnostiku bile su: stabilna angina pektoris, nestabilna angina pektoris, infarkt miokarda ili atipičan bol u grudima sa pozitivnom istorijom KVB u porodici. Procenjivano je suženje na desnoj koronarnoj arteriji, levoj descendentnoj arteriji i levoj circumflexus arteriji. Dva iskusna kardiologa su bez prethodnog znanja o stanju pacijenta procenjivali koronarografski nalaz, a konačna odluka se donosila konsenzusom. Kontrolna grupa je formirana u toku redovnih sistematskih pregleda u Domu zdravlja „Palilula” i Domu zdravlja „Novi Beograd”, a činili su je zdravi ispitanici upareni sa pacijentima po kriterijumu pola i starosti. Kriterijumi za isključivanje prilikom formiranja kontrolne grupe bili su: prisustvo KVB, bilo koje druge sistemske inflamatorne ili metaboličke bolesti, bolesti jetre ili bubrega, te uzimanje lekova koji mogu uticati na lipidni status.

Sa svim učesnicima u istraživanju obavljen je standardizovan intervju. Sakupljeni su anamnestički podaci koji su uključivali: pol, godine, visinu, težinu, krvni pritisak, osnovne životne navike i porodičnu istoriju KVB u prvostepenom srodstvu. Zabeleženi su i podaci o uzimanju lekova. Iz podataka za visinu i težinu izračunat je indeks telesne mase (ITM). Hipertenzija je definisana kao sistolni pritisak  $\geq 140$  mg Hg, dijastolni pritisak  $\geq 90$  mg Hg, ili uzimanje antihipertenzivne terapije. Dijabetes melitus je definisan kod pacijenata kod kojih je koncentracija glukoze bila  $\geq 6,1$  mmol/L ili su bili na terapiji hipoglikemicima. Ispitanici su smatrani hipertrigliceridemičnim ukoliko je izmerena koncentracija TG bila  $\geq 1,69$  mmol/L (8). Istraživanje je planirano i sprovedeno prema etičkim principima u skladu sa Deklaracijom iz Helsinkija, a na osnovu odobrenja Etičkog komiteta za klinička ispitivanja Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Svi ispitanici su dali pismeni pristanak za učestvovanje u istraživanju.

### ***Biohemijske analize***

Uzorci krvi iz prednje kubitalne vene su uzeti od svih ispitanika posle dvanaestčasovnog noćnog gladovanja. Krv je uzeta u epruvete sa EDTA, citratom ili separacionim gelom. Serum i plazma su odvojeni od krvnih ćelija u roku od jednog sata, a uzorci su zatim podeljeni u porcije od 200  $\mu$ L i čuvani u zamrzivaču na  $-80^{\circ}\text{C}$  do izvođenja analiza. Koncentracije ukupnog holesterola (UH), LDL-h, HDL-h, TG, apolipoproteina B (apoB) i apolipoproteina AI (apoAI) određene su standardnim biohemijskim metodama.

## ***Razdvajanje i evaluacija LDL i HDL subfrakcija***

Za istovremeno razdvajanje LDL i HDL subfrakcija korišćena je metoda vertikalne elektroforeze na kompozitnom poliakrilamidnom gradijent (3-31%) gelu (9, 10). Ukratko, elektrofororetsko razdvajanje LDL i HDL subfrakcija se vršilo u vertikalnoj kadi Hoefer SE 600 Ruby (Amersham Pharmacia Biotech, Vienna, Austria) na 8°C u Tris puferu pH 8,35. Za kalibraciju gelova korišćeni su tireoglobulin (17,0 nm), feritin (12,2 nm), laktat dehidrogenaza (8,4 nm), albumin (7,1 nm) i standardizovana humana plazma sa dve LDL subfrakcije poznatog dijametra (26,99 i 25,52 nm). Densitometriiranje gelova je vršeno na skeneru Image Scanner (Amersham Pharmacia Biotech, Vienna, Austria), uz korišćenje programa Image Quant software (version 5.2;1999; Molecular Dynamics). Na osnovu densitometrijskog prikaza određeni su dominantni LDL i HDL dijametri, te relativni (%) udeo svake pojedinačne subfrakcije u ukupnom LDL ili HDL profilu ispitanika. Relativni udeo malih, gustih LDL čestica definisali smo kao zbir relativnih udela svih subfrakcija čiji je dijametar  $\leq 25,5$  nm, odnosno kao zbir relativnih udela LDL III i LDL IV subfrakcija. Analogno tome, relativni udeo malih HDL čestica je definisan kao zbir relativnih udela subfrakcija HDL 3a, 3b i 3c, odnosno svih subfrakcija čiji je dijametar  $\leq 8,8$  nm (11).

