



UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
STUDIJE KLINIČKE MEDICINE

ODNOS INFLAMATORNIH BIOMARKERA ENDOTELNE DISFUNKCIJE I
ATEROSKLEROZE KOD HIPERALIMENTACIONE GOJAZNOSTI

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof. dr Zoran Stošić

Kandidat: Asist. mr sci med. Branislava Ilinčić

Novi Sad, 2015 godine

UNIVERZITET U NOVOM SADU - MEDICINSKI FAKULTET**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora:	Branislava Ilinčić
Mentor MN	Prof. dr Zoran Stošić
Naslov rada: NR	Odnos inflamatornih biomarkera endotelne disfunkcije i ateroskleroze kod hiperalimentacione gojaznosti
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik (latinica)
Jezik izvoda: JI	Srpski / Engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje:	Vojvodina
Godina: GO	2015. godina
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad
Fizički opis rada: FO	7 poglavlja, 157 strana, 7 slika, 5 grafikona, 39 tabela i 305 navedenih referenci
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Patološka fiziologija
Predmetna odrednica, ključne reči: UDK	Gojaznost; Vaskularni endotel; E-selektin; Intracelularni adhezioni molekul 1; Ateroskleroza; Telesna kompozicija 616.13-004.6-092:613.25
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	

Izvod: IZ	<p>UVOD: Gojaznost je hronično, multifaktorijalno i kompleksno oboljenje povezano sa povećanim rizikom od aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti (KVB). Disfunkcija vaskularnog endotela predstavlja rani događaj u patofiziološkom kontinuumu aterosklerotskog procesa, a produženo izlaganje vaskularnog endotela faktorima rizika za aterosklerozu udruženim sa gojaznosti (insulinska rezistencija, dislipidemija, proinflatorno/protrombozno stanje), može doprineti procesima aktivacije/disfunkcije endotela i progresiji ateroskleroze u supkliničku, odnosno kliničku formu bolesti.</p> <p>CILJ: Uporediti koncentracije solubilne forme adhezivnih molekula – intracelularnog adhezivnog molekula –1 (sICAM–1) i E selektina (sE–selektin), između ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti i normalno uhranjenih zdravih ispitanika, kao i utvrditi eventualno postojanje razlika u koncentraciji sICAM–1 i sE–selektina između ispitanika kod kojih je merenjem debljine kompleksa intima medija karotidne arterije (IMK) uočen supklinički stadijum ateroskleroze i ispitanika koji imaju normalnu debljinu IMK. Ispitati povezanost parametara telesne kompozicije (ukupne masne mase tela i masne mase abdominalnih depoa), cirkulišućih koncentracija biomarkera disfunkcije vaskularnog endotela (sICAM–1 i sE–selektina) i IMK kod ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti.</p> <p>MATERIJAL I METODE: U istraživanje je uključeno 60 ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti bez pridruženih komorbiditeta i 30 zdravih normalno uhranjenih učesnika usklađenih sa ispitanicima po godinama života i polu koji su činili kontrolnu grupu. Svim ispitanicima su urađena antropometrijska merenja, analiza komponenata telesne kompozicije (bioelektrična impedansna analiza, Tanita Body Composition Analyzer BC – 418 MA III), laboratorijska analiza uzoraka krvi na automatizovanim analizatorskim sistemima sa određivanjem parametara metabolizma glukoze (bazalno i 2 h u toku oralnog glukoza tolerans testa), lipida i lipoproteina, inflamacije i homocisteina. Određivanje serumske koncentracije sICAM–1 i sE–selektina je vršeno ELISA tehnikom (R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA). Vrednosti IMK–a su određivane pomoću karotidnog dupleks ultrazvuka (Aloka SSD–650 US system, Tokyo), a na osnovu izmerenih (IMK) i normalno očekivanih vrednosti IMK za svakog ispitanika je izračunavan IMK Z–skor. Supklinički stadijum ateroskleroze je definisan kao vrednost IMK Z–skora veća od 1 (što odgovara vrednosti IMK većoj od 95 percentila normalno očekivane vrednosti u odnosu na pol i godine života ispitanika).</p> <p>REZULTATI: Ispitanici sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti su imali statistički značajno više vrednosti medijane serumske koncentracije sE–selektina u poređenju sa medijanom serumske koncentracije sE–selektina učesnika u kontrolnoj grupi (36,2 (33,21–43,7) vs. 25,14 (23,1–29,48) ng/mL, P=0,00). Gojazni ispitanici III stepena gojaznosti su imali statistički značajno višu medijanu serumske koncentracije sE–selektina u odnosu na medijanu sE–selektina u ispitanika I stepena gojaznosti (41,5 (36,58–49,48) vs. 34,34 (22,49–36,62) ng/mL, P=0,00), odnosno medijanu sE–selektina u ispitanika II stepena gojaznosti (41,5 (36,58–49,48) vs. 32,1 (26,1–43,64) ng/mL, P=0,00). Nije uočena statistički značajna razlika u medijani serumske koncentracije sE–selektina između ispitanika I i II stepena gojaznosti (34,34 (22,49–36,62) vs. 32,1 (26,1–43,64) ng/mL, P=0,12). Gojazni ispitanici su imali statistički značajno više vrednosti medijane serumske koncentracije sICAM–1 u poređenju sa medijanom serumske koncentracije sICAM–1 učesnika u kontrolnoj grupi (266,8 (245,8–326,73) vs. 183,32 (167,9–208,57), P=0,00). U ispitivanoj grupi gojaznih uočena je statistički značajna razlika u medijani koncentracije sICAM–1 između ispitanika u I, II i III stepena gojaznosti (200,6 (190,26 - 264,4) vs. 278,5 (219,54 - 343,24) vs. 329,6 (259,2 - 350,34) ng/mL, P=0,00). Učestalost IMK Z–skor > 1 je bila statistički značajno veća u gojaznih ispitanika u odnosu na kontrolnu grupu (36/60 vs. 7/30, P=0,00).</p>
-----------	---

	<p>Ispitanici sa IMK Z–skor > 1 su imali statistički značajno višu medijanu koncentracije sICAM–1 u odnosu na ispitanike kod kojih je IMK Z–skor ≤ 1 (295,4 (238,46–340,38) vs. 244,2 (227,35–260,38), P=0.00). Regresionom analizom (R²=0,71, korigovani R²=0,59) je utvrđeno da su parametri hsCRP (β=0,45, P=0,00), HOMA–IR (β=0,44, P=0,035) i ISI (β=–0,36, P=0,028) nezavisno i statistički značajno povezani sa serumskom koncentracijom sE–selektina. Regresionom analizom (R²=0,65, korigovani R²=0,56) je utvrđeno da parametri ITM (β=0,55, P=0,00), trigliceridi (β=0,30, P=0,00), HDL holesterol (β=–0,31, P=0,00), odnos TG/HDL–holesterol (β=0,33, P=0,01), hsCRP (β=0,31, P=0,00) i fibrinogen (β=0,34, P=0,00) su nezavisno i statistički značajno povezani sa serumskom koncentracijom sICAM–1. U faktorskoj analizi je izdvojeno pet faktora “gojaznost”, “insulinska rezistencija”, “aterogeni faktor”, “endotelna disfunkcija i vaskularna inflamacija” i “metabolički faktor” koji objašnjavaju 69.72% ukupne varijanse ispitivanog uzorka. U multivarijabilnom modelu sa svim faktorima zajedno kojim je objašnjeno ukupno 75% varijanse, jedino je faktor gojaznost imao statički značajan i nezavistan uticaj na vrednost IMK Z–skor > 1 (OR=2,74 (CI 1,18–6,33), P=0,019). U faktoru gojaznost su se izdvojili parametri: FAT trunk (%), FAT (%), OS (cm), ITM (kg/m²), LDL – holesterol (mmol/L), SP (mmHg), HOMA1–%B, fibrinogen (g/L), ApoB/apoA–I i hsCRP (mg/L). Univarijantom logističkom regresijom je uočeno da porast u koncentraciji LDL–H (OR=5,33 (CI 1,9–14,2), P=0,02) i koncentraciji hsCRP–a (OR=2,53 (CI 1,3–3,98),P=0,017) povećava rizik za postojanje vrednosti IMK Z–skor > 1.</p> <p>ZAKLJUČAK: Cirkulišuće serumske koncentracije biomarkera disfunkcije vaskularnog endotela, sE–selektina i sICAM–1, su značajno više kod ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti u odnosu na njihove koncentracije u normalno uhranjenih ispitanika. U gojaznih ispitanika, koncentracija sE–selektina je povezana sa vrednostima indeksa insulinske rezistencije i biomarkera inflamacije, dok je koncentracija sICAM–1 značajno povezana sa udelom masne mase u ukupnoj telesnoj masi, vrednostima biomarkera inflamacije i proaterogenih lipidskih parametara. Ispitanici kod kojih postoji uvećanje abdominalnih masnih depoa i ukupnog udela masnog tkiva u telesnoj masi, vrednosti SKP, koncentracije LDL – holesterola, vrednosti lipoproteinskog indeksa ApoAI/apoB, bazalne insulinemije i biomarkera inflamacije, imaju trostruko povećan rizik od supkliničkog stadijuma ateroskleroze. U gojaznih osoba prilikom procene rizika od aterosklerotskih KVB, potrebno je utvrditi fenotipske osobine vaskularnog endotela i eventualno postojanje supkliničkog stadijuma ateroskleroze, da bi se definisale adekvatne preventivne mere i sagledale potencijalne terapijske mogućnosti</p>
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	13.07.2012.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	Predsednik: Član: Član: Član: Član:

UNIVERSITY OF NOVI SAD - FACULTY OF MEDICINE

KEY WORD DOCUMENTATION

Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Branislava Ilinčić
Mentor: MN	Zoran Stošić MD,PhD
Title: TI	Association between inflammatory biomarkers of endothelial dysfunction and atherosclerosis in obesity
Language of text: LT	Serbian/Latin
Language of abstract: LA	Serbian / English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Physical description: PD	Chapters 7, pages 157, pictures 7, graphs 5, tables 39 i 305 references
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Pathophysiology
Subject, Key words SKW	Obesity; Endothelium, Vascular; E-Selectin; Intercellular Adhesion Molecule-1; Atherosclerosis; Body Composition
UC	616.13-004.6-092:613.25
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	

Abstract: AB

INTRODUCTION: Obesity is a chronic, multifactorial and complex disease associated with an increased risk of atherosclerotic cardiovascular diseases (CVD). Vascular endothelial dysfunction is an early event in the pathophysiological continuum of atherosclerotic process. The prolonged exposure of vascular endothelium to classical and obesity associated risk factors (insulin resistance, dyslipidemia, proinflammatory state) could further promote deterioration of endothelial function and progression of atherosclerosis to subclinical or clinical form of disease.

OBJECTIVE: The aim of the study was to compare the concentration of soluble forms of adhesion molecules, intracellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and E-selectin (sE-selectin), between obese subjects and normal weight healthy subjects, as well as to determine the possible existence of differences in concentration of sICAM-1 and sE-selectin among subjects with subclinical stage of atherosclerosis (assessed by measuring the thickness of the intima media complex of the carotid artery (IMT)), and subjects who have a normal value of IMT. Also, the aim was to determine the association between the parameters of body composition (total body fat mass and fat mass intra-abdominal depots), circulating concentrations of sICAM-1 and sE-selectin, and value of IMT in obese subjects.

MATERIALS AND METHODS: The study included 60 obese nondiabetic subjects, without preexisting CVD and other associated comorbidity, and 30 healthy normal weight age and sex matched participants. All subjects underwent anthropometric measurements, analysis of the components of body composition (bioelectrical impedance analysis, Tanita Body Composition Analyzer BC - 418 MA III), laboratory analysis of blood samples (automated analyzer systems) with determining the parameters of glucose metabolism (basal and 2 h during the oral glucose tolerance test), lipids and lipoproteins, inflammation and homocysteine. Serum concentrations of sICAM-1 and sE-selectin were determined by ELISA (R & D Systems, Inc., Minneapolis, USA). The values of IMK were determined by carotid duplex ultrasound (Aloka – ProSound ALPHA 10). IMK Z-score was calculated using the measured and the normal expected values of IMT for each patient. Subclinical stage of atherosclerosis was defined as the value of IMT Z-score greater than 1 (corresponding to the 95th sex-age-specific percentile of IMT measurements).

RESULTS: Obese subjects had significantly higher median sE-selectin serum concentrations compared to median serum concentrations of sE-selectin in the normal weight subjects (36.2 (33.21-43.7) vs 25.14 (23.1-29.48) ng/mL, P=0.00). Morbid obesity subjects had significantly higher sE-selectin median serum concentration compared to the median sE-selectin concentration in moderate obese subjects (41.5 (36.58-49.48) vs 34.34 (22.49-36.62) ng/mL, P=0.00), and compared to the median sE-selectin concentration in severely obese subjects (41.5 (36.58-49.48) vs. 32.1 (26.1-4364) ng / mL, P=0.00). Obese subjects had significantly higher median sICAM-1 serum concentration compared to median sICAM-1 serum concentration in the control group (266.8 (245.8-326.73) vs. 183.32 (167.9-208.57), P=0.00). In the obese group, we observed a statistically significant difference in median sICAM-1 serum concentrations between moderate, severely and morbid obese subjects (200.6 (190.26-264.4) vs. 278.5 (219.54-343.24) vs. 329.6 (259.2-350.34) ng/mL, P=0.00). The frequency of IMT Z-score > 1 was significantly higher in the obese group compared to control group (36/60 vs. 7/30, P=0.00).

	<p>Subjects with IMT Z-score > 1 had significantly higher median concentrations of sICAM-1 compared to those in which the IMK Z-score ≤ 1 (295.4 (238.46-340.38) vs. 244.2 (227.35-260.38), P=0.00). In regression analysis (R²=0.71, adjusted R²=0.59), hsCRP (β=0.45, P=0.00), HOMA-IR (β=0.44, P=0.035) and ISI (β=-0.36, P=0.028) were independently and significantly associated with serum sE-selectin concentration. In regression analysis (R²=0.65, adjusted R²=0.56), BMI (β=0.55, P=0.00), triglycerides (β=0.30, P=0.00), HDL cholesterol (β=-0.31, P=0.00), the ratio of TG/HDL-cholesterol ratio (β=0.33, P=0.01), hsCRP (β=0.31, P=0.00) and fibrinogen (β=0.34, P=0.00) were independently and significantly associated with serum sICAM-1 concentration. In the Factor analysis, five factors "obesity", "insulin resistance", "atherogenic factor," "endothelial dysfunction and vascular inflammation" and "metabolic factor" explained 69.72% of the total variance of the test sample. In a multivariate model with all the factors together (75% of the total variance), "obesity" factor was significantly and independently associated with IMT Z-score > 1 (OR=2.74 (CI 1.18-6.33), P=0.019). The "obesity" factor consisted of parameters: trunk fat (%), fat (%), waist (cm), BMI (kg/m²), LDL – cholesterol (mmol/L), systolic blood pressure (mmHg), HOMA1-% B, fibrinogen (g/L), Apo B/apoA-I and hsCRP (mg/L). Logistic regression analysis showed that independent predictors of IMT Z-score > 1 were LDL-cholesterol (OR=5.33(CI 1.9-14.2), P=0.02) and hsCRP (OR=2.53 (CI 1.3-3.98), P=0.017).</p> <p>CONCLUSION: Circulating serum concentrations of endothelial dysfunction biomarkers, sE-selectin and sICAM-1, were significantly higher in obese subjects compared to concentration in the normal weight subjects. In obese subjects, the concentration of sE-selectin was associated with insulin resistance and biomarkers of inflammation, whereas sICAM-1 concentration was associated with fat mass, inflammation biomarkers and the proatherogenic lipid parameters. In individuals with increased abdominal fat depots and total proportion of fat mass in the body weight, values of SBP, LDL-C, ApoB/apoA-I, basal insulin levels and biomarkers of inflammation, there is threefold increased risk of subclinical stages of atherosclerosis. In order to define an adequate preventive measures and possible therapeutic options for atherosclerotic CVD in obese subjects, it is necessary to assess the phenotypic characteristics of vascular endothelium and possible presence of subclinical stage of atherosclerosis.</p>
Accepted on Scientific Board on: AS	13.07.2012.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member: member: member:

SADRŽAJ:

1.UVOD	3
1.1. GOJAZNOST	5
1.1.1. Etiopatogeneza i definicija hiperalimentacione gojznosti	5
1.1.2. Masno tkivo u energetske homeostazi	7
1.1.2.1. Adipogeneza u energetske homeostazi	8
1.1.2.2. Sekretorni profil masnog tkiva u energetske homeostazi	10
1.1.3. Disfunkcija masnog tkiva - adipozopatija	12
1.1.3.1 Disfunkcija masnog tkiva i metabolička inflamacija	14
1.1.3.2. Metabolički stresori i molekularni mehanizmi u aktivaciji inflamatornog odgovora	15
1.1.3.3. Hipoksija i metabolička inflamacija	17
1.1.3.4. Uloga makrofaga u metaboličkoj inflamaciji	17
1.1.3.5. Sekretorni profil adipocita u adipozopatiji	21
1.1.3.6. Poremećaji angiogeneze u adipozopatiji	22
1.1.3.7. Poremećaji ekstracelularnog matriksa u adipozopatiji	23
1.1.3.8. Sistemski efekti metaboličke inflamacije u gojznosti	24
1.1.3.9. Adipozopatija i metabolička disfunkcija	25
1.2. DISFUNKCIJA VASKULARNOG ENDOTELA	
1.2.1. Fiziološka uloga vaskularnog endotela	33
1.2.2. Patofiziološke promene u disfunkciji vaskularnog endotela	35
1.2.3. Gojznost i disfunkcija vaskularnog endotela	37
1.2.4. Metode za procenu funkcije vaskularnog endotela	42

1.3. ATEROSKLEROZA	45
2. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	50
3. MATERIJAL I METODE	51
3.1. Ispitanici	51
3.1.1. Konstrukcija i način izbora uzorka	51
3.1.2. Protok ispitivanja	52
3.2. Metode ispitivanja	
3.2.1. Analiza antropometrijskih parametara	53
3.2.2. Laboratorijske analize	54
3.2.3. Određivanje solubilne forme E selektina i ICAM-1	58
3.3. Ultrasonografski pregled karotidnih arterija	58
3.4. Statističke metode	60
4. REZULTATI	62
4.1. Opšte karakteristike ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	62
4.2. Analiza vrednosti biomarkera disfunkcije endotela	77
4.3. Analiza zastupljenosti supkliničke forme ateroskleroze	84
4.4. Korelaciona i regresiona analiza	86
4.5. Faktorska analiza	95
5. DISKUSIJA	103
6. ZAKLJUČAK	124
7. LITERATURA	126
8. PRILOZI	156

1. UVOD

Ateroskleroza je jedan od najviše izučavanih entiteta savremenih naučnih istraživanja. Kardiovaskularne bolesti (KVB) u čijoj je osnovi ateroskleroza su vodeći uzrok ranog mortaliteta i invaliditeta u Evropi (1), a Srbija je zemlja sa visokim mortalitetom od KVB (2). Poslednjih nekoliko decenija KVB poprimaju pandemijski karakter i sa razlogom im se pridaje veliki značaj na svim nivoima medicinskog istraživanja. Borba sa ovim bolestima je značajnim delom izazvana i globalnom epidemijom hiperalimentacione gojaznosti, a prema podacima Svetske zdravstvene organizacije u 2015. godini se očekuje više od 700 miliona gojaznih ljudi (3). U našoj zemlji, a posebno u Vojvodini, više od polovine odraslog stanovništva ima problem prekomerne uhranjenosti (predgojaznosti i gojaznosti) (4).

Zajednička osnova ateroskleroze i gojaznosti je daleko iznad preklapanja incidencije, osnova patogenetskih mehanizama ovih oboljenja su hronični zapaljenski procesi koje karakterišu aktivacija urođenog i stečenog imuniteta (5,6). Poslednjih godina, rezultati kako eksperimentalnih tako i kliničkih studija pokazali su da je ateroskleroza progresivna, polifaktorska hronična zapaljenska bolest kod koje je prisutna interakcija poremećaja vaskularnog, imunskog i metaboličkog sistema (7). Takođe, masno tkivo je dinamičan i metabolički veoma aktivan endokrini organ koji je uključen u regulaciju imunološke i kardiovaskularne homeostaze (8). Ipak, tokom ekscesivnog nakupljanja masnog tkiva, prvenstveno u visceralnim depoima, dolazi do niza lokalnih i sistemskih patofizioloških poremećaja objedinjenih pod nazivom adipozopatija (9). Prema savremenim saznanjima, upravo su poremećaji koji nastaju u disfunkcionalnim depoima masnog tkiva u osnovi proinflamatornog stanja i povećanog kardiometaboličkog rizika u gojaznih individua (10).

U kardiovaskularnom kontinuumu postoji dug asimptomatski period u kome kumulativno dejstvo faktora rizika na proces ateroskleroze u velikoj meri određuje tok i ishod bolesti. Uprkos medicinskim saznanjima koja govore da gojaznost kako samostalno tako i

udruženo sa tradicionalnim faktorima rizika može doprineti ubrzanom razvoju i progresiji ateroskleroze i KVB (11), aktuelna istraživanja ukazuju da su kod pojedinih gojaznih individua prisutne povoljne fenotipske karakteristike i manja incidencija KVB (12). U tom smislu posebno polje istraživanja predstavlja disfunkcija vaskularnog endotela, imajući u vidu ulogu koju ona ima u inicijaciji i progresiji aterosklerotskog procesa (13). Pored fenotipskih, funkcionalnih promena u vaskularnom endotelu, uočavanje strukturnih, ranih aterosklerotskih promena na krvnim sudovima može da bude od značaja u prepoznavanju gojaznih osoba u supkliničkom stadijumu kardiovaskularnog kontinuuma (14).

Pomisao o postojanju hroničnog zapaljenskog procesa u gojaznosti dovela je do postavljanja pitanja o postojanju veze između pokazatelja proinflammatoryh fenotipskih karakteristika vaskularnog endotela i supkliničke forme aterosklerotske bolesti. Upravo razumevanje povezanosti između ovih pokazatelja može omogućiti uspešnije prepoznavanje gojaznih osoba s povišenim kardiovaskularnim rizikom te pružiti nove pravce u prevenciji metaboličke neravnoteže.

1.1. GOJAZNOST

1.1.1. Etiopatogeneza i definicija hiperalimentacione gojaznosti

Etiopatogeneza gojaznosti je kompleksa i multifaktorijalna. Kompleksna interakcija između bioloških (genetskih i epigenetskih), bihevioralnih, socijalnih i faktora spoljašnje sredine uključena je u regulaciju energetske homeostaze (15). U cilju održavanja ukupne energetske homeostaze neophodno je sadejstvo perifernih signala (kratkotrajnih – poreklom iz gastrointestinalnog trakta, odnosno dugotrajnih signala – insulina i leptina) i centralnih činilaca. Tokom evolucije u cilju adaptacije na različite uslove spoljašnje sredine, a naročito na periode energetske oskudice, unos nutritijenata je favorizovan u odnosu na energetske potrebe. U savremenoj civilizaciji faktori spoljašnje sredine, prvenstveno ishrana koja sadrži veliku količinu masti i šećera, uz nedostatak fizičke aktivnosti, dovode do poremećenog odnosa između povećanog unosa nutritijenata i energetske potrebe. Ovaj poremećaj u dužem vremenskom periodu može doprineti narušavanju energetske homeostaze razvoju hiperalimentacione gojaznosti (16).

U aktuelnim epidemiološkim istraživanjima, studijama o genomskim asocijacijama (eng. genome-wide association studies), identifikovano je devet genskih lokusa povezanih sa monogenetskim oblikom gojaznosti i preko 58 lokusa koji mogu da doprinose poligenetskoj gojaznosti (17,18,19). Osim toga, uočeno je i postojanje kontinuuma u preklapanju monogenetskog i poligenetskog oblika gojaznosti (20). Pored mutacija u genu za leptin (ob/ob genotip) ili leptinski receptor (db/db genotip), od posebnog su interesa urođeni poremećaji (polimorfizmi) enzimskih sistema značajnih za metabolizam masti i regulaciju unosa hrane FTO (eng. fat mass and obesity-associated gene), mutacija u MC4R genu (najčešća autosomno-dominantna forma gojaznosti), mutacije u POMC genu (koji kodira region za α -melanocit stimulujući hormon) i drugi (21, 22, 23).

Neravnoteža aktivnosti neurona arkuatnog jedra hipotalamusa uključenih u integraciju signala sitosti i gladi usled disbalansa na nivou centralne regulacije energetske homeostaze, takođe može dovesti do razvoja gojaznosti i metaboličkih poremećaja. Poznato je da se u hipotalamusu održava ravnoteža u aktivnosti oreksigenih neurona koji stimulišu uzimanje hrane i anoreksigenih neurona koji inhibiraju unos hrane što određuje ukupan unos nutritijenata (24). Takođe, u centralnoj regulaciji energetskog bilansa, posebno se ističe uloga pojedinih adipokina (adiponektin - povećava oksidaciju masti u skeletnim mišićima) kao i anoreksigenog hormona leptina. Ipak, hiperleptinemija u gojaznosti može biti praćena stanjem leptinske rezistencije, a aktuelna saznanja ukazuju na sve veći značaj ovog entiteta u patogenezi metaboličkog sindroma (25).

Osnovna karakteristika gojaznosti je povećanje udela masnog tkiva u ukupnoj masi tela u meri koja dovodi do narušavanja zdravlja i razvoja komplikacija (26). Dijagnostika gojaznosti se zasniva na evaluaciji stepena uhranjenosti, distribuciji ekscesivnih masnih deopa kao i na određivanju telesne kompozicije u cilju procene udela masne mase u ukupnoj telesnoj masi (27). Indeks telesne mase (ITM) predstavlja odnos antropometrijskih parametara, telesne mase i visine, pokazatelj je stepena uhranjenosti i najčešće primenjivan parametar u dijagnostici gojaznosti. Prema Svetskoj Zdravstvenoj Organizaciji, osobe koje imaju ITM iznad 30 kg/m^2 se smatraju gojaznim (26). Iako je uočena nedovoljna senzitivnost i specifičnost ovog parametra u određenim slučajevima (28,29), on je i dalje u preporukama nacionalnih i međunarodnih udruženja, osnova za dijagnozu oboljenja (30,15). Budući da je obim struka u visoko pozitivnoj korelaciji sa intraabdominalnim nakupljanjem masne mase, upravo se njegova vrednost primenjuje za dijagnozu centralnog (visceralnog, androidnog) tipa gojaznosti (obim struka ≥ 102 cm za muškarce i ≥ 88 cm za žene). Abdominalna gojaznost je jedna od ključnih karakteristika metaboličkog sindroma, entita koji integriše međusobno povezane faktore rizika, a koji dugotrajno povećavaju rizik za razvoj šećerne bolesti tipa 2 i

aterosklerotskih KVB (31). Takođe, poznavanje telesne kompozicije od velikog je značaja u determinisanju gojaznosti, s obzirom da uvećanje masne mase u ukupnoj telesnoj masi dovodi do razvoja niza komorbiditeta (32). Masno tkivo normalno uhranjenih muškaraca čini od 9-18% telesne mase, odnosno 14-28% kod žena. Ukupni volumen masnog tkiva može da se uveća i do četiri puta kod ekstremno gojaznih osoba čineći tako čak 50-70% ukupne telesne mase (33, 34).

1.1.2. Masno tkivo u energetske homeostazi

Ukupna količina masnog tkiva predstavlja rezultat ravnoteže između energetske unosa i potrošnje, uključujući nivo bazalnog metabolizma. U masnom tkivu se odvija kontinuirana razmena triglicerida, tako da ukupna količina triglicerida odražava ravnotežu između lipolize i lipogeneze, procesa koji su značajnim delom pod hormonalnim uticajem insulina, kortikosteroidnih hormona i kateholamina (35). S druge strane, broj adipocita odražava balans između ćelijske akumulacije (usled proliferacije preadipocita i njihove diferencijacije) i ćelijske delecije putem apoptoze (33).

Masno tkivo je heterogeno vezivno tkivo koje se sastoji od zrelih masnih ćelija (adipociti), strome i vaskularnog kompartama. Morfološki se u masnom tkivu razlikuju mezenhimalne stem ćelije, preadipociti u različitim stadijumima razvoja, ćelije imunskog sistema (makrofazi), T regulatorne ćelije, endotelijalne prekursorske ćelije, fibroblasti i dr. Iako u telu postoje dva depoa masnog tkiva, pored mrkog, belo masno tkivo je glavna komponenta i aktivno je uključeno u procese energetske homeostaze procesima lipogeneze (višak energije se skladišti u masnom tkivu u formi triglicerida), odnosno lipolize (hidroliza triglicerida dovodi do oslobađanja masnih kiselina u cirkulaciju). Njegova ekscesivna akumulacija determiniše razvoj gojaznosti, poremećaje u adipogenezi, osetljivosti adipocita na insulin i sledstvene metaboličke posledice (34, 36). Oko 85% masnog tkiva u organizmu je lokalizovano u subkutanom tkivu (abdominalno i gluteofemoralno), dok preostalih 20%

pripada intraabdominalnim masnim depozitima, odnosno visceralnom i retroperitonealnom masnom tkivu. Između ovih depozita postoje značajne razlike u histološkoj strukturi, inervaciji, vaskularizaciji, endokrinom profilu adipocita, lipolitičkoj aktivnosti, reaktivnosti na insulin i druge hormone (32).

1.1.2.1. Adipogeneza

Adipociti su dinamična populacija ćelija, čiji je ciklus samoobnavljanja (eng. turn over) kontinuiran. Adipogeneza predstavlja višestepeni proces nastanka novih, zrelih adipocita, odnosno proces diferencijacije fibroblastu sličnog preadipocita u zreli adipocit. Kako preadipociti imaju sposobnost proliferacije i diferencijacije u procesu adipogeneze, izdvojeni su sledeći stadijumi: mezenhimalni prekurzor (multipotentna stem ćelija), opredeljeni preadipocit, preadipocit u fazi mirovanja, preadipocit u fazi klonalne ekspanzije, preadipocit u fazi završne diferencijacije i zreli adipocit (37).

Ciklus samoobnavljanja adipocita nije značajan samo za regulaciju ukupne masne mase, već i za razvoj hipertrofije i hiperplazije masnog tkiva (38). U toku adipogeneze, kontrolisanom kaskadom transkripcionih faktora reguliše se ekspresija gena koji su uključeni u diferencijaciju adipocita i metabolizam lipida. Stimulatori diferencijacije mezenhimnih prekurzora su pored hormona (testosteron) i signalni faktori transformacije koji mogu da usmeravaju proces diferencijacije ka adipocitima (39). Takođe, stimulacija preadipocita u fazi mirovanja odvija se pod uticajem insulina i glikokortikoida, a značajan je i uticaj transkripcionih regulatora: C/EBP (eng. enhancer binding proteins, C/EBP α , C/EBP β , C/EBP δ), PPAR γ izoforme nuklearnog receptora koji aktivira proliferaciju peroksizoma (eng. peroxisome proliferator-activated receptor γ) i SREBP-1 proteina koji se vezuje za element regulisan sterolom (eng. sterol regulatory element-binding protein-1) (40, 41).

PPAR γ je specifičan za masno tkivo i smatra se glavnim transkripcionim regulatorom adipogeneze, dok SREBP-1 kontrolom ekspresije enzima reguliše lipogenezu i lipidnu homeostazu (enzimska regulacija metabolizma holesterola) (42). Osim toga, u stimulatoru adipogeneze spadaju masne kiseline, faktori rasta kao insulinu sličan faktor rasta 1 (engl. Insulin like growth factor 1 - IGF-1) i fibroblasni faktor rasta, stimulišući faktor kolonije makrofaga, transformišući faktor rasta β , pojedini prostaglandini, proinflamatorni citokini i hipoksija (34, 43). Od posebnog je značaja i hormonska stimulacija, a pored glikokortikoida uticaj imaju i aldosteron i hormoni štitaste žlezde. Glikokortikoidni receptori, najviše rasprostranjeni u visceralnom masnom tkivu, imaju značajnu ulogu u diferencijaciji adipocita. Kao inhibitori adipogeneze pored glikoproteina, ističe se značaj faktora transformišućeg rasta β (TGF β), inflamatornih citokina i hormona rasta (44). Za održavanje i napredovanje turn over-a adipocita neohodna je angiogeneza (45), a sekrecija stimulatora angiogeneze VEGF (eng. vascular endothel growth factor) i TGF- β (transform growth factor β) odvija se u preadipocitima (46).