## ***Statistička analiza***

Kontinuirani podaci su prikazani kao aritmetičke srednje vrednosti i standardne devijacije za normalno distribuirane parametre, odnosno kao geometrijske srednje vrednosti i intervali pouzdanosti (CI) za parametre koji nisu normalno distribuirani, ali im logaritmovane vrednosti prate normalnu raspodelu. Kategorički podaci su prikazani kao apsolutne frekvence. Razlike između kontinuiranih varijabli proveravane su Studentovim t-testom, a između kategoričkih varijabli upotrebom  $\chi^2$  testa (tablice kontigencije). Za proveru korelacije između različitih parametara korišćena je Spearmanova neparametarska korelaciona analiza, dok je multipla linearna regresiona analiza primenjena za ispitivanje nezavisnih faktora uticaja na varijacije u veličini LDL i HDL čestica.

## **Rezultati**

Opšte kliničke i demografske karakteristike učesnika u studiji prikazane su u Tabeli I. Evaluacijom nelipidnih faktora rizika za KVB utvrdili smo značajno više vrednosti BMI i veći procenat pušača kod pacijenata. Očekivano, prevalenca arterijske hipertenzije je bila veća kod pacijenata. Koncentracija TG bila je značajno viša u KAB grupi, dok su koncentracije HDL-h i apoAI bile niže. Međutim, nije bilo značajne razlike u koncentracijama UH, LDL-h i apoB između posmatranih grupa. Dominantni dijametri LDL i HDL čestica bili su značajno niži kod pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu.

**Tabela I** Demografske i kliničke karakteristike pacijenata sa KAB i kontrolne grupe  
**Table I** Demographic and clinical characteristics of CAD patients and controls

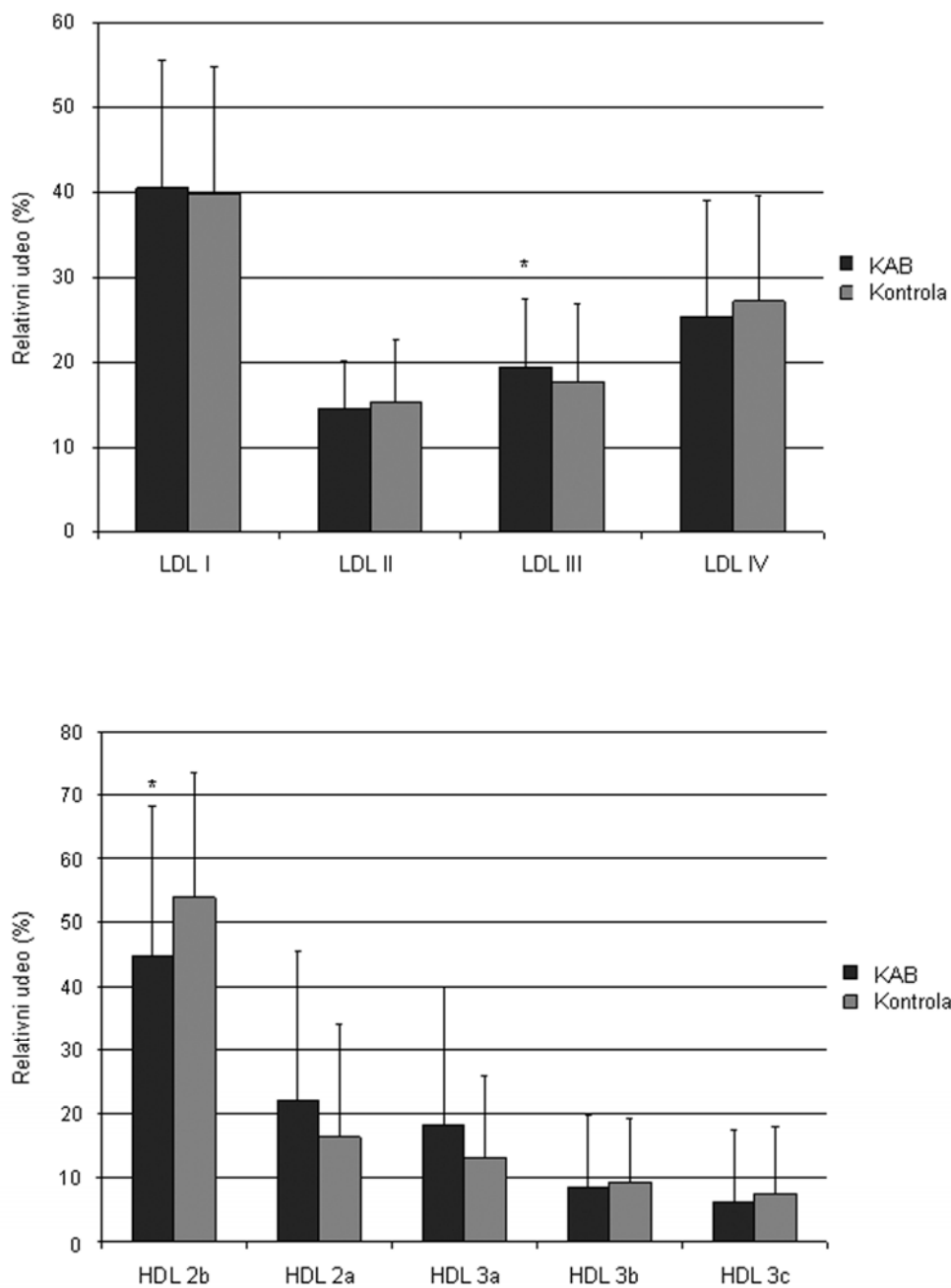
	<b>Pacijenti (181)</b>	<b>Kontrola (178)</b>	<b>P<sup>a</sup></b>
Pol, muškarci (%)	65,2	55,1	0,149
Starost (godine)	56,08 ± 9,10	55,33 ± 10,43	0,464
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,77 ± 3,71	26,21 ± 3,60	<0,001
Pušači (%)	50,3	29,7	<0,001
Hipertenzija (%)	86,8	45,5	<0,001
Infarkt miokarda (%)	38,3	0,0	<0,001
Dijabetes melitus (%)	16,6	0,0	<0,001
UH (mmol/L)	5,37 ± 1,11	5,44 ± 0,98	0,516
LDL-h (mmol/L)	3,68 ± 1,06	3,61 ± 0,92	0,506
HDL-h (mmol/L)	0,82 ± 0,21	1,18 ± 0,32	<0,001
TG* (mmol/L)	2,04 (1,91 - 2,16)	1,36 (1,27 - 1,45)	<0,001
ApoAI (g/L)	1,39 ± 0,29	1,85 ± 0,42	<0,001
ApoB (g/L)	1,38 ± 0,35	1,32 ± 0,31	0,117
Dominantni LDL dijametar (nm)	25,85 ± 1,38	26,62 ± 1,09	<0,001
Male, guste LDL čestice (%)	44,76 ± 16,78	44,84 ± 15,17	0,959
Dominantni HDL dijametar (nm)	9,69 ± 1,15	10,30 ± 1,09	<0,001
Male HDL čestice (%)	29,7 ± 17,1	32,7 ± 22,9	0,160

Vrednosti su predstavljene kao aritmetičke srednje vrednosti ± standardne devijacije, ili kao procenti.

\* Za TG je prikazana geometrijska srednja vrednost i interval pouzdanosti.

<sup>a</sup> Upoređivanje je vršeno Student-t testom za kontinuirane promenljive i  $\chi^2$  testom (tablice kontingencije) za kategoričke podatke.

Raspodele LDL i HDL subfrakcija kod pacijenata i kontrola prikazane su na Slici 1. Pacijenti su imali značajno veći udeo malih, gustih LDL III subfrakcija, dok je udeo HDL 2b čestica bio značajno veći u kontrolnoj grupi.



Slika 1. Relativni udeli LDL i HDL subfrakcija kod pacijenata sa KAB i u kontrolnoj grupi \*P<0,05

Figure 1. Relative proportions of LDL and HDL subclasses in CAD patients and controls

Povezanost veličine i relativnih udela LDL i HDL subfrakcija sa parametrima lipidnog statusa u grupi pacijenata sa KAB ispitivane su Spearman-ovom korelacionom analizom. Utvrdili smo da je koncentracija TG u negativnoj korelaciji sa dijametrima dominantnih LDL ( $r = -0,216$ ;  $P < 0,01$ ) i HDL ( $r = -0,141$ ;  $P < 0,05$ ) čestica, kao i sa udelom LDL I subfrakcija ( $r = -0,251$ ;  $P < 0,01$ ). Koncentracija HDL-h je bila u pozitivnoj korelaciji sa dominantnim LDL dijametrom ( $r = 0,184$ ;  $P < 0,05$ ) i udelom LDL I subfrakcija ( $r = 0,228$ ;  $P < 0,01$ ), a u negativnoj sa udelom malih, gustih LDL III ( $r = -0,142$ ;  $P < 0,05$ ) i LDL IV ( $r = -0,202$ ;  $P < 0,01$ ) čestica. Sa porastom koncentracije apoB smanjivao se dominantni dijametar HDL čestica ( $r = -0,182$ ;  $P < 0,05$ ), dok je sa porastom koncentracije apoAI rastao dijametar LDL čestica ( $r = 0,184$ ;  $P < 0,05$ ) i udeli LDL I ( $r = 0,183$ ;  $P < 0,05$ ) i LDL II ( $r = 0,168$ ;  $P < 0,05$ ), a smanjivao se udeo LDL IV ( $r = -0,227$ ;  $P < 0,01$ ) subfrakcija.