Takođe, adipogeneza je pod uticajem godina života, pola i stila života. Preadipociti imaju potencijal da stvaraju nove masne ćelije tokom celog života. Novi adipociti se stalno formiraju, prosečno se svakih 8 (9,5) godina 50% adipocita u subkutanom masnom tkivu zameni, dok se u visceralnom masnom tkivu oko 10% adipocita regeneriše svake godine (34).

1.1.2.2. Sekretorni profil masnog tkiva u energetske homeostazi

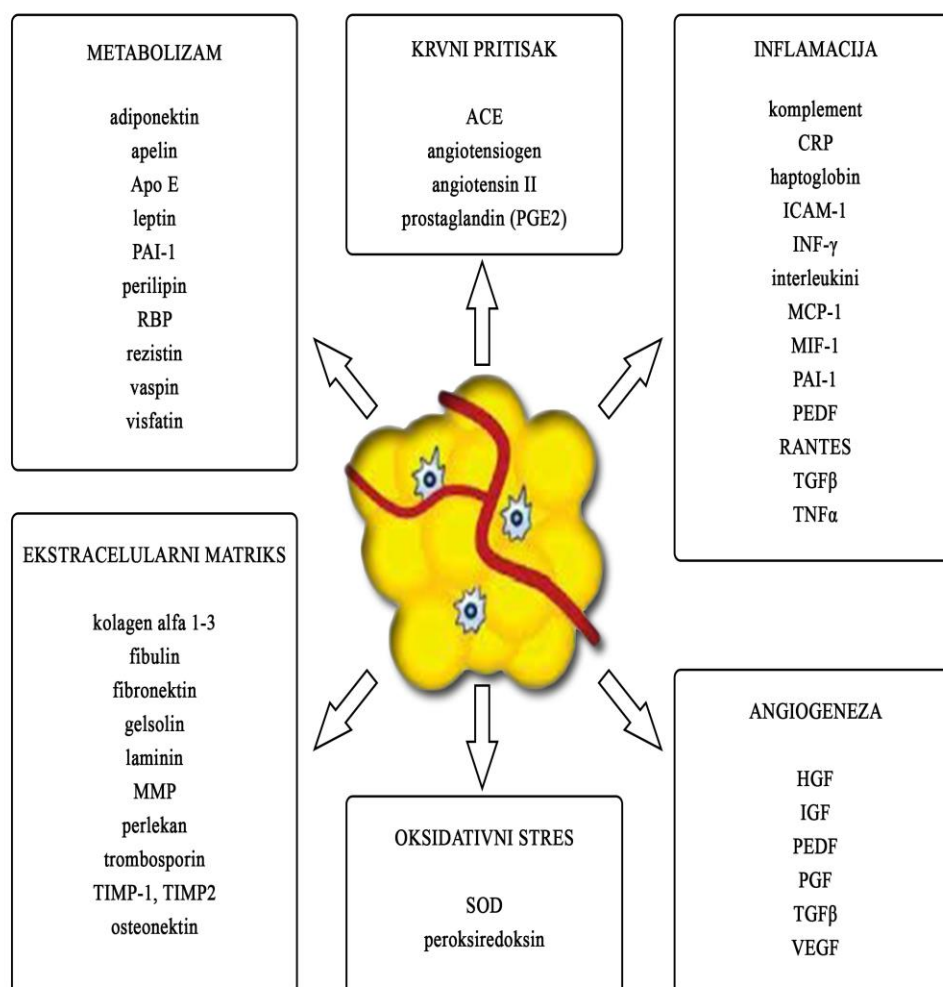
Savremena saznanja poznaju preko 60 različitih adipokina, brojnih hormona, citokina i faktora rasta, i drugih humoralnih činilaca, objedinjenih pod nazivom „adipokinom“ (46). Adipokini se međusobno razlikuju po molekularnoj veličini i strukturi proteina, a takođe su veoma raznovrsni u pogledu fiziološke funkcije (slika 1). Oni mogu ispoljavati svoje efekte, bilo lokalno, putem autokrine i parakrine sekrecije, bilo sistemski, putem endokrine sekrecije koja je kontrolisana neuroendokrinim signalima. Upravo su saznanja o sekretornoj ulozi

adipocita unela prekretnicu u razumevanju pojedinih metaboličkih poremećaja. Putem široke palate brojnih membranskih, citoplazmatskih i nuklearnih receptora adipocita, kao i lokalnog i sistemskog dejstva adipokina, masno tkivo je uključeno u regulaciju energetske, neuroendokrine, imunološke i kardiovaskularne homeostaze (47). Pored adipocita, u masnom tkivu metabolički su aktivne i ćelije iz stromovaskularnog kompartmana (48). Poslednjih godina u adipocitima je utvrđeno prisustvo iRNK za sintezu brojnih molekula, a koji su od velikog značaja u patogenezi šećerne bolesti tipa 2 i aterosklerotičnih KV bolesti (49, 50,51).

Pojedine specifičnosti endokrinog profila adipokina su pored ostalog određene i lokalizacijom depoa masnog tkiva (visceralno masno tkivo, intrahepatično, intramuskularno, perikardno, miokardno i perivaskularno masno tkivo). Prema rezultatima novijih studija navedeni lokaliteti masnog tkiva predstavljaju male endokrine žlezde sa jedinstvenim proteomskim profilom (52).

Sekretorni produkti masnog tkiva značajni su i u regulaciji fiziološke funkcije glikokortikoida. Efekat glikokortikoida u masnom tkivu ostvaruje se putem enzima 11β -hidroksi steroid dehidrogenaze (11β -HSD) koji reguliše prevođenje aktivne forme glikokortikoida (kortizol) u neaktivnu (kortizon) i obrnuto. Tip 1 ovog enzima je aktivan u masnom tkivu i jetri. Mada je ovo „dvosmerni“ enzim (prevodi aktivnu u neaktivnu formu i obrnuto) u adipocitima i jetri dominantno aktivira neaktivnu u aktivnu formu glikokortikoida, što ima značajne metaboličke posledice; u jetri stimuliše glikoneogenezu, odnosno deluje na ekspanziju i diferencijaciju adipocita (53). Pored toga, masno tkivo je aktivno u sekreciji polnih hormona (estrogena i testosterona) kod žena u menopauzi. Takođe, učestvuje u sekreciji enzima koji deluju na funkciju steroidnih hormona, na procese aktivacije, konveziije i inaktivacije. Uticaj na metabolizam steroidnih hormona je u srazmeri sa veličinom masnom tkiva (54).

Slika 1. Adipokini – uloga u pojedinim fiziološkim procesima



Legenda: Apo – apolipoprotein, PAI –1 - inhibitor aktivatora plazminogena 1, ACE – angiotensin konvertujući enzim, MMPs – matriks metaloproteinaze, TIMP – tkivni inhibitor metaloproteinaza, SOD – superoksid dismutaza, CRP – C reaktivni protein, ICAM- 1 – intraćelijski adhezioni molekul-1, IFN – interferon, MCP – monocitni hemotaksični protein, MIF – inhibitorni faktor migracije makrofaga, PEDF – pigmentni faktor porekla epitela, RANTES (eng. regulated on activation, normal T cell expressed and secreted), TGF – transformišući faktor rasta, TNF – tumor nekrotišući faktor, HGF – faktor rasta hepatocita, IGF – insulin sličan faktor rasta, PGF – placentarni faktor rasta, VEGF – vaskularni endotelni faktor rasta.

1.1.3. Disfunkcija masnog tkiva - adipozopatija

Iako se dugo mislilo da uvećanje masnog tkiva predstavlja pre svega posledicu hipertrofije adipocita, otkrićem preadipocita u masnom tkivu odraslih osoba i zapažanjem umiranja adipocita putem apoptoze značajno je izmenilo tradicionalno shvatanje da se samo u toku ograničenog perioda života odvija proces adipogeneze (55). Povećanje broja adipocita čini dodatni mehanizam za uvećanje ukupne mase masnog tkiva kod gojaznih osoba. Dok je manje izražena gojaznost obično posledica hipertrofije adipocita, veća gojaznost ili gojaznost koja se javlja u detinjstvu nastaje i hipertrofijom i hiperplazijom (povećanjem broja) adipocita (56). Tako se, tokom povećanja telesne mase, prvo zapaža uvećanje volumena adipocita, odnosno njihove hipertrofije, sve dok se ne postigne „kritična” veličina, kada započinje razvoj novih adipocita. Maksimalni (kritični) ćelijski volumen je genetski determinisan i regionalno specifičan (57).

Adipoznost koja nastaje usled energetskeg disbalansa, a uz podršku genetskih faktora i uticaja spoljašnje sredine, u hipertrofičnim masnim depoima može dovesti do razvoja disfunkcionalnog masnog tkiva, adipozopatije (9,59). Insuficijentna perfuzija u uvećanim masnim depoima, odnosno hipoksija je jedna od ranih i značajnih posledica hipertrofije adipocita i može dovesti do niza promena u adipocitima, ćelijama strome i vaskularnog kompartama (Tabela 1). Takođe, u hipertrofičnim adipocitima dolazi do poremećaja na celularnom nivou (usled porasta stresa u endoplazmatskom retikulumu i mitohondrijama), a potom i do kvalitativnih promena imunskih ćelija u depoima masnog tkiva (polarizacija makrofaga). Posledično dolazi do proinflamatorne kompozicije adipokinoma, poremećaja u adipogenezi i odnosu „apoptoza/adipogeneza“, poremećaja u angiogenezi i remodelingu ekstracelularnog matriksa, povećanja cirkulišućih SMK i disfunkcionalne razmene informacija sa drugim organima - mozak, jetra, mišići, imuni, kardiovaskularni sistem i drugi.

Gojazne individue kod kojih postoje kliničke manifestacije adipozopatije predstavljaju jedan kompleksan i poseban fenotip, u kome su udruženi multipli kardiometabolički faktora rizika, sa značajno povišenim rizikom za razvoj aterosklerotske KVB, posebno koronarne bolesti srca (60, 61, 62).

Tabela 1. Adipozopatija – kauzalost, patofiziološke posledice i kliničke manifestacije (59)

Uzroci	Pozitivni kalorijski bilans Sedanterni život Genetska predispozicija Uslovi spoljašnje sredine
Morfo/funkcionalne karakteristike adipozopatije	Hipertrofija adipocita Visceralna, perikardijalna, perivaskularna i adipoznost oko ostalih organa Insuficijentna perfuzija u uvećanim masnim depoima - hipoksija Kvantitativne promene imunskih ćelija u depoima masnog tkiva
Patofiziološke manifestacije adipozopatije	Disfunkcija organela u adipocitima Kvalitativne promene imunskih ćelija u depoima masnog tkiva – polarizacija makrofaga Poremećaji u adipogenezi i odnosu „apoptoza/adipogeneza“ Poremećaji u angiogenezi i remodelingu ekstracelularnog matriksa Povećanje cirkulišućih SMK Proinflamatorna kompozicija adipokinoma Disfunkcionalna razmena informacija sa drugim organima - mozak, jetra, mišići, imuni, kardiovaskularni sistem i drugi
Kliničke manifestacije adipozopatije	Hiperglikemija Hipertenzija Dislipidemija Metabolički sindrom Ateroskleroza Masna jetra Hiperandrogenemija u žena Hipoandrogenemija u muškaraca Maligne bolesti

1.1.3.1 Disfunkcija masnog tkiva i metabolička inflamacija

Inflamatorni odgovor je nezavisno od uzročnika, pokušaj adaptacije organizma i uspostavljanje homeostaze. Generička osnova inflamatornog odgovora sastoji se od induktora, senzora, medijatora i efektorima i ona određuje vrstu i tok inflamatornog odgovora. Induktori šalju signale koji aktiviraju senzore. Senzori putem produkcije specifičnih medijatora dovode do reakcije u efektorima, odnosno do poremećaja u funkcionalnom statusu tkiva i organa (63).

Pored dobro poznatih induktora, aktuelna saznanja ističu značaj metaboličkih stresora kao mogućih induktora inflamatornog odgovora (64). Takođe, u disfunkcionalnim deopima masnog tkiva inicijacija, a potom i amplifikacija inflamatornog odgovora klasičnim mehanizmima dobija sistemski karakter, hroničnog je toka, i nazvana je metabolička (meta) inflamacija (65). U kontekstu metaboličke inflamacije, moguće induktore inflamatornog odgovora u disfunkcionalnom masnom tkivu predstavljaju signali iz adipocita i makrofaga usled hipoksije, nekroze, i/ili apoptoze (66). U poslednjih nekoliko godina u naučnim krugovima je prihvaćeno da postojanje metaboličke inflamacije ima značajan uticaj na proces ateroskleroze, doprinosi razvoju aterosklerotičnih KVB oboljenja, kao i progresiji stabilnih klinički manifestnih KVB u nestabilnu formu (67,68).

1.1.3.2. Metabolički stresori i molekularni mehanizmi u aktivaciji inflamatornog odgovora

Molekularni mehanizmi u osnovi aktivacije inflamatornog odgovora u disfunkcionalnim depozitima masnog tkiva su veoma kompleksni. Poznato je da receptori na ćelijama urođene imunosti vrše stalni monitoring ekstracelularnog i intracelularnog prostora u cilju detekcije prodora mikroorganizama (eng. pathogen-associated molecular patterns, PAMP), odnosno molekula koje nastaju usled oštećenja ili smrti (nekroze/apoptoze) ćelija (eng. damage-associated molecular patterns, DAMP) (63).

Od posebnog značaja je aktivacija NLRP3 (eng. nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3) inflamazoma, a putem kojeg metabolički stresori (glukoza, SMK, palmitati, kristali holesterola, ceramidi) mogu da indukuju aktivaciju efektorne subjedinice proteolitičkog enzima kaspaze-1. Kaspaza-1 dalje reguliše maturaciju proinflamatornih citokina IL-1 β i IL-18 ili piroptozu (brza forma smrti ćelije izazvana inflamacijom). Aktivacija NLRP3 inflamazoma može biti posledica i produkcije stresora DAMP, kao što su ekstracelularni ATP, hijaluron, amiloid- β fibrili i kristali mokraćne kiseline. Potencijalne aktivatore ovog multimolekularnog kompleksa koji ima glavnu ulogu u monitoringu intracelularnog citoplazmatskog prostora imaju i reaktivne kiseonične vrste, efluks kalijuma i dr (69,70,71).

Pored toga, perturbacija ćelijskih homeostaznih puteva u apidozopatiji dovodi do stresa endoplazmatskog retikuluma, mitohondrijalne disfunkcije i insuficijentne autofagije što je povezano sa reaktivnim kiseoničnim vrstama i oksidativnim stresom (72,73).

Veoma je značajan i porast u ekstracelularnoj koncentraciji SMK usled povećanog prometa i frekventnog lipolitičkog procesa, s obzirom da SMK služe kao ligandi za TLR4 (eng. toll-like receptor 4) (74). Receptorski proteinski sistem, TLR, ima ulogu u indukciji

urođenog i stečenog imunog odgovora, putem aktivacije proteinskih kinaza (IK- β i JNK). U citoplazmatskom prostoru ćelije, transkripcioni nuklearni faktor kappa B (eng. *nuclear factor kappa beta*, NF κ B) je u kompleksu sa inhibitornim proteinima I κ B u neaktivnoj formi. Nakon TNF- α (IL-1) citokinske signalizacije i aktivacije kompleksa I κ B kinase dolazi do disocijacije kompleksa I κ B- NF κ B i do prelaska NF κ B u jedro, u kome ovaj transkripcioni činilac ostvaruje svoju funkciju u regulaciji ekspresije brojnih proinflamatornih gena (75). U humanom TLR sistemu, TLR 2 i TLR4 imaju značaja u metaboličkim poremećajima. Takođe, krajnji produkti glikozilacije proteina (eng. advanced glycation end-products, AGE) koji vezivanjem za receptor za AGE (eng. receptor for advanced glycation endproducts, RAGE) dovode do aktivacije transkripcionog faktora NF- κ B (76).

Izoforme α , β i γ nuklearnog receptora koji aktivira proliferaciju peroksizoma (eng. peroxisome proliferator-activated receptor PPAR) posreduju u efektima SMK (40). Sva tri, a posebno PPAR β i PPAR γ su ispoljeni na makrofazima i adipocitima i imaju ulogu u polarizacionom statusu makrofaga u masnom tkivu. Ttranskripcioni faktor, PPAR γ , je veoma značajan u stimulatívnoj regulaciji adipogeneze, dok aktivacija proinflamatornog transkripcionog NF- κ B inhibira dejstvo PPAR γ -a u adipocitima. Posledično dolazi do blokade diferencijacije preadipocita u adipocite što rezultuje smanjenim kapacitetom adipocita za deponovanje SMK i njihovog preusmeravanja u neadipozna tkiva (77). Na poremećaj adipogeneze utiče i hronično povišena sekrecija TNF α iz hipertrofičnih adipocita i izmenjene diferencijacije (trans – ili dediferencijacije) preadipocita u drugi fenotip (78).

1.1.3.3. Hipoksija i metabolička inflamacija

Hipoksija je jedna od značajnih posledica hipertrofije adipocita, s obzirom da već u najranijem stadijumu dolazi do razvoja lokalnih poremećaja u oksigenaciji tkiva (67,79). Kao glavni regulator hipoksije i homeostaze kiseonika je transkripcioni faktor HIF-1 (eng. hypoxia induced factor 1), podtip 1α , za koga je u eksperimentalnim studijama uvrđena povezanost sa pojedinim adipokinima (leptinom i VEGF)(80).

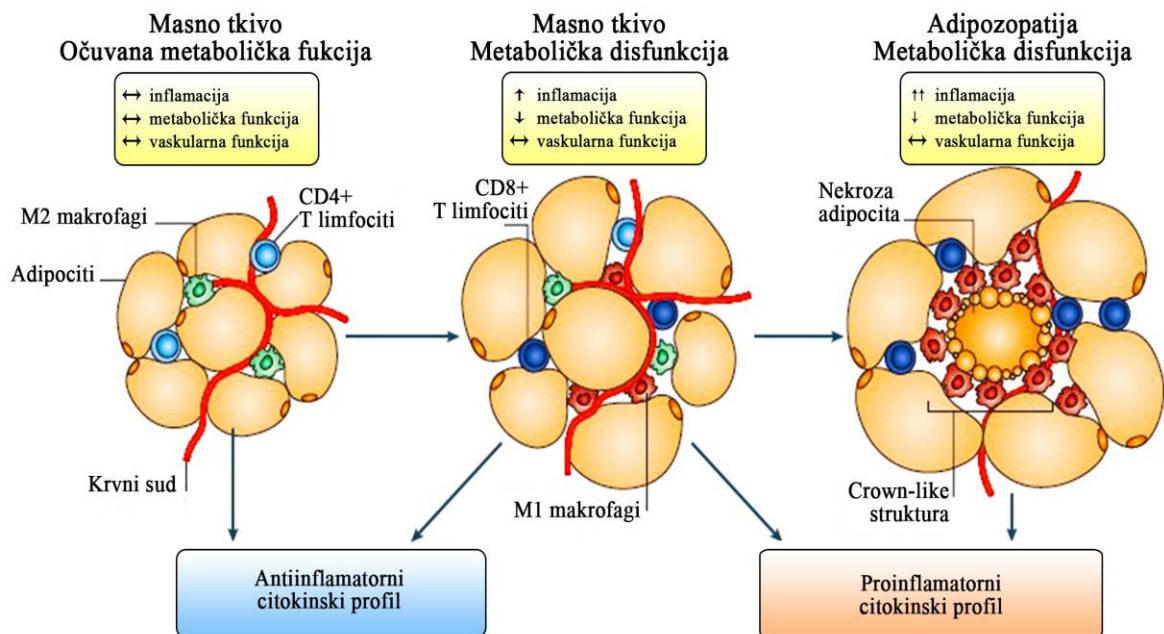
Hipoksija dovodi do promene u dejstvu transkripcionog faktora HIF- 1α u adipocitima, ćelijama ekstracelularnog matriksa i makrofaga i indukuje ekspresiju proinflamatornih citokina i brojnih proangiogenetskih gena te doprinosi razvoju poremećaja mikrocirkulacije i lokalne fibroze (81).

1.1.3.4. Uloga makrofaga u metaboličkoj inflamaciji

Ćelijski status je pod monitoringom tkivnih makrofaga. U fiziološkim uslovima, rezidentni makrofagi održavaju lokalnu homeostazu različitim tkivno specifičnim mehanizmima i predstavljaju veoma heterogenu populaciju ćelija sa različitim fenotipskim i funkcionalnim karakteristikama (81).

Migracija makrofaga u masno tkivo je inicijalni događaj u inflamaciji indukovanoj gojaznošću (65,67). Signalni mehanizmi iz disfunkcionalnih adipocita utiču na aktivaciju i status lokalnih makrofaga. Takođe, hemokini MCP-1 (eng. monocyte chemotactic protein-1) i LTB₄ (eng. leukotriene B₄) stvoreni u adipocitima privlače monocyte u masno tkivo gde se dalje diferentuju u tkivne makrofage. Lokalno, makrofagi formiraju agregate oko nekrotičnih adipocita (nekrotičnih/apoptičnih) i rezidualnih lipidskih ostataka u obliku krune (eng. *crown-like structures*) i oslobađaju citokine, od kojih je najznačajniji TNF- α (slika 2) (82-86). Uloga ovog potentnog citokina se zasniva na aktivaciji transkripcionog regulatora NF κ B (66).

Slika 2. Fenotipska modulacija u masnom tkivu – preuzeto i modifikovano prema Ouchi N. et al. (86)



Osim toga, lokalni makrofazi produkuju hemokine čime se dalje održava inflamatorni proces (87). Jedan od najvažnijih hemokina MCP-1 se vezuje za hemokinski receptor CCR2 (engl. C-C chemokine receptor type 2) na makrofazima. Brojna istraživanja upućuju na ulogu hemotaktičkog MCP-1/CCR2 puta u regulaciji akumulacije monocita u disfunkcionalnom masnom tkivu, s obzirom da delecija gena za MCP-1 ili CCR2 smanjuje infiltraciju makrofaga u masnom tkivu i redukuje parametre inflamacije, smanjuje stepen insulinske rezistencije i endotelne aktivacije (87,88,89).

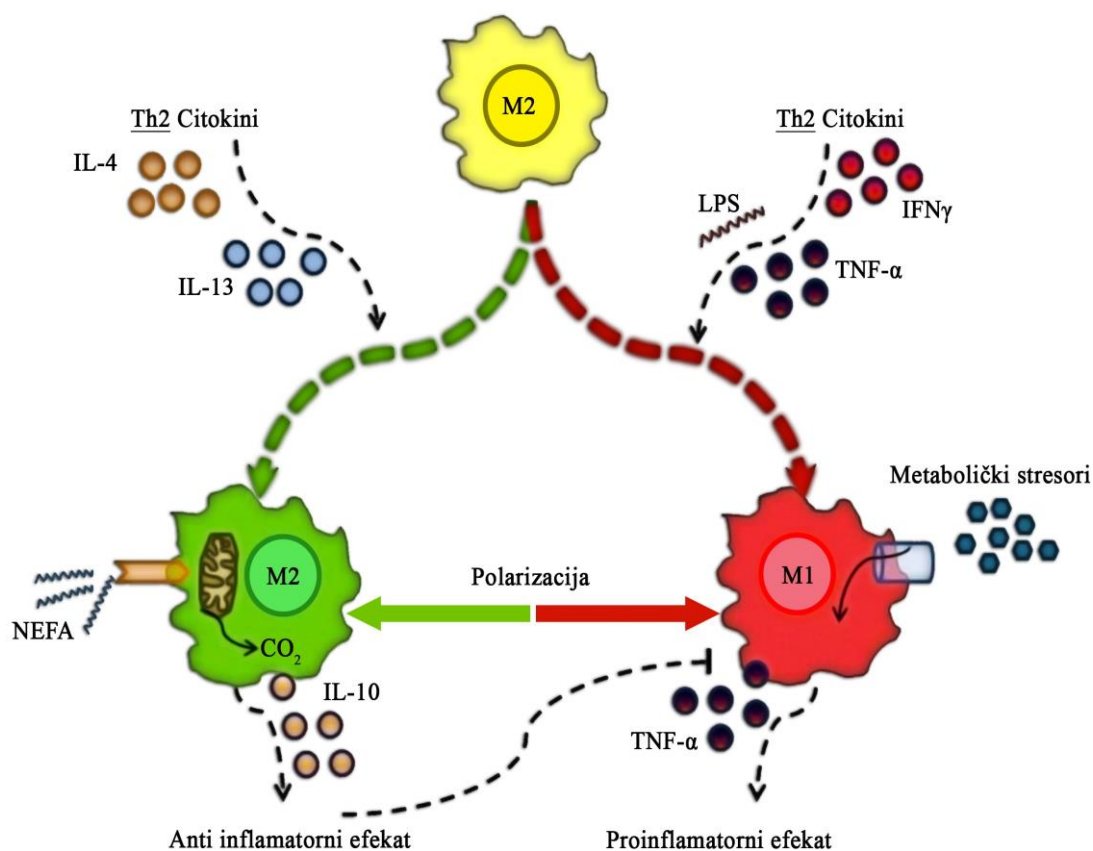
U odnosu na fenotipske karakteristike u masnom tkivu se izdvajaju dve forme M1 i M2 makrofaga (87). U uslovima homeostaze, u masnom tkivu prevashodno visceralnom dominira M2 fenotipska forma makrofaga. U odgovoru na promene u disfunkcionalnom

masnom tkivu rezidentni makrofagi menjaju svoj polarizacioni status (slika 3). Klasično aktivisani ili M1 makrofagi, stimulisani dejstvom interferona γ (eng. interferon- γ , IFN- γ) ekspimiraju pro-inflamatorni fenotip u odbrani od intracelularnih patogena i produkcijom IL 12 učestvuju u polarizaciji adaptivnog imunskog odgovora u Th1 (eng. T helper). Citokinski profil koji karakteriše M1 fenotip obuhvata TNF- α , IL-1 β , IL-12, IL-23 (81). Osim toga značajna je produkcija hemokina, reaktivnih kiseoničnih vrsta (eng. reactive oxygen species, ROS), azot monoksida (eng. nitric oxid, NO) i lizolomalnih enzima, kao i pojačana ekspresija MHC (eng. major histocompatibility complex) molekula i kostimulatora (85). Makrofagi M1 imaju sposobnost akumuliranja lipida u citoplazmi i na taj način formiraju penaste ćelije (eng. foam cells) (90).

Alternativno aktivisani ili M2 makrofagi, u odgovoru na citokine Th2 imunskog odgovora IL-4 i IL-13, sekretuju anti inflamatorne citokine (IL-10, IL-1 receptor agonist (IL-1Ra), transformišući faktor rasta β (eng. transforming growth factor- β , TGF- β), arginazu - 1 i druge faktore koji učestvuju u procesima reparacije tkiva i fibroze (81).

Eksperimentalna i klinička istraživanja su potvrdila da polarizacioni status makrofaga u smeru proinflamatornog M1 fenotipa u gojaznosti povezan sa nastankom insulinske rezistencije i proinflamatorne aktivacije endotelnih ćelija (91,92,93).

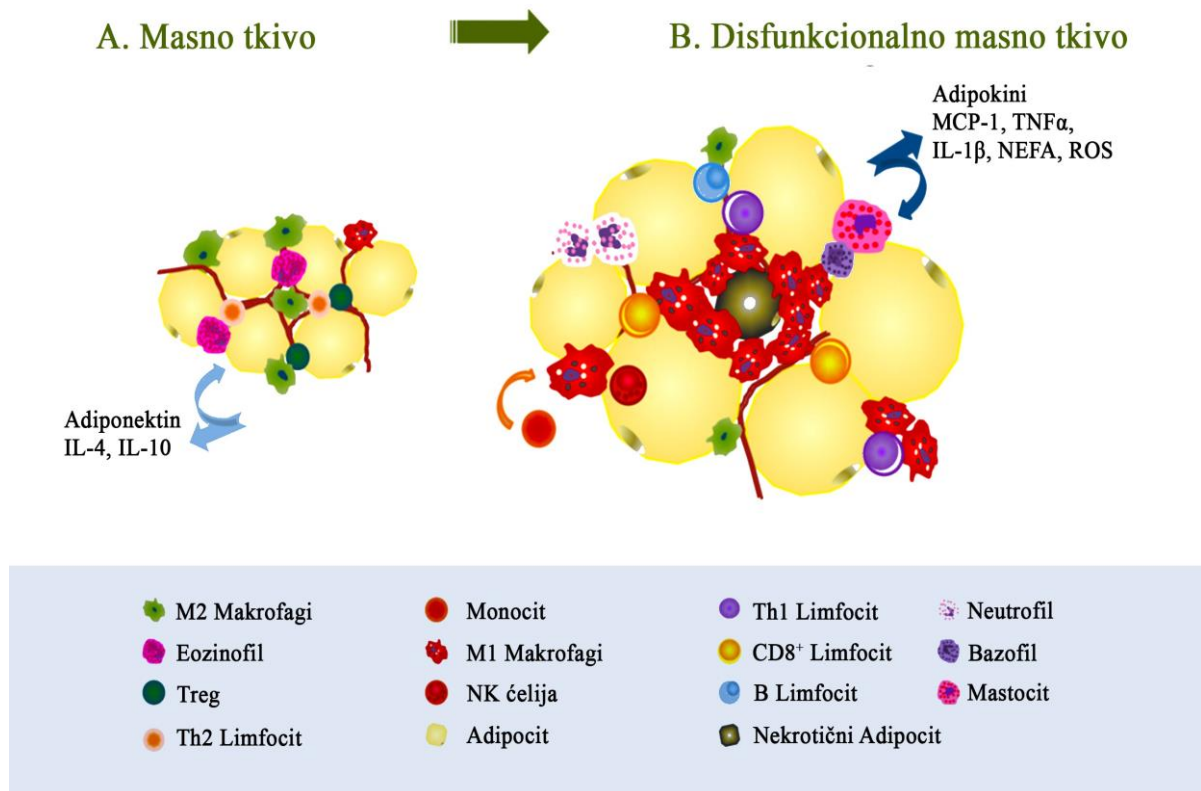
Slika 3. Polarizacija makrofaga u disfunkcionalnom masnom tkivu. Preuzeto i modificirano prema Johnson AR et al. (87)



Pored makrofaga, savremena saznanja o patogenezi metaboličke inflamacije ističu ulogu brojnih ćelija imunskog sistema koje su u međusobnoj komunikaciji i koje svoje glavne efektorske funkcije ostvaruju u procesima kontrolne migracije, aktivacije i polarizacije makrofaga u disfunkcionalnom masnom tkivu (slika 4) (94). Regulatorni T limfociti CD4+ sekretuju antiinflamatorne citokine koji inhibiraju migraciju makrofaga i utiču na njihovu polarizaciju u M2 smeru. Citotoksični CD8+ T limfociti infiltrišu masno tkivo i proizvode proinflamatorne citokine i aktiviraju M1 fenotip makrofaga (95,96). Takođe, B limfociti dodatno promovišu aktivaciju T limfocita i polarizaciju makrofaga prema proinflamatornom M1 fenotipu, dok su i sistemski efekti mogući produkcijom patogenih IgG antitela (97). Pored mastocita i rezidentni eozinofili učestvuju u održavanju polarizacione ravnoteže (98). Eozinofili su osnovni izvor IL-4 i IL-13 čime učestvuju u održavanju M2 polarizacionog

statusa. Eksperimentalne studije su pokazale i akumulaciju neutrofila u masnim depoima. Uočen je i porast neutrofilne elastaze potentne serumske proteaze sa poznatim proinflamatornim dejstvom, kao i njen efekat na redukciju broja insulinskih receptora na hepatocitima i doprinosu u razvoju insulinske rezistencije (87).