Da bi se ispitaio nezavisni uticaj lipidnih faktora rizika na veličine LDL i HDL čestica kod pacijenata sa KAB, ovi parametri su uključeni u *forward stepwise* multiplu regresionu analizu (Tabela II). U model koji je ispitivao nezavisne faktore uticaja na LDL dijametar uključeni su i dominantni HDL dijametar i relativni udeo malih HDL subfrakcija (HDL 3a-3c), dok je model za procenu uticaja na dominantni HDL dijametar uključivao i dominantni LDL dijametar i relativni udeo malih LDL subfrakcija (LDL III-IV). Dobijeni rezultati pokazali su da je povišena koncentracija TG nezavisno doprinosila smanjenju LDL dijametara. Takođe, male HDL čestice su izdvojene kao nezavisni prediktori LDL dijametara. Analiza je takođe pokazala da su koncentracije TG, UH, HDL-h, apoAI i apoB nezavisne determinante veličine HDL čestica.

U daljoj analizi ispitivan je efekat hipertrigliceridemije poređenjem dominantnih LDL i HDL dijametara i raspodela njihovih subfrakcija između ispitanika sa poželjnim i rizičnim koncentracijama serumskih TG u obe grupe. U Tabeli III prikazane su razlike u dominantnim dijametrima i udelima malih, gustih LDL i HDL čestica između hipertrigliceridemičnih i normotrigliceridemičnih pacijenata, kao i razlike između zdravih ispitanika sa poželjnim i povišenim koncentracijama TG.

Utvrdili smo da pacijenti sa hipertrigliceridemijom imaju značajno manji LDL dijametar, te povećan udeo malih, gustih LDL čestica u odnosu na normotrigliceridemične pacijente (Tabela III). Kod pacijenata sa povećanom koncentracijom TG došlo je do značajnog smanjenja udela LDL I, a povećanja udela LDL III subfrakcija (Slika 2). U ovoj grupi pacijenata primetan je trend ka smanjenju HDL dijametara (Tabela III) i preraspodeli HDL subfrakcija ka manjim česticama (Slika 2). U kontrolnoj grupi ispitanici sa povišenim koncentracijama TG imali su statistički značajno veći udeo malih, gustih LDL čestica (Tabela III), usled smanjenog udela LDL I, a povećanog udela LDL III subfrakcija (Slika 2). Ovi ispitanici imali su i značajno manji udeo HDL 2b subfrakcija (Slika 2).

**Tabela II** *Stepwise* multipla linearna regresiona analiza odnosa između dominantnog dijametra LDL i HDL subfrakcija i parametara lipidnog statusa

**Table II** *Stepwise* multiple linear regression analysis for the associations of dominant LDL and HDL diameters with lipid status parameters

Dominantni LDL dijametar*		
Nezavisni prediktori	$\beta$ (standardna greška za $\beta$ )	P
TG (mmol/L)	-0,213 (0,104)	<0,01
Male HDL čestice (%)	-0,269 (0,005)	<0,001
Dominantni HDL dijametar**		
Nezavisni prediktori	$\beta$ (standardna greška za $\beta$ )	P
TG (mmol/L)	-0,364 (0,095)	<0,001
UH (mmol/L)	0,820 (282)	<0,01
HDL-H (mmol/L)	-0,420 (0,685)	<0,01
apoAI (g/L)	0,251 (0,465)	<0,05
apoB (g/L)	-0,509 (0,471)	<0,001

\* U model su uključeni: koncentracija UH, TG, LDL-H, HDL-H, apoB, apoAI, dominantni HDL dijametar i relativni udeo malih HDL subfrakcija (sve kontinuirane promenljive).

\*\* U model su uključeni: koncentracija UH, TG, LDL-H, HDL-H, apoB, apoAI, dominantni LDL dijametar i relativni udeo malih LDL subfrakcija (sve kontinuirane promenljive).

**Tabela III** Uticaj hipertrigliceridemije na dominantne dijemetre i udeo malih, gustih LDL i HDL čestica kod pacijenata i kontrola