Slika 4. Imunski celularni profil u disfunkcionalnom masnom tkivu



1.1.3.5. Sekretorni profil adipocita u adipozopatiji

Adipokini sa proinflamatornim delovanjem pospešuju razvoj hronične inflamacije u gojaznosti i doprinose razvoju kardiovaskularnih oboljenja. Pored leptina, TNF i IL-6, adipokini koji su u poslednjih nekoliko godina u fokusu naučnih istraživanja su rezistin, retinol vezujući protein 4 (RbP4), lipokalin 2, IL-18, angiopetinu sličan protein 2 (ANGPTL2), CC- hemokinski ligand 2 (CCL2 ili MCP1), visfatin i drugi (58,62). Proinflamatorni adipokini vrše nepovoljan efekat na vaskularnu homeostazu direktnim ili indirektnim mehanizmima. Pored brojih adipokina sa proinflamatornim dejstvom, masno

tkivo luči pojedine adipokine sa antiinflamatornim dejstvom, među kojima su najpotentniji adiponektin, apelin, omentin i SFRP5 (eng. secreted frizzled-related protein 5), a čija je sekrecija u adipozopatiji najčešće smanjena (99).

1.1.3.6. Poremećaji angiogeneze u adipozopatiji

Angiogeneza je neopodan proces tokom adipogeneze i ekspanzije masnog tkiva. Novoformirani krvni sudovi omogućavaju snabdevanje kiseonikom, nutritivnim sastojcima, faktorima rasta, hormonima, upalnim ćelijama, stem ćelijama iz kosne srži i omogućavaju održavanje adekvatne homeostaze masnog tkiva (100).

Potencijal za angiogenezu se razlikuje u odnosu na lokalizaciju masnih depoa. Masno tkivo u viseralnim, za razliku od subkutanih depoa, ima veći angiogenetski potencijal, veći denzitet vaskulature i obilje endotelnih ćelija. Takođe, endotelne ćelije u visceralnim depoima imaju potentnije angiogenetske karakteristike (101). Pojedini adipokini, adiponektin, faktori rasta (VEGF), imaju stimulacijski efekat na rast vaskularnih endotelnih ćelija, za razliku od proinflamatornih citokina koji dovode do insuficijentne angiogeneze što doprinosi hipoksiji u masnim depoima (102).

1.1.3.7. Poremećaji ekstracelularnog matriksa u adipozopatiji

Ćelije ekstracelularnog matriksa (ECM), pored uloge u pružanju mehaničke potke masnom tkivu, takođe učestvuju u fiziološkim i patofiziološkim procesima kroz različite signalne puteve (85). Tokom rasta masnog tkiva dolazi do fiziološkog aktivnog remodelinga ECM. U disfunkcionalnim masnim depoima dolazi do poremećaja regulacije remodelinga ECM, povećanog stvaranja kolagenskog kompleksa, kolagena VI, što rezultuje fibrozom. Prisutnost kolagena VI u hipertrofičnom masnom tkivu u korelaciji je stepenom insulinske rezistencije (103). U remodelingu ECM značajnu ulogu imaju matriks metaloproteinaze, familija neutralnih endopeptidaza koje cepaju komponente ECM (104).

1.1.3.8. Sistemski efekti metaboličke inflamacije u gojznosti

U jetri, u Kupferovim ćelijama se takođe aktiviraju proinflamatorni signalni putevi i ove ćelije mogu da menjaju svoj aktivacioni status iz proinflamatornog u alternativno aktivirani antiinflamatorni status, već opisanim mehanizmima. Takođe, u prostoru između mišićnih vlakana gde su smešteni intramuskularni masni depoi dolazi do infiltracije makrofaga sa sekrecijom proinflamatornih citokina koji su doprinose progresiji lokalne insulinske rezistencije (66).

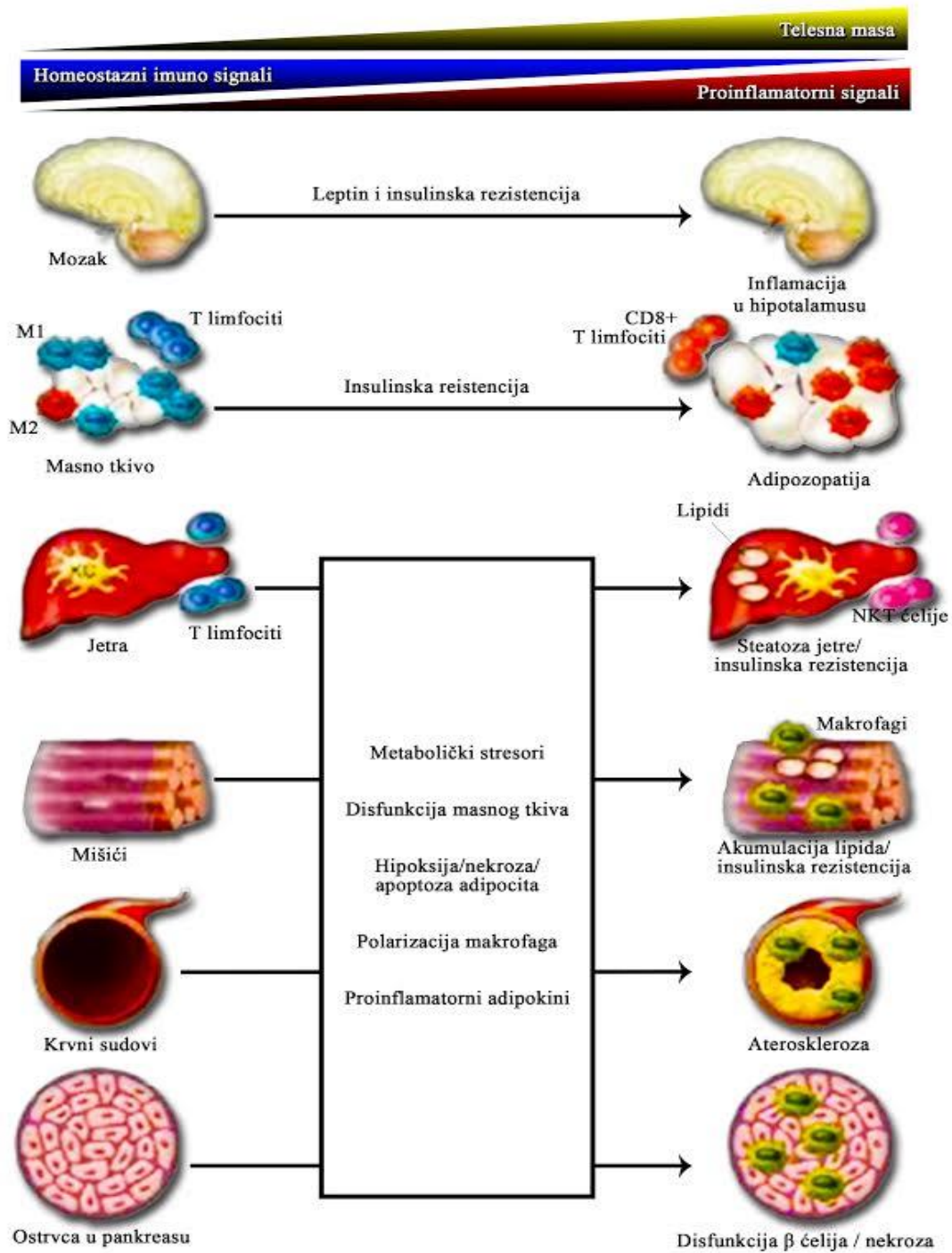
Mikroglia ili rezidentni makrogi u CNS, pored sistemskih signala, sa efektima na nivou hipotalamusa doprinose inflamatornom procesu u gojznosti. Kako je pored leptina, centralna regulacija apetita i energetske homeostaze upravo iz hipotalamusa, inflamacija ima značajnu ulogu u nastanku centralne rezistencije na leptin (25,105,106,107).

U pankreasu inflamatorni citokini imaju direktne efekte na sekreciju insulina i apoptozu β ćelija (108).

Najnovija saznanja ukazuju i na značaj povećane propustljivosti epitela gastrointestinalnog trakta za produkte crevne mikroflore u sistemsku cirkulaciju koja dovodi do metaboličke endotoksemije (109). U gojznosti dolazi do porasta cirkulišućih nivoa lipopolisaharida Gram negativnih bakterija koji kao agonista TLR4 (eng. toll-like receptor 4) doprinosi metaboličkoj inflamaciji (110).

U odnosu na krvne sudove inflamacija može dovesti do disfunkcije vaskularnog endotela, inicijacije i progresije aterosklerotskog procesa kako putem direktnog efekta, tako i indirektno sistemskim efektima proinflamatornih adipokina, uz sadejstvo udruženih metaboličkih poremećaja (111).

Slika 5. Sistemske efekte inflamacije u gojaznosti - preuzeto i modificirano prema Lumeng C et al. (66)



1.1.3.9. Adipozopatija i metabolička disfunkcija

Adipozopatija nastaje usled patoloških promena u masnom tkivu kod gojaznih individua i rezultuje endokrinim, metaboličkim i imunološkim poremećajima. Kod metabolički predisponiranih osoba (fizička neaktivnost, starenje, lekovi, poligenetske varijacije,...) lokalni poremećaji u disfunkcionalnim masnim depoima, kao i endokrini i proinflamatorni efekti adipocitokina u drugim organima, mogu da dovedu do kompleksnog klinički manifestnog poremećaja koji integriše veći broj međusobno povezanih faktora rizika i dugotrajno povećava rizik od kardiometaboličkih oboljenja (9, 58).

U nastanku insulinske rezistencije i dislipidemije od posebnog je značaja ekspanzija visceralnih masnih depoa, povećanje ekstracelularnih koncentracija SMK, njihovog preusmeravanja u neadipozna tkiva, kao i sekretornog profila adipocita (visceralnog „adipokinoma”). Takođe, značajan je i uticaj anatomske lokalizacije visceralnog masnog tkiva koji omogućava drenažu metaboličkih produkata i adipocitokina, u direktno putem portnog krvotoka u jetru. Dodatno, prekomerni unos nutrijenata praćen je progresivnim povećanjem veličine samih adipocita sa ograničenim kapacitetom deponovanja lipida (112).

Prema teoriji lipotoksičnosti, ćelije visceralnog, u odnosu na ćelije subkutanog masnog tkiva, pokazuju veću osetljivost na lipolitičku stimulaciju od strane CNS i slabiji odgovor na antilipolitičko dejstvo insulina (113). Povećanje lipolitičke aktivnosti u visceralnom masnom tkivu doprinosi oslobađanju SMK u cirkulaciju. Posledično, dolazi do preusmeravanja, influksa SMK-a putem portnog krvotoka u jetru, što remeti homeostazu insulina, doprinosi smanjenju tolerancije na glukozu i utiče na razvoj insulinske rezistencije. Smanjena sposobnost insulina da u fiziološkim koncentracijama ostvari adekvatno iskorišćavanje glukoze u tkivima dovodi do kompenzatornog uvećanja mase pankreasnih ostrvaca, porasta sekretornog kapaciteta β ćelija pankreasa i hiperinsulinemije. Sistemska hiperinsulinemija je udružena sa smanjenom sposobnošću insulina da suprimira proces

glukoneogeneze (hepatična insulinska rezistencija), dok SMK dodatno taj proces pojačavaju. Takođe, smanjen broj insulinskih receptora u jetri usporava klirens insulin i doprinosi hiperinsulinemiji, što uz povećan priliv SMK iz visceralnog masnog tkiva rezultuje nastankom masne infiltracije u jetri. Insulinska rezistencija u masnom tkivu utiče i na povećanu produkciju proinflamatornih citokina koji endokrinim efektima smanjuju senzitivnost insulina u drugim tkivima (114).

U patogenetskom smislu posebno se ističe značaj metaboličkih stresora (glukoze i SMK) koji indukuju stvaranje reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) koje udruženo sa postojanjem hronične inflamacije u gojaznosti i u prisustvu genetskih faktora, doprinose nastanku insulinske rezistencije. S obzirom da je funkcionalni kapacitet β ćelija ograničen vremenom dolazi do progresivne insuficijencije ovih ćelija i razvoja šećerne bolesti tipa 2 (115). Visok procenat obolelih od šećerne bolesti tipa 2 je gojazno (80-90%), a rizik za nastanak šećerne bolesti tipa 2 raste sa stepenom gojaznosti (116).

Dislipidemija je centralna metabolička posledica disfunkcije masnog tkiva (117). U gojaznih individua mogući su poremećaji u adipogenezi (poremećaji u proliferaciji i/ili diferencijaciji) u perifernim subkutanim depoima. Usled ograničenih kapaciteta za skladištenje energije u subkutanim depoima, SMK su povećane u cirkulaciji, što povećanja njihovo deponovanje u drugim masnim depoima. Stoga, porast visceralne, perikardijalne i perivaskularne adipoznosti se može smatrati surogat markerom za poremećaje u skladištenju SMK u subkutanom masnom tkivu (118).

Direktna izloženost hepatocita povećanom influksu SMK-a, glicerola, laktata, i dodatna stimulacija proinflamatornim adipocitokinima, predstavljaju bitne činioce koji u hepatocitima stimulišu glukogenezu i sintezu lipoproteina veoma male gustine (eng. very low-density lipoprotein, VLDL). Takođe, hronična izloženost jetre povišenim koncentracijama SMK-a promoviše glukogenezu i smanjuje produkciju enzima uključenih u

njihovu oksidaciju (59,60). Prekomerno dopremanje lipida u jetru za posledicu ima intrahepatično nagomilavanje masti i progresivni tok insulinske rezistencije. Nastalu dislipidemiju karakteriše povećanje sistemskog nivoa SMK, triglicerida, VLDL i lipoproteinskih partikula niske gustine (engl. low-density lipoprotein -LDL), uz redukovan HDL (eng. high-density lipoprotein). Za razliku od HDL lipidnih partikula, VLDL i LDL imaju značajno snižen kapacitet za povratni transport holesterolskih estara u jetru. Ove čestice pokazuju značajan aterogeni potencijal praćen pojačanim deponovanjem holesterola, pre svega u zidovima krvnih sudova. Pored izolovanog postojanja hiperholesterolemije, hipertrigliceridemije, poseban dislipidemijski oblik je nazvan aterogena lipidna trijada i predstavlja istovremeno postojanje povišenih vrednosti ostataka VLDL, koje se manifestuje kao blago povišen nivo triglicerida, i povišen nivo LDL uz smanjen nivo HDL holesterola. Ovaj poremećaj, sam ili kroz interakciju sa ostalim KV faktorima rizika ima značajan uticaj razvoj i progresiju ateroskleroze (121).

Takođe, u adipozopatiji, su uočene funkcionalne promene lipidskih frakcija, apolipoproteina, transfernih proteina, bioloških transprotera, celularnih receptora, enzima, hormona i adipocitokina, koji fiziološki imaju značajnu ulogu u metabolizmu lipida, a koji mogu da doprinesu razvoju „adipozopatske dislipidemije“ (58). Poremećaji funkcije pojedinih enzima je smanjena, odnosno insuficijentna, dovodi do poremećaja u lipolizi, ubrzanom postprandijalnom klirensu SMK i povećanju triglicerida (122).

Hormon senzitivna lipaza (HSL) je glavni enzimski regulator intraadipocitne lipolize, a njena ekspresija se smanjuje sa porastom adipoznosti i hiperinsulinemijom. Postprandijalni porast insulina suprimira regulaciju HSL, smanjuje lipolizu triglicerida unutar adipocita, povećava lipolizu triglicerida izvan adipocita, smanjuje neto preuzimanje SMK u adipocitima. Ova lipogena aktivnost može da poveća veličinu adipocita, i ukoliko je ekscesivna može doprineti hipertrofiji adipocita. U gladovanju smanjena je insulinemija, što

aktivira adipocitnu HSL, koja povećava ukupno otpuštanje SMK iz masnog tkiva. Aktivnost HSL se smanjuje sa porastom adipoznosti. Redukovana aktivnost HSL smanjuje otpuštanje SMK iz adipocita, odnosno dopremanje SMK u jetru, smanjuje sintezu VLDL partikula u jetri i smanjuje klirens HDL čestica.

U adipozopatiji moguć je izostatak ovog efekta ili nedovoljnost u delovanju. Osim toga, smanjena aktivost HSL može biti nedovoljna da se prevaziđe lipolitički efekat povezan sa adipozopatijom (usled povećanje adrenergične aktivnosti, poremećaja dejstva insulina na adipocite, kao i efekta perilipina). Stoga, uprkos smanjoj aktivnosti HSL sa adipoznošću, adipozopatski odgovor može doprineti neto efektu, odnosno porastu cirkulišućih SMK.

Lipoproteinska lipaza (LPL) je enzim koji se stvara i sekretuje u masnom tkivu (i u drugim tkivima, mišićima na pr.) i koji na luminalnoj strani kapilarnih krvnih sudova, interaguje sa lipoproteinima bogatim trigliceridima i ubrzava ekstra adipocitnu intravaskularnu lipolizu triglicerida. Apolipoprotein CII ubrzava hidrolizu triglicerida posredovanu sa LPL; apolipoprotein CIII inhibiše hidrolizu triglicerida posredovanu sa LPL. U fiziološkim uslovima, nakon obroka, 80% do 90% ili više SMK je zarobljeno u adipocitima kao rezultat neto efekta insulina, LPL i HSL. Postprandijalno, SMK su niže nego tokom gladovanja. Tokom gladovanja, hidroliza cirkulišućih triglicerida se odvija interakcijom LPL sa VLDL. Nakon obroka, LPL interaguje sa hilomikronima. Postprandijalni porast u insulinu simuliše LPL u adipocitima, dolazi do lipogeneze i porasta u veličini adipocita, odnosno smanjenju nivoa triglicerida (123).

1.2. DISFUNKCIJA VASKULARNOG ENDOTELA

Razumevanje kompleksne uloge vaskularnog endotela u naučnoj javnosti se postepeno oblikovalo. Prva saznanja o strukturnim promenama i gubitku integriteta endotelnih ćelija u početnim stadijumima ateroskleroze istaknuta su još 1966. godine. Nekoliko godina kasnije saznanja o aktivnom učešću endotela u nastanku i napredovanju ateroskleroze dovela su do hipoteze koja je u osnovi teorije nastanka ateroskleroze – „odgovor intime krvnog suda na oštećenje“. Termin disfunkcija vaskularnog endotela se prvi put pojavljuje 1980. godine kada su je Schafer i saradnici prvi put su upotreбили u opisu interakcije endotela i trombocita. Osim toga, razumevanje patogeneze ateroskleroze značajno je unapređeno 1991. godine otkrićem endogenih adhezionih molekula kada su Cybulsky i saradnici definisali ulogu endotela u upalnoj teoriji aterogeneze. Složenost endotelne funkcije i nezaobilazna uloga u očuvanju vaskulne homeostaze, istaknuta je 1995. godine definicijom endotela kao posebnog endokrinog organa. Značaj pomenutih otkrića biologije vaskularnog endotela krunisan je 1998. godine kada su istraživači Robert Furchgott, Louis J. Ignarra i Ferida Murada dobili Nobelovu nagradu za medicinu i fiziologiju (124).

1.2.1. Fiziološke osobine vaskularnog endotela

Vaskularni endotel je dinamički autokrini, parakrini i endokrini organ koji igra glavnu ulogu u održavanju kardiovaskularne homeostaze (tabela 2). Zahvaljujući svojoj strateškoj lokalizaciji između cirkulišuće krvi i vaskularnog zida, endotelne ćelije dolaze u dodir sa brojnim lokalnim celularnim i sistemskim humoralnim medijatorima. U zavisnosti od lokalizacije u vaskulnom koritu i lokalnih potreba tkiva/organa pokazuju ispoljavaju heterogenost u fenotipskim karakteristikama (125).

Od posebnog značaja u razumevanju patofizioloških mehanizama endotelne disfunkcije predstavlja antiinflamacijski efekat endotela u fiziološkim uslovima, inhibicija adhezije i migracije leukocita, inhibicija proliferacije i migracije glatkih mišićnih ćelija,

antikoagulacijski efekat i profibrinolitički efekat. Takođe, važna je i uloga endotela u podešavanju vaskularnog tonusa i struktura krvnih sudova, regulaciji lokalnog celularnog rasta, molekularnog transporta i drugih procesa (126,127).

Iako se patoanatomski gledano u strukturi arterijskih krvnih sudova razlikuju tri sloja, funkcionalna analiza pokazuje prisustvo dva odvojena odeljka (»kompartmana«). Endoluminalni sloj ili endotel sa elementima krvi predstavlja zaseban funkcionalni odeljak. U uslovima vaskularne homeostaze endotelni kompartman sa drugim funkcionalnim odeljkom (glatka muskulatura suda, ekstracelularni matriks i intersticijalna tečnost) komunicira indirektno. U patološkim uslovima dolazi do direktne komunikacije između pomenih kompartmana (»dekompartmenizacija«) što može dovesti do niza promena u metaboličkoj, endokrinoj i parakrinoj ulozi endotela (126,128).

U regulaciji vaskularnog tonusa, uloga endotelne ćelije se ostvaruje sintezom i oslobađanjem brojnih vazodilatatornih i vazokonstriktornih supstancija. U bazalnim uslovima vaskularno korito se nalazi u stanju stalne aktivne vazodilatacije usled prevage vazodilatatornih nad vazokonstriktivnim efektima. Učešće pojedinog endotel-zavisnog faktora u relaksaciji izazvanoj nekom od vazodilatatornih supstancija zavisi od tipa stimulusa, veličine i tipa krvnog suda i uslova u kojima se ovaj proces odvija. Sa druge strane neke endogene supstancije dovode do oslobađanja endotel-zavisnih kontraktilnih faktora iz endotelne ćelije. Postojanje dinamičke ravnoteže u oslobađanju endotel-zavisnih kontraktilnih i relaksantnih faktora održava vaskularni tonus i normalnu fiziološku ulogu krvnog suda (129). Dejstvo pulsatilnog pritiska na endotelne ćelije, endogeni, hemijski stimulusi iz plazme, ali i iz stimulisanih trombocita stvaraju prostaciklin. Prostaciklin kao moćan vazodilatator i inhibitor agregacije trombocita, poseduje i citoprotektivno, antikoagulantno i profibrinolitičko dejstvo. Kao fiziološki antagonista prostaciklina, izdvaja se tromboksan A_2 koji dovodi do agregacije trombocita i vazokonstrikcije. Ovi medijatori

imaju biološki suprotne uloge u regulaciji interakcije između trombocita i zida suda, kao i u formiranju tromba u krvnim sudovima (130).

Pored endokrinih i parakrinih efekata, endotelne ćelije ispoljavaju efekte na strukturu krvnih sudova. Na mestima oštećenja endotelnih ćelija trombociti adheriraju na zid krvnog suda, dolazi do kontrakcije, stimulacije proliferacije i migracije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (oslobađanjem faktora rasta poreklom iz trombocita). Takođe, u endotelnim ćelijama se proizvode različiti faktori rasta. U uslovima vaskularne homeostaze dominantnu ulogu imaju inhibitori rasta, dok proliferativni odgovor izostaje (131,132).

Važno je napomenuti da je struktura zida krvnog suda uglavnom je određena proliferacijom glatkih mišićnih ćelija, tako da proliferacija i migracija glatkih mišićnih ćelija prouzrokuje zadebljanje medije, promenu u lumenu krvnog suda kao i promene u ekstracelularnom matriksu (133). Osim toga, funkcionalni integritet endotela je izuzetno značajan u uslovima delovanja određenih hemodinamskih sila (sila frikcionog stresa, pulsni pritisak) na zidove krvnih sudova. Pored mehaničkih i brojni metabolički stimulusi mogu da dovedu do remodelovanja vaskularne arhitektonike, do promene spoljašnjeg obima, lumena, debljine zida i prečnika lumena, kao i odnosa intime i medije (134).

Endotel je uključen i u održavanje balansa između procesa tromboze i fibrinolize. U uravnoteženim, fiziološkim uslovima, unutrašnja površina je neadhezivna za trombocite, a mehanizmi kojima endotel ostvaruje svoju regulatornu ulogu obuhvataju međusobno zavisne antitrombotičke, antikoagulantne i fibrinolitičke procese (135).

Tabela 2. Najznačajnije biološki aktivne supstancije koje oslobađaju endotelne ćelije (189)

Vazodilatacijski i vazokonstriksijski faktori	<p>Azot-monoksid Prostaciklin Bradikinin Endotelni hiperpolarišući faktor Angiotenzin Endotelin Tromboksen</p>
Faktori rasta	<p>Trombocitni faktor rasta Insulinu sličan faktor rasta Transformišući faktor rasta Bazni faktor rasta fibroblasta</p>
Faktori koagulacije i fibrinolize	<p>Trombomodulin Heparin Protein C Protein S Glikozaminoglikani Tkivni aktivator plazminogena Fon Vilebrandov faktor Faktor V Inhibitor aktivatora plazminogena Tkivni faktor</p>
Modulatori Inflamacijskog i imunskog odgovora	<p>Selektini Intracelularni adhezivni molekuli Vaskularni ćelijski adhezivni molekuli Trombocitni adhezivni molekuli Citokini Faktor tumorske nekroze α</p>

1.2.2. Patofiziološke promene u disfunkciji vaskularnog endotela

Danas je poznato da pored morfološkog, oštećenje endotela može biti i nemorfološko, odnosno da može biti i funkcionalno, pri čemu je uveden pojam endotelne aktivacije i/ili disfunkcije. Koncept aktivacije endotela podrazumeva ekspresiju leukocitnih adhezivnih molekula, produkciju citokina, promene u obliku i permeabilitetu endotelnih ćelija, protrombotske promene endotela i "ushodnu" regulaciju sopstvenih antigena. Eksperimentalne studije omogućile su shvatanje o fenotipskoj konverziji endotelnih ćelija, u čijoj su osnovi dva različita mehanizma modulacije endotelne ćelije, fenotip I - mehanizam endotelne stimulacije i fenotip II - mehanizam endotelne aktivacije (136).

U osnovi fenotipske konverzije tipa I (endotelne stimulacije), kao akutnog prolaznog efekta, je reverzibilni mehanizam nezavistan od *de novo* genske ekspresije. U endotelnoj stimulaciji dolazi do labavljenja spojeva između endotelnih ćelija, povećane permeabilnosti krvnog suda i ekspresije Weibel-Palade-ovih telašca koja otpuštaju sintetisan Fon Vilebrandov factor (vWF) i P selektin, indukujući process endotelne interakcije leukocita i trombocita (137).

Fenotipska konverzija endotelnih ćelija tipa II, endotelna aktivacija podrazumeva gensku ekspresiju brojnih proinflamatornih citokina i adhezivnih molekula (138). Aktivacija, za razliku od stimulacije endotelnih ćelija, sporije počinje i traje nekoliko sati ili dana. Pored povećane indukcije i površinske ekspresije endotelnih adhezivnih molekula (E-selektin), povećane adhezivnosti endotelnih ćelija za različite tipove leukocita (neutrofile, bazofile, eozinofile, monocite i limfocite), povećane propustljivosti krvnog suda, u endotelnoj aktivaciji dolazi do niza promena prokoagulantnih i fibrinolitičkih karakteristika endotela, pri čemu površina endotela postaje trombogena [otpušta se Fon Vilebrandov faktor, luče se hemokini (interleukin 8), NO, prostaciklin]. Pored endotelnih ćelija, druge vaskularne ćelije kao što su glatko mišićne ćelije i fibroblasti iz adventicije krvnih sudova takođe služe kao

mete i/ili regulatori u vaskularnoj inflamaciji i uključeni su u proces ateroskleroze i vaskularnih komplikacija (139). Proces endotelne aktivacije nije sinonim za oštećenje endotelnih ćelija, iako aktivacija predhodi vaskularnom oštećenju *in vivo*. Aktivacija je reverzibilan proces endotelne alteracije koja rezultuje morfološkim promenama (promena u veličini ćelija i citoplazmatskih organela), funkcionalnim promenama, ali bez gubitka integriteta endotelnih ćelija. U slučaju da je proces aktivacije nekontrolisan, može da dovede do apoptoze – ireverzibilnog procesa endotelne povrede, fragmentacije i separacije endotela od intime.

Prema klasičnoj adhezioj kaskadi složeni process migracije leukocita definisan je procesima kotrljanja, aktivacije leukocita, tesnog prijanjanja leukocita za integrinske molekule na endotelnim ćelijama, intravaskularnog puzanja, te paracelularne i transcelularne migracije leukocita kroz zid krvnog suda (slika 6) (140).

Interakcija leukocita i endotela se odvija sledećim mehanizmima:

I. ostvaruje se kontakt - između selektina na endotelu i na leukocitima

Kotrljanje leukocita je omogućeno ekspresijom selektina, L-selectina, P-selectina i E-selectin-a koji interaguju sa P-selektin glikoproteinskim ligandom (eng. P-selectin glikoglycoprotein ligand - PSGL-1), Sialyl-Lewis X ligandom i drugim. Većina leukocita eksprimira sva tri selektina na površini aktivisanih endotelnih ćelija, dok se P-selektin eksprimira i na površini aktivisanih trombocita. Ligand, PSGL-1 koji se pored leukocita eksprimira i na površini endotelnih ćelija ima ključnu ulogu kao ligand za sve tri vrste selektina.

II. izlučuju se hemoatraktanti iz endotela prema leukocitima i aktivatori endotela iz leukocita prema endotelu

Citokini, interferon γ (IFN γ) i tumor nekrotišući faktor α (TNF α), kao i hemokini indukuju ekspresiju leukocitnih receptora i odgovarajućih endotelnih liganda. Endotelne

ćelija i vaskularni makrofazi sekretuju hemokine kao što je monocitni hemotaksični protein - 1 (MCP-1 ili CCL2) koji deluje preko C-C hemokinskih receptora tipa 2 (CCR2) i CCR4 na monocite i T limfocite, kao i interleukin 8 (IL-8) koji se vezuje za IL-8 receptor α i β na neutrofilima. Kotrljajući leukociti se dalje aktiviraju hemokinima koji se ekspimiraju na površini endotelnih ćelija, dovodeći do proširivanja i diferencijacije površnih integrina, kao što su antigen LFA-1 (leukocitni funkcijski antigen 1) i VLA-4 (eng. very late antigen-4 molecule, poznat i kao $\alpha 4\beta 1$ -integrin) na mononuklearnim ćelijama (monociti i T-limfociti).

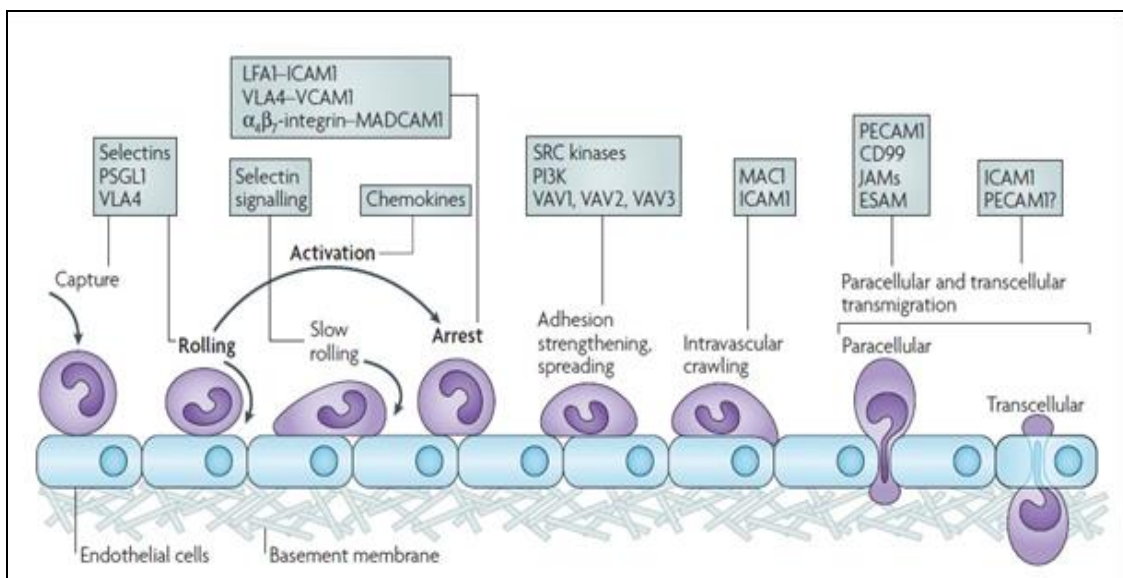
III. aktiviraju se sistem G-proteina i integrina na leukocitima koji se vezuju za familiju imunoglobulina na endotelu

Ova faza podrazumeva poremećaj u ćelijskoj signalizaciji (gubitak signala koji je vezan za Gi-2 protein) i smanjeno oslobađanje NO, zbog čega dolazi do smanjenja cGMP, a povećava cAMP u ćelijama endotela. cAMP aktivira transkripcijski faktor - NF κ B. Nuklearni faktor κ -B je glavni regulator proinflamatornog odgovora u endotelnim ćelijama kao i u drugim tipovima ćelija. Kao transkripcijski faktor, NF- κ B aktivira transkripciju proinflamatornih gena uključujući TNF α , interleukin-1 (IL-1), interleukin-8 (IL-8), E-selektin, vaskularni ćelijski adhezivni molekul 1 (VCAM-1), i intercelularni adhezivni molekul 1 (ICAM-1) vezujući se odgovarajući cis-element u regulatornom regionu ovih ciljnih gena. Takođe u aktivaciji ovog faktora je od značaja i smanjeno oslobađanje NO, te posledičnog i povećanja cAMP u ćelijama endotela. Ciklični AMP aktivira NF- κ B koji pored produkcije navedenih citokina dovodi do ekspresije tkivnog faktora i oslobađa faktor stimulacije makrofagnih kolonija (M-CSF) koji povećava produkciju monocita u kostnoj srži, a ima i hemotaksični efekat na monocite.