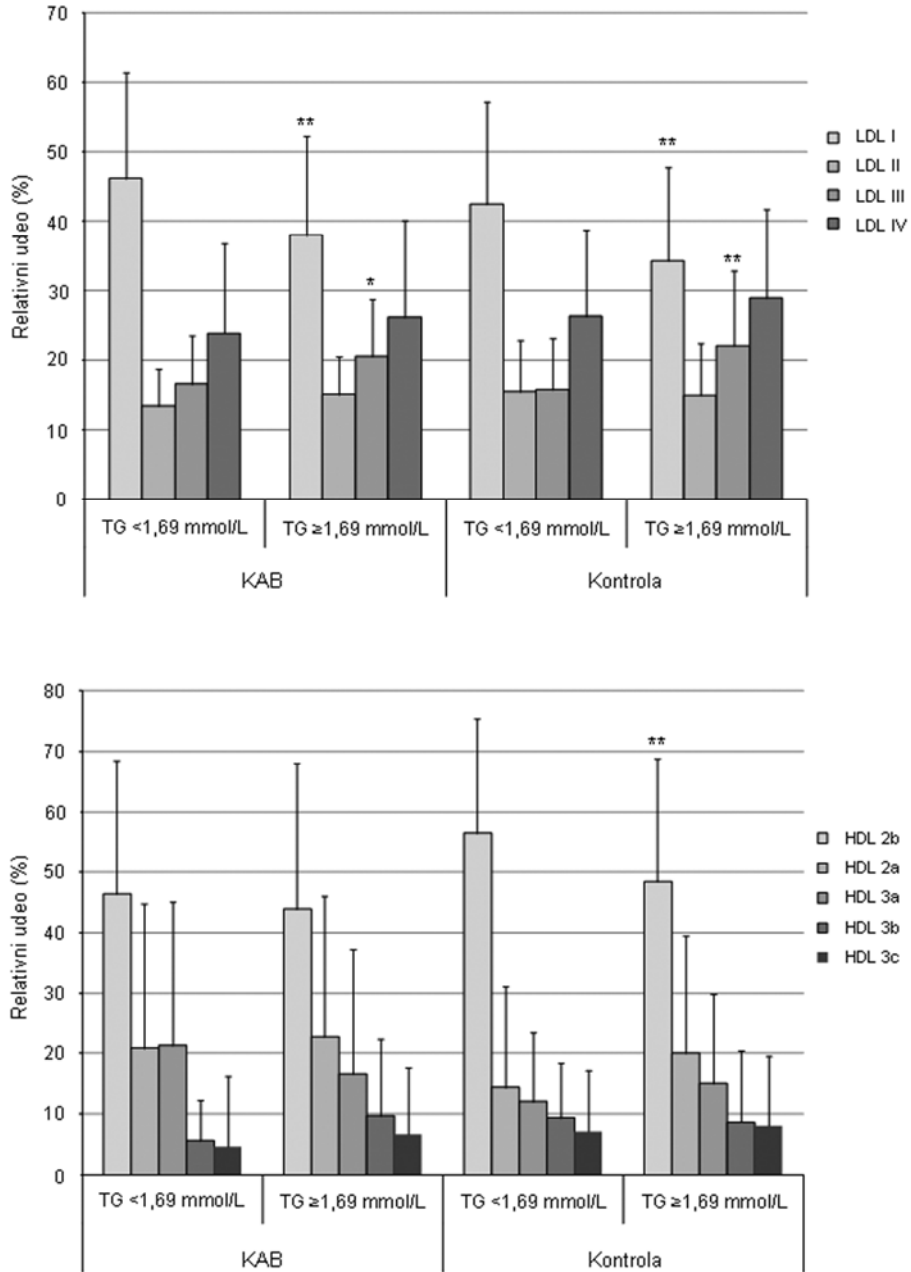
**Table III** Influence of hypertriglyceridemia on dominant diameters and relative proportions of small, dense LDL and HDL particles in CAD patients and controls

	KAB		Kontrola	
	TG < 1,69 mmol/L	TG $\geq$ 1,69 mmol/L	TG < 1,69 mmol/L	TG $\geq$ 1,69 mmol/L
Veličina uzorka	58	123	122	56
Dominantni LDL dijametar (nm)	26,36 $\pm$ 1,54	25,61 $\pm$ 1,24 **	26,30 $\pm$ 1,19	26,77 $\pm$ 1,01 ***
Male, guste LDL čestice (%)	40,5 $\pm$ 15,7	46,7 $\pm$ 16,9 *	42,1 $\pm$ 14,9	50,8 $\pm$ 14,2 ***
Dominantni HDL dijametar (nm)	9,8 $\pm$ 1,1	9,7 $\pm$ 1,2	10,4 $\pm$ 0,9	10,1 $\pm$ 1,3
Male HDL čestice (%)	31,8 $\pm$ 23,1	33,2 $\pm$ 23,0	28,7 $\pm$ 16,1	31,8 $\pm$ 19,1

Vrednosti su predstavljene kao aritmetičke srednje vrednosti  $\pm$  standardne devijacije.

\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .





Slika 2. Uticaj hipertrigliceridemije na raspodelu LDL i HDL subfrakcija kod pacijenata sa KAB i u kontrolnoj grupi \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ .

Figure 2. Influence of hypertriglyceridemia on LDL and HDL subclasses distributions in CAD patients and controls

## Diskusija

Poremećaji koncentracije lipida i lipoproteina igraju ključnu ulogu u razvoju ateroskleroze. Poznato je da je povišena koncentracija LDL-h osnovni činilac koji doprinosi nastanku i progresiji aterosklerotskog plaka (8), međutim sve više dokaza sugeriše da uloga lipoproteina u razvoju ateroskleroze prevazilazi efekat koji se može pripisati samo povećanoj koncentraciji LDL-h (12). Kompletnije razumevanje nudi termin „aterogeni lipoproteinski fenotip” (ALP) ili „aterogena trijada” (12) koji podrazumeva tri najčešće lipidne abnormalnosti koje se sreću kod pacijenata sa uznapređovalom aterosklerozom: povećanu koncentraciju TG, smanjenu koncentraciju HDL-h i prisustvo malih, gustih LDL čestica.

Kada se uporede opšte karakteristike pacijenata i kontrolne grupe zdravih ispitanika (Tabela I), uočavaju se razlike u lipidnom profilu. Pacijenti su imali izrazito više koncentracije TG i niže koncentracije HDL-h. Prisustvo ALP-a potvrđeno je analizom LDL i HDL subfrakcija. Naime, utvrdili smo da pacijenti imaju značajno manje LDL dijemetre (Tabela I) i pomešanu raspodelu LDL subfrakcija ka manjim i gušćim česticama (Slika 1). Slično, analiza HDL čestica pokazala je da KAB pacijenti imaju značajno manje dijemetre, usled smanjenog udela HDL 2b subfrakcija (Tabela I, Slika 1), što je saglasno sa rezultatima prethodnih studija (13-15). Ključni element razvoja ateroskleroze predstavlja modifikacija lipoproteinskih čestica, zapravo promene njihovih fizičko-hemijskih karakteristika, koje zatim menjaju njihovu funkciju, odnosno normalan metabolizam. Brojna fundamentalna istraživanja, epidemiološke i kliničke studije ukazale su da kvalitet LDL čestica značajno utiče na njihovu aterogenost (3). Male, guste LDL čestice se duže zadržavaju u cirkulaciji i lakše prolaze u subendotelni prostor, gde su podložnije oksidaciji, te zbog toga imaju najveći aterogeni potencijal (3). Takođe, aktuelna je hipoteza po kojoj dislipidemija, povišen nivo oksidativnog stresa ili inflamacija u neposrednom vaskularnom okruženju mogu uzrokovati smanjenje, ili čak potpun izostanak antiaterogenih svojstava HDL čestica (3, 4).

U daljoj analizi ispitivali smo korelacije između LDL i HDL subfrakcija i lipidnih parametara. Među dobijenim rezultatima izdvaja se snažna korelacija između LDL i HDL dijemetara i koncentracije TG, a multipla linearna regresiona analiza dodatno je pokazala da su TG nezavisan faktor uticaja na veličinu LDL i HDL subfrakcija (Tabela II). Na ovaj način smo potvrdili centralnu ulogu TG u remodelovanju cirkulišućih lipoproteinskih čestica (5). Porast koncentracije TG u serumu reflektuje povećanu količinu lipoproteina vrlo niske gustine (VLDL). Dalje, promene u aktivnosti lipolitičkih enzima utiču da se VLDL čestice sporije uklanjaju iz cirkulacije. Naime, aktivnost hepatične lipaze (HL) pozitivno korelira sa koncentracijama TG, apoB i udelima većih VLDL i malih LDL čestica (16). Utvrđena je značajna inverzna korelacija između aktivnosti postheparinske lipoproteinske lipaze (LPL) i LDL dijemetara, dok su smanjenje aktivnosti LPL i povećanje aktivnosti HL dokazane kod

pacijenata sa dominantno malim, gustim LDL česticama (17). Konačno, u hipertrigliceridemiji je pojačana razmena TG i estara holesterola između VLDL, LDL i HDL čestica, pod dejstvom helestonol-estar transfernog proteina (CETP), te nastaju LDL i HDL čestice koje su bogate TG (18). Njih zatim hidrolizuje HL, što dalje dovodi do konverzije većih subfrakcija u male, guste čestice. Kao rezultat, male, guste LDL čestice se sporije uklanjaju iz cirkulacije, dok je klirens malih HDL čestica povećan (3, 4), što se reflektuje kroz smanjenje koncentracije HDL-h. Krajnji efekat je uspostavljanje ALP-a, karakterističnog poremećaja metabolizma lipoproteina u klinički značajnoj aterosklerozi. U prilog značaja TG u remodelovanju lipoproteinskih čestica i razvoju ateroskleroze govori i činjenica da se prediktivni značaj malih, gustih LDL čestica u proceni rizika za razvoj KVB značajno smanjuje kad se TG uključe u analizu (19). Nedavno dobijeni rezultati iz EPIC-Norfolk prospective population studije pokazali su da se prediktivna vrednost broja i veličine LDL čestica značajno smanjuje nakon korekcije za koncentraciju TG i HDL-h (20).