Ekspresija adhezivnih molekula na endotelnim ćelijama uključuje imunoglobuline, ICAM-1 sa kojima reaguju receptori monocita, a paralelno sa ICAM-1 i VCAM-1 za koje se vezuju T limfociti. Aktivacija monocita i T-limfocita uzrokuje ushodnu regulaciju receptora

na njihovoj površini, kao što su molekuli nalik mucinu (eng. mucin-like molecules) koji se vezuju za selektine, integrini koji se vezuju za imunoglobuline i receptori koji se vezuju za hemotaksijske molekule. U procesima paracelularne i transcelularne migracije značajni su selektivni adhezioni molekul endotelnih ćelija (eng. endothelial cell selective adhesion molecule - ESAM) i adhezioni molekul spojeva (eng. junctional adhesion molecule - JAM), makrofagni antigen 1 (MAC-1) i vaskularni mukozni adhezioni molekul adresin (eng. mucosal vascular addressin cell-adhesion molecule -1 -MADCAM1). Interakcije između leukocita i endotelnih ćelija se uglavnom odvijaju u postkapilarnim venulama, ali se kao moguća mesta interakcije ovih ćelija navode i drugi segmenti vaskularnog stabla, uključujući velike vene, kapilare i arteriole.

Slika 6. Leukocitna adhezijska kaskada. Preuzeto iz Ley K. et al. (2)



U cilju odbrane nakon dejstva etiološkog faktora, endotel igra ključnu ulogu u lokalizaciji, proširenosti i trajanju inflamatornog procesa (148).

1.2.3. Gojaznost i disfunkcija vaskularnog endotela

Klinička manifestacija fenotipa vaskularnog endotela predstavlja odnos ukupnog efekta faktora rizika na zid krvnog suda i reparacijskih kapaciteta endotela (149). Iako je gojaznost oboljenje u kome mogu biti objedinjeni faktori rizika za disfunkciju vaskularnog endotela (150) i dalje u stručnoj javnosti postoje nedoumice o mehanizmima koji su u patogenetskoj osnovi. U poslednjih nekoliko godina poseban značaj se pridaje metaboličkim stresorima prvenstveno ekstracelularnim SMK (tzv. endotoksemija), koje na endotelne ćelije vrše uticaj modulacijom redoks senzitivnih transkripcionih faktora, kao i aktivacijom PPAR-a (151). Kompleksan uticaj je svakako delom povezan sa direktnim efektima adipokina na vaskularni endotel (152), ali su i indirektni efekti usled udruženog postojanja proinflamatornog, protrombotskog stanja, insulinske rezistencije, dislipidemije i/ili hipertenzije u centralnoj gojaznosti od posebnog značaja (150,153).

U cilju sagledavanja uticaja pomenutih stanja na aktivaciju vaskularnog endotela važno je napomenuti da postoje pojedine razlike u manifestaciji disfunkcije vaskularnog endotela u mikrocirkulaciji i makrocirkulaciji (obrađeno u poglavlju ateroskleroza)

Vaskularni endotel oblaže sve segmente mikrocirkulacije (arteriole, kapilari i postkapilarne venule i venule), ali je fenotipska konverzija preferencijalno prisutna u postkapilarnim venulama kako zbog najveće gustine u ekspresiji adhezivnih molekula tako i zbog hemodinamskih uslova (154). Pored sistemskih efekata, lokalno u masnom tkivu u kapilarnom delu vaskularnog korita na površini endotelne ćelije eksprimuje se lipoproteinska lipaza (LPL) čija je osnovna fiziološka uloga da na luminalnoj strani ćelije vrši hidrolizu triglicerida hilomikrona i VLDL čestica i dovodi do oslobađanja SMK (127). Za razliku od neadipoznih tkiva na primer jetre, gde su fenestre kapilara široke i omogućavaju se da molekuli (lipoproteini i cirkulišuće SMK) direktno skladište u hepatocitima, u masnom tkivu kapilarne endotelne ćelije su povezane čvrstim vezama, te je direktni ulaz SMK u adipocite

onemogućen. Predpostavlja se da SMK prilikom prolaska kroz endotelnu barijeru mogu vezivajem za odgovarajuće receptorske sisteme dovesti do proinflamatorne fenotipske konverzije endotela, čak i iako u masnom tkivu ne postoji stanje adipozopatije (155).

Adipokini porekla visceralnog masnog tkiva sistemskim endokrinim efektima, ali i lokalnim parakrinim efektima u perivaskularnom masnom tkivu, gde je zbog bliskog kontakta njihova uloga potentna, ispoljavaju svoje efekte na vaskulne endotelne ćelije. Nasuprot adipokinima koji dovode do proinflamatorne aktivacije endotela (TNF α , IL-6, leptin, rezistin, itd), antiinflamatorni adipokini sa protektivnim delovanjem na endotelnu homeostazu promovišu aktivaciju eNOS i podstiču endotel zavisnu vazorelaksaciju i angiogenezu, inhibišu proinflamatorne signale u endotelnim ćelijama (endotelnu aktivaciju i ekspresiju endotelnih adhezionih molekula), smanjuju produkciju ROS i oxLDL-a (156,157,158).

Mehanizmi koji su verovatno u bidirekcionoj povezanosti između mikrovaskularne disfunkcije i gojaznosti su u vezi sa postojanjem hronične inflamacije niskog stepena, poremećajem metabolizma lipida i lipoproteina, insulinskom rezistencijom i arterijskom hipertenzijom.

Pored proinflamatornih adipokina, na endotelnim ćelijama je verifikovano postojanje receptora za *C reaktivni protein* (CRP) koji povećava ekspresiju adhezivnih molekula, aktivacijom transkripcionog faktora (NF- κ B) (159). Takođe, pored jetre, nova saznanja ukazuju da CRP može da se produkuje u različitim tipovima ćelijama, glatko mišićnim i makrofagima, a i u masnom tkivu pokazano je prisustvo iRNK za sintezu CRP (160). Na nivou endotela, CRP inhibira transkripciju, odnosno smanjuje ekspresiju eNOS, stvaranje vazodilatatora (NO i prostaciklina), stimuliše apoptozu endotelnih ćelija i produkciju vazokonstriktora endotelina (ET-1) i proinflamatornog citokina IL-6 i smanjuje vazoreaktivnost (161). Takođe, CRP u endotelu olakšava preuzimanje OxLDL-a od strane

makrofaga, što promoviše formiranje penastih ćelija, a stimulacijom oslobađanja tkivnog faktora iz makrofaga i sinteze PAI-1, CRP doprinosi protromboznom stanju (162).

Kako adipoznost značajno doprinosi razvoju dislipidemijskih poremećaja (9,59,121), od velikog značaja je uticaj lipida i lipoproteina na vaskularni endotel, a aktivacija endotela indukovana dislipidemijom može predstavljati inicijalni stadijum koji pokreće ateroskleroznu kaskadu (163).

U endotelnim ćelijama koje su izložene povišenim nivoima holesterola dolazi do povećanog preuzimanja specifičnih peroksidaza, LDL molekula (nativni LDL molekul se vezuje za LDL receptor na površini endotelnih ćelija), modifikovanih lipoproteina (lizofosfatidilholin – aktivacija protein kinaze C) koji mogu dovesti do endotelne aktivacije (13,50,58). Pored aktivacije vaskularnog endotela, hronično prisustvo aterogenih lipoproteinskih čestica, LDL i VLDL, u krvi pogoduje stvaranju masnih mrlja, jer je ulazak lipida u subendotel veći od njihovog odstranjivanja iz arterijskog zida. Postojanje lokalne inflamacije u zidu krvnog suda, sekrecija citokina i modifikacija lipoproteina pod dejstvom ROS određuje nastanak penastih ćelija i razvoj masnih mrlja. Ovaj proces ima zaštitnu ulogu u inflamacijskom odgovoru i omogućava „čišćenje” zidova krvnih sudova od naslaga lipida koji su iz cirkulacije prodrli u subendotel. Međutim, u uslovima hronične inflamacije, dolazi do progresije rasta masnih mrlja, a time i progresije ateroskleroze (164). U intimi krvnog suda, LDL čestice su pod uticajem ROS i mogu biti modifikovane oksidacijom, glikozilacijom ili inkorporacijom u imunske komplekse. Minimalno modifikovan LDL molekul (uz minimalne promene na apolipoproteinu B), nastaje oksidacijskom modifikacijom LDL čestica, konverzijom holesterol estara i fosfolipida u hidroperokside, izoprostane i aldehide kratkih lanaca. Ova molekula može stimulisati endotelne ćelije da sekretuju hemokine, MCP-1 i M-CSF. U daljem, drugom delu procesa oksidacije LDL čestica nastaju strukturne promene proteinskih komponenata molekula, modifikacija apolipoproteina B i

stvaranje lizofosfatidilholina. Proaterogena dejstva oxLDL čestica, koja se odnose na vaskularni endotel, uključuju indukciju akumulacije holesterola u makrofazima, ekspresiju faktora rasta koji deluju na vaskularne glatke mišićne ćelije, stvaranje superoksidnih anjona i apoptozu endotelnih ćelija. U uslovima vaskularne inflamacije pospešuje se vezivanje LDL za endotelne ćelije i vaskularne glatko mišićne ćelije, kao i migracija lipoproteina unutar arterijskog zida. Dalje, vezivanjem modifikovanih LDL čestica za receptore „čistači” klase A (SRA – scavenger receptors class A) na površini makrofaga, dolazi do aktivacije inflamacijskih citokina.

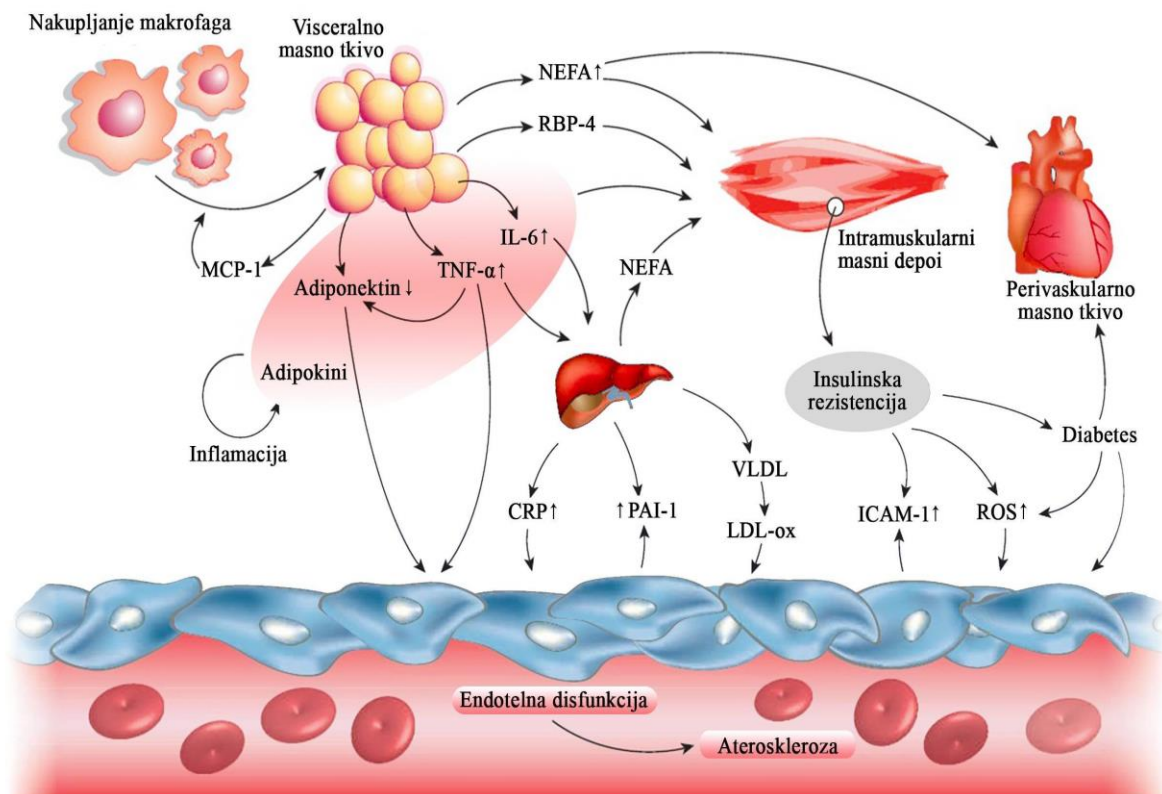
U adipozopatiji (slika 7) moguće udruženo postojanje dislipidemije i hronične inflamacije, u arteriji može održavati začarani krug inflamacije, modifikacije lipoproteina i dalje inflamacije, progresije rasta masnih mrlja, a time i progresije ateroskleroze (50,162,189).

Insulinska rezistencija predstavlja defektan biološki odgovor tkiva na endogeno sintetisan insulin i manifestuje se smanjenjem transporta i metabolisanja glukoze pre svega u adipocitima i skeletnim mišićima (165). Normalno vezivanje insulina za receptore na endotelnim ćelijama dovodi do aktivacije intraćelijskih puteva PI3K (eng. phosphatidylinositolkinase) i MAPK (eng. mitogen-activated protein kinases), produkcije NO i ravnoteže u vazodilataciji i vazokonstrikciji. Fiziološki, neto efekat favorizuje produkciju NO i usmerava protok krvi i nutrijente u kapilare, povećavajući utilizaciju glukoze u mišićima. U mišićnim ćelijama, aktivacija PI3K puta vodi translokaciji glukoznog transportera (GLUT-4) i aktivaciji metaboličkih puteva glukoze. U gojaznosti, porast prvenstveno SMK i neravnoteža u adipokinima (TNF- α /adiponektin) dovodi do poremećaja intraćelijske signalizacije i disbalansa u ravnoteži između vazodilatacije posredovane insulinom (preko sNOS) i vazokonstrikcije (preko endotelina) što predisponira razvoju insulinske rezistencije (166, 167,168,169).

Takođe, sistem renin angiotenzin (RAS) je uključen u homeostazu mikrovaskularnog endotela, a sve komponente ovog sistema neophodne za stvaranje vazokonstriktora angiotenzina II se mogu stvarati i u masnom tkivu. U gojaznih osoba je pojačana aktivnost RAS i u direktnoj je srazmeri sa veličinom masne mase. Pojačana aktivnost RAS doprinosi negativnim efektima na utilizaciju glukoze posredovanu insulinom u mišićnim tkivima (170,171).

Pored insulinske rezistencije, RAS, porast aktivnosti simpatikusa, proliferacija glatko mišićnih ćelija doprinose nastanku arterijske hipertenzije u gojaznosti. Endotelne ćelije su pored mehaničkog oštećenja osetljive na porast pritiska i stepen izloženosti stresu, menjaju pozicije fosforilacije na fokalnim, adhezivnim mestima i dovode do aktivne sekrecije proinflatornih (ICAM-1, MCP-1) i protrombogenih (trombomodulina) molekula (172).