Da bi se dalje istražio efekat hipertrigliceridemije, analiza je nastavljena poređenjem veličine i raspodele LDL i HDL čestica između ispitanika sa poželjnim i rizičnim vrednostima serumskih TG. Pacijenti sa hipertrigliceridemijom imali su značajno manji LDL dijametar, povećan udeo malih, gustih LDL čestica, a uočena je i tendencija ka smanjenju dijametra i preraspodeli HDL subfrakcija u korist manjih čestica (Tabela III, Slika 2). Ukupno uzevši, može se pretpostaviti da je hipertrigliceridemija u klinički značajnoj aterosklerozi udružena sa malim HDL česticama, koje imaju kompromitovanu antiaterogenu funkciju, te nisu u stanju da adekvatno spreče modifikaciju nagomilanih malih, gustih LDL čestica, što će doprineti daljoj progresiji KAB. Činjenica da smo i u kontrolnoj grupi uočili pomeranje raspodele ka manjim česticama kod hipertrigliceridemičnih ispitanika ukazuje na to da hipertrigliceridemija sama po sebi uzrokuje promene u metabolizmu LDL i HDL, nezavisno od statusa bolesti.

Ateroskleroza je kompleksno oboljenje, što predstavlja veliki izazov, kako u prevenciji, tako i u lečenju. Iako je snižavanje koncentracije LDL-h i dalje primarni cilj terapije, novije studije ispituju mogućnosti farmakološkog uticaja na kvalitet LDL čestica. Slično, kako je učinak trenutno dostupnih lekova koji imaju za cilj povećanje koncentracije HDL-h prilično skroman, u kreiranju novih terapijskih strategija teži se ka poboljšanju funkcionalnosti HDL čestica. Do sada je potvrđeno da pojedini hipolipemici imaju povoljan učinak na male, guste LDL čestice (21-23). Ovi rezultati upućuju da modifikacija veličine LDL čestica može značajno usporiti dalji razvoj KVB, čak i ako se uzmu u obzir ostali lipidni i nelipidni faktori rizika. Štaviše, u velikim kliničkim ispitivanjima je pokazano da modulacija veličine LDL čestica pod dejstvom fibrata može dovesti do smanjenja rizika za razvoj KVB (24, 25). Budući da fibrati svoje dejstvo primarno ostvaruju snižavanjem koncentracije TG, ovi rezultati mogu

poslužiti kao još jedan argument da se korekcijom hipertrigliceridemije može poboljšati lipoproteinski profil u klinički značajnoj aterosklerozi.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da KAB pacijenti imaju aterogeni profil LDL i HDL čestica, koji se dodatno pogoršava u prisustvu hipertrigliceridemije. Takođe, utvrdili smo da je koncentracija TG glavni lipidni faktor rizika koji determiniše količinu malih, gustih LDL i HDL čestica, što može imati primenu kod definisanja adekvatnih terapijskih mera u prevenciji budućih kardiovaskularnih događaja.

## Zahvalnica

Ovaj rad je finansijski podržan sredstvima Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (Projekat br. 175035).

## Literatura

1. Chisolm GM and Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* 2000;28:1815–26.
2. Rosenson RS. Clinical role of LDL and HDL subclasses and apolipoprotein measurement. *ACC Curr J Rev* 2004;13:33-7.
3. Rizzo M, Berneis K, Zeljkovic A, Vekic J. Should we routinely measure low-density and high-density lipoprotein subclasses? *Clin Lab* 2009;55:421-9.
4. Kontush A, Chapman MJ. Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 2006;58:342-74.
5. Krauss RM. Atherogenicity of triglyceride-rich lipoproteins. *Am J Cardiol* 1998;81:13B-7B.
6. Malloy MJ, Kane JP. A risk factor for atherosclerosis: triglyceride-rich lipoproteins. *Adv Intern Med* 2001;47:111-36.
7. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998;81:18B-25B.
8. National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143–421.
9. Vekic J, Topic A, Zeljkovic A, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V. LDL and HDL subclasses and their relationship with Framingham risk score in middle-aged Serbian population. *Clin Biochem* 2007;40:310-6.
10. Zeljkovic A, Spasojevic-Kalimanovska V, Vekic J, Jelic-Ivanovic Z, Topic A, Bogavac-Stanojevic N, et al. Does simultaneous determination of LDL and HDL particle size improve prediction of coronary artery disease risk? *Clin Exp Med* 2008;8:109-16.

11. Zeljkovic A, Vekic J, Spasojevic-Kalimanovska V, Jelic-Ivanovic Z, Bogavac-Stanojevic N, Gulan B, et al. LDL and HDL subclasses in acute ischemic stroke: prediction of risk and short-term mortality. *Atherosclerosis* 2010;210:548-54.
12. Rizzo M, Berneis K. Lipid triad or atherogenic lipoprotein phenotype: a role in cardiovascular prevention? *J Atheroscler Thromb* 2005;12:237-9.
13. Miwa K. Low density lipoprotein particles are small in patients with coronary vasospasm. *Int J Cardiol* 2003;87:193-201.
14. St-Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Despres JP, et al. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* 2001;104:2295-9.
15. Asztalos BF, Cupples A, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2004;24:2181-7.
16. Campos H, Dreon DM, Krauss RM. Associations of hepatic and lipoprotein lipase activities with changes in dietary composition and low density lipoprotein subclasses. *J Lipid Res* 1995; 36:462-72.
17. Jansen H, Hop W, van Tol A, Brusckhe AV, Birkenhager JC. Hepatic lipase and lipoprotein lipase are not major determinants of the low density lipoprotein subclass pattern in human subjects with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1994; 107:45-54.
18. Deckelbaum RJ, Granot E, Oschry Y, Rose L, Eisenberg S. Plasma triglyceride determines structure-composition in low and high density lipoproteins. *Arteriosclerosis* 1984;4:225-31.
19. Rizzo M, Berneis K. Who needs to care about small, dense low density lipoproteins? *Int J Clin Pract* 2007; 61:1949-56.
20. El Harchaoui K, van der Steeg WA, Stroes ES, Kuivenhoven JA, Otvos JD, Wareham NJ, et al. Value of low-density lipoprotein particle number and size as predictors of coronary artery disease in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:547-53.
21. Rosenson RS, Otvos JD, Freedman DS. Relations of lipoprotein subclass levels and low-density lipoprotein size to progression of coronary artery disease in the Pravastatin Limitation of Atherosclerosis in the Coronary Arteries (PLAC-I) trial. *Am J Cardiol*. 2002;90(2):89-94.
22. Miller BD, Alderman EL, Haskell WL, Fair JM, Krauss RM. Predominance of dense low-density lipoprotein particles predicts angiographic benefit of therapy in the Stanford Coronary Risk Intervention Project. *Circulation* 1996; 94:2146-53
23. Zambon A, Hokanson JE, Brown BG, Brunzell JD. Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic lipase-mediated changes in LDL density. *Circulation* 1999; 99:1959-64.
24. Tenkanen L, Manttari M, Manninen V. Some coronary risk factors related to the insulin resistance syndrome and the treatment with gemfibrozil. Experience from the Helsinki Heart Study. *Circulation* 1995; 92:1779-85.
25. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high density lipoprotein cholesterol: Veterans Affairs High-density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trials Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341:410-8.

# **Influence of hypertriglyceridemia on small, dense LDL and HDL particles in coronary artery disease**

**Aleksandra Zeljković<sup>1\*</sup>, Jelena Vekić<sup>1</sup>,  
Vesna Spasojević-Kalimanovska<sup>1</sup>, Zorana Jelić-Ivanović<sup>1</sup>,  
Nataša Bogavac-Stanojević<sup>1</sup>, Slavica Spasić<sup>1</sup>,  
Dimitra Kalimanovska-Oštrić<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Medical Biochemistry, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup> Institute for Cardiovascular Diseases, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia

---

## **Summary**

Alterations in serum lipoprotein levels contribute to the progression of atherosclerosis in coronary artery disease (CAD). Screening for the presence of small, dense low-density (LDL) and high-density lipoprotein (HDL) particles and identification of the factors affecting their excessive production, could have beneficial effects on reducing the risk of future cardiovascular events. In this study, we investigated the effect of serum triglyceride concentration on LDL and HDL size and subclasses in 181 CAD patients and 178 healthy controls. LDL and HDL particles were separated by polyacrylamide gradient gel electrophoresis, while serum lipid parameters were determined by routine laboratory methods. CAD patients had significantly smaller LDL and HDL particle sizes ( $P<0.001$ ), more LDL III, but less HDL 2b subclasses ( $P<0.05$ ) than controls. In CAD group, higher TG levels were associated with smaller LDL and HDL sizes and lower proportions of LDL I subclasses. Patients with hypertriglyceridemia had reduced LDL diameters ( $P<0.01$ ) and higher proportions of small, dense LDL particles ( $P<0.05$ ) than normotriglyceridemic patients. In addition, hypertriglyceridemic patients had HDL subclasses distribution shifted towards smaller particles. Our results indicate that serum TG level is the main lipid risk factor that determines the amount of small, dense LDL and HDL particles in CAD.

**Keywords:** coronary artery disease; LDL; HDL; hypertriglyceridemia.

---

\*Address for correspondence: **Aleksandra Zeljković**

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Medical Biochemistry, Belgrade, Serbia,

Phone: (+381 11) 3970284 Fax: (+381 11) 3972840

E-mail: [aleksandra.zeljkovic@pharmacy.bg.ac.rs](mailto:aleksandra.zeljkovic@pharmacy.bg.ac.rs)