Slika 7. Adipozopatija, disfunkcija vaskularnog endotela, ateroskleroza



1.2.4. Metode za procenu funkcije vaskularnog endotela

Kad postane detektabilna, disfunkcija vaskularnog endotela je značajno uznapredovala i patofiziološki kompleksna. Poremećaj pojedinih funkcija endotelnih ćelija se ne može jasno razlučiti, pa se disfunkcija endotela prikazuje kao jedinstveno patološko stanje i procenjuje pomoću odabranih reprezentativnih parametara. U poslednjih 25 godina, brojni metodološki aspekti su razvijeni u cilju sagledavanja (pato)fiziološke funkcije vaskularnog endotela. Iako su ove metode započele brojna medicinska istraživanja, njihova uloga u svakodnevnom kliničkom radu nije ustanovljena i još uvek u kliničkim vodičima za planiranje primarne i sekundarne prevencije KVB nijedna od metoda za procenu disfunkcije endotela nije preporučena (173). Karakteristike koje bi trebala da zadovolji ovakva metoda su da odražava stanje bolesti, da je ogledalo koronarne cirkulacije, objektivna, neinvazivna, jednostavna i da nije skupa (174).

U kliničkim studijama pažnja je posvećena metodama za procenu disfunkcije endotela u makrocirkulaciji (sprovodnim i velikim arterijama) i one uglavnom ispituju vazodilataciju i vazokonstrikciju - koronarna epikardijalna vazoreaktivnost (eng. coronary epicardial vasoreactivity (QCA)) i metoda vazodilatacije brahijalne arterije izazvane protokom (eng. flow-mediated dilation, FMD) u bazalnim i stimulisanim uslovima (175). U odnosu na mikrocirkulaciju značajne su metode koje se odnose na indirektnu procenu stanja lokalne mikrocirkulacije u pojedinim segmentima vaskularnog korita (koronarni krvni sudovi – Doppler tehnika, koža – kapilaroskopija, laser-Dopler fluksometrija, mišići – pletizmografija, konjunktiva – intravitalna mikroskopija)(173,176,177) .

Ipak, kako je disfunkcija vaskularnog endotela znak generalizovane vaskulopatije, biomarkeri u proceni endotelne funkcije iskazuju veliki značaj i zanemaruju lokalizaciju vaskularnog korita u kome su izvedeni. U ispitivanju aktivacije/disfunkcije vaskularnog endotela u primeni su pojedini cirkulišući biomarkeri (tabela 3), a koji su pokazatelji

biologije NO (asimetrični dimetilarginin –ADMA), inflamatorni citokini (interleukin 6, interleukin 18, TNF α , CRP), hemokini (interleukin 8), adhezioni molekuli [selektini (P, L i E-selektin , superfamilja imunoglobulina (ICAM-1, VCAM-1, JAM-A, PECAM-1, MadCAM-1) i integrini (CD51/CD61)], pro/antikoagulatni biomarkeri (Fon Vilebrandov faktor, tkivni faktor, PAI-1, odnosno trombomodulin), endotelni kaveolin-1, cirkulišuće endotelne ćelije (CEC) kao i markeri endotelnog oštećenja i reparacije (endotelne progenitorne ćelije, endotelne mikropartikule - odbačeni delovi plazmatske membrane nakon oštećenja, aktivacije ili apoptoze endotelne ćelije) (178,179). Biomarkeri su osetljivi pokazatelji aktivacije endotelnih ćelija, pojedini su i specifični s obzirom da se eksprimuju samo na endotelnim ćelijama (E selektin, vWF pro peptid, MadCAM-1, ADMA, i CEC), a njihovi cirkulišući nivoi reflektuju stepen aktivacije endotelnih ćelija. Takođe, biomarkeri aktivacije endotelnih ćelija mogu poslužiti i kao „sentineli“ za oštećenje odnosno disfunkciju endotela, kako pojedini od navedenih oslikavaju aktivaciju ne samo endotelnih već i drugih ćelija. Važno je napomenuti da se proces aktivacije može podudarati sa disfunkcijom endotelnih ćelija, apoptozom ili pak oštećenjem endotelnih ćelija. Osim toga, regionalne fenotipske razlike u endotelnim ćelijama mogu da utiču da ekspresiju pojedinih molekula, i stoga na nivoe cirkulićućih biomarkera u krvi (182).

Tabela 3. Biomarkeri aktivacije endotelnih ćelija

Biomarker	Poreklo molekula	Senzitivnost/specifičnost
E-selektin CD62E	Aktivisane endotelne ćelije	Senzitivni i specifični dokaz aktivacije vaskularnog endotela
ICAM-1 CD54	Aktivisane endotelne ćelije, kao i aktivisane imunske efektorske ćelije - leukociti, monociti, makrofazi, limfociti, adipociti	Pouzdana senzitivni marker aktivacije endotelnih i imunskih efektorskih ćelija, nespecifičan
VCAM-1 CD106	Aktivisane endotelne ćelije, kao i aktivisane imunske efektorske ćelije - leukociti, monociti, makrofazi, limfociti	Pouzdana senzitivni marker aktivacije endotelnih ćelija i imunskih efektorskih ćelija, nespecifičan
vWF	Weibel-Palade telašca aktivisanih endotelnih ćelija (trombociti, megakariociti, plazma)	Pouzdana senzitivni marker aktivacije i oštećenja endotelnih ćelija, nespecifičan
vWF pro peptid	Aktivisane endotelne ćelije	Specifični marker aktivacije endotelnih ćelija
Tkivni faktor CD142	Citokini – aktivisane endotelne ćelije (monociti)	Pouzdan senzitivni marker aktivacije endotelnih ćelija, nespecifičan
Trombomodulin CD 141	Aktivisane endotelne ćelije (monociti, makrofazi, leukociti)	Pouzdan i osjetljiv marker aktivacije i oštećenja endotelnih ćelija, nespecifičan
Interleukin-6	Aktivisane endotelne ćelije, monociti, makrofazi, limfociti, fibroblasti, keratociti, epitelne ćelije	Senzitivan marker aktivacije endotelnih ćelija, nespecifičan
Interleukin-8	Aktivisane endotelne ćelije, makrofazi, limfociti	Senzitivan marker aktivacije endotelnih ćelija, nespecifičan
C-reaktivni protein	Aktivisane endotelne ćelije (hepatociti)	Senzitivan marker aktivacije endotelnih ćelija, nespecifičan

1.3. ATEROSKLEROZA

Do otkrića ključne uloge endotela u regulaciji kardiovaskularne homeostaze, tonusa i strukture krvnih sudova, smatralo se da je ateroskleroza fokalna, a ređe difuzna bolest. Danas je poznato da morfološki normalne arterije, ali sa funkcionalno izmenjenim odgovorom endotela, predstavljaju ciljno mesto rane ateroskleroze. Disfunkcija vaskularnog endotela je inicijalni događaj u razvoju ateroskleroze, a hronično stanje disfunkcije endotela ubrzava kaskadu celularnih događaja koji rezultiraju u formiranju aterosklerotskog plaka (6,7,89,90,129).

Ateroskleroza je bolest velikih arterija (aorta, karotide, ilijake, arterije mozga, koronarne arterije) i arterija srednje veličine, dakle makrocirkulacije, sa predilekcionom lokalizacijom na mestima račvanja arterija, u regijama krvnog vrtloga. Primarne patološke promene se nalaze u intimi arterija. Sastoji se od fokalnog nagomilavanja masnih supstanci, kompleksnih ugljenih hidrata, krvi i sastavnih delova krvi, vezivnog tkiva i kalcijuma. U zavisnosti od lokalizacije, stepena suženja, anatomskih karakteristika krvnih sudova, dužine trajanja okluzije i fiziološkog stanja zahvaćenog regiona, ateroskleroza i posledična ishemija tkiva mogu prouzrokovati klinički manifestnu aterosklerotičnu kardiovaskularnu bolest (ishemijsku bolest srca (IBS), cerebrovaskularne bolesti (CVB) i bolesti perifernih krvnih sudova) (183, 184).

Iako se u osnovi ateroskleroze nalaze arterioskleroza i ateromatoza, zbog bliskih patofizioloških mehanizama, ovi procesi se praktično ne sreću odvojeni i objedinjeni su u zajednički entitet. Proces aterogeneze je diskontinuiran, progresivnog karaktera, a njene komplikacije su rezultat dinamične interakcije između zida krvnog suda i krvne struje (185). U kaskadi patofizioloških procesa u aterogenezi pored disfunkcije vaskularnog endotela, izdvaja se rast (proliferacija i migracija glatkih mišićnih ćelija, povećana sinteza matriksa), degeneracija (akumulacija lipida), nekroza (smrt ćelija, tj. citotoksični efekat oksidovanih

lipida), kalcifikacija (proces akumulacije kalcijuma oko fibrila medije) i tromboza (regrutovanje trombocita i formiranje fibrina) (186).

Kako se u naučnoj javnosti posvećuje velika pažnja proučavanju ove bolesti, pojedine teorije, počev od 19. veka do današnjice, pokušavaju da objasne patogenezu ateroskleroznih lezija (187). *Trombogeneza (inkrustaciona teorija)* koju je još 1844. godine postavio austrijski patolog Fon Rokitanski, nastanak ateroskleroznog plaka objašnjava organizacijom muralnih tromba, koji se stvaraju na mestu oštećenog endotela. U osnovi ove teorije, odnosno procesa inkrustacije je otkriće da pojedine trombocitne supstance na površini endotela deformišu arterijski zid tokom vremena i dovode do stvaranja ateromske ploče. U prilog ove teorije su saznanja o uticaju hiperlipidemije i zasićenih masnih kiselina dugih lanaca na adhezivnost trombocita, postojanje izmenjene funkcionalnosti faktora koagulacije (fibrinogena, faktora V, VII, VIII, IX i X), kao i nalaz velike količine trombocitnog faktora rasta (PDGF-engl. platelet derived growth factor), snažnog stimulatora sinteze vaskularnih glatkih mišićnih ćelija u trombu (188).

Danas je poznato da lipidski poremećaji imaju fundamentalni značaj za aterogenezu, a nemački patolog Rudolf Virchow je još 1856. godine postavio *lipidnu (insudacionu) teoriju* koja aterogenezu objašnjava progredirajućim nakupljanjem lipida iz cirkulacije u zid arterija. Insudacija predstavlja povećan prolaz i agregaciju holesterola iz lumena u intimu kroz oštećen zid arterije. O značaju lipida u procesu aterogeneze govore i saznanja da u većine ljudi oko 85. godine života, oko 60% koronarne cirkulacije je prekriveno aterosklerotičnim plakovima i to pod uslovom da u toku života nisu prisutni faktori rizika. U prisustvu hiperholesterolemija takve promene na koronarnim krvnim sudovima se dostižu negde u 42. godini života (177).

Hemodinamska teorija favorizuje značaj povišenog krvnog pritiska i njegov akcelerirajući potencijal na proces ateroskleroze. Upravo saznanja da visok krvni pritisak ubrzava aterosklerozu u različitim delovima kardiovaskularnog sistema, prvenstveno u velikim krvnim sudovima i na predilekcionim mestima, a da je nizak krvni pritisak obično udružen sa dugovečnošću pacijenata, govore u prilog ove teorije (169,172). Porast hemodinamskog pritiska na mestima granjanja krvnih sudova i stvaranje vrtloga u stešnjenim segmentima krvnih sudova su predilekciona mesta za ateromatozne promene. U sprovodnim i arterijama koje učestvuju u stvaranju perifernog vaskularnog otpora usled dugotrajne hipertenzije dolazi do promena odnosa intime i medije krvnih sudova, odnosno intimalne hiperplazije i medijalnog zadebljanja (182). Ovde dolaze do značaja fenotipske karakteristike endotelnih ćelija makrocirkulacije. U prilog ove teorije govori i sposobost stresa smicanja (sheer stress) u indukciji endotelne aktivacije (180). Osim toga, uočene su promene u broju, rasporedu i sekretornoj aktivnosti velikih endotelnih ćelija u zavisnosti od vrste aktivne mehaničke sile. Velike endotelne ćelije se orijentišu paralelno kada je protok krvi veliki, odnosno difuzno sa prominiranjem jedara u lumen kada je protok mali (181). Takođe, do porasta broja endotelnih ćelija dolazi prilikom turbulentnog toka krvi, dok sila trenja dovodi do funkcionalnih promena.

Posebnu pažnju stručne javnosti izazvala je imunska teorija ateroskleroze. Naime, u osnovi ove teorije su saznanja da se timus zavisni imunski sistem tokom starenja iscrpljuje, kao i da se smanjuje preciznost imunoregulacije i olakšava pojava autoimunskih, autoalergijskih i drugih autodestruktivnih i degenerativnih procesa (189). Hipoteza je da oštećenje endotela može nastati tokom imunskih reakcija, koje nisu specifične za sam krvni sud, gde je endotel kao “nedužni posmatrač” ili reakcijama koje nastaju kao posledica senzibilizacije organizma na “vlastito” vaskularno tkivo (193). U novijoj literaturi navodi se mogućnost aktivacije endotela kao posledice prepoznavanja antigena na endotelnim ćelijama

od senzibilisanih T-limfocita. Takođe, do aktivacije memorijskih T limfocita na endotelnim ćelijama može doći s obzirom na prisustvo molekula glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (MHC –major histocompatibility complex) klase II (molekula u okviru koga se prezentuju antigeni) i molekula CD28 (aktivacijskog kostimulacijskog molekula) na endotelnim ćelijama. Poznato je, takođe, da humane endotelne ćelije podstiču T-limfocite da oslobađaju interleukin-2 (IL-2) i IFN γ , kao i da taj efekat nije posredovan preko molekula CD28 (187).

Takođe, saznanja o razvojnom potencijalu i klonalnosti intimalnih ćelijskih masa dovela su do hipoteze da je u normalnoj intimi na mestima grananja arterija mesto stvaranja ateroskleroznog plaka vezano za fokalnu akumulaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija. Pored pomenute *teorije o intimalnim ćelijskim masama* (193) ističe se i *monoklonska teorija* koja se bazira na saznanjima da fenotipski identične glatke mišićne ćelije, proliferišu iz intime medije arterije, transformišu se u jedan vid benigne neoplazme i formiraju fibrozu kapu aterosklerotskog plaka (194). Monoklono poreklo vaskularnih mišićnih ćelija u ateromatoznoj ploči se objašnjava sadržajem predominantno jedne forme izoenzima glukozo-6-fosfat dehidrogenaze, za razliku od normalnih tkiva koja sadrže dve izoforme (A i B). Teorija koja govori u prilog činjenice da se ateroskleroza smatra neizbežnim procesom je svakako uzrasna teorija. Sa starenjem dolazi do povećanja oksidacijskih procesa, smanjene ekspresije gena za NOS, posledičnog bazalnog smanjenja i stimulisano oslobađanja NO, smanjenog stvaranja prostaciklina, znači poremećenog odnosa vazodilatacije i vazokonstrikcije, što je u osnovi *uzrasne teorije* (188).

Na današnjem stepenu razvoja medicinske nauke, najprihvaćenija je teorija odgovora intime krvnog suda na oštećenje. Reakcija na oštećenje, kako se ova teorija još označava, obuhvata elemente trombogene i lipidne teorije i naglašava da su degenerativne promene u zidu krvnog suda posledica specifičnog zaceljenja intime posle povrede krvnog suda (190). Poremećaj funkcije endotela nastaje bez nužnog ogoljavanja zida, a endotelna disfunkcija kao

ključni faktor u nastanku ateroskleroze je pored već navedenih u osnovi i inflamacijske teorije, čiji je tvorac ruski patolog Mečnikov. Posebno se ističe značaj proteaza inflamacijskih ćelija. Tako se u makrofazima aktivno luče enzimi sa kolagenolitičkom aktivnosti (72 kDa kolagenaza, 92 kDa kolagenaza, katepsin L) odnosno enzimi sa elastinolitičkom aktivnošću (katepsin S, cistein, stromelizin, intersticijalna kolagenaza, katepsin B), u neutrofilima proteinase (elastaza i proteinaza G), odnosno elastase (prokolagenaza i elastaza), kao i u mastocitima (triptaza i himaza). Pomenuti enzimi se oslobađaju u intimi krvnog suda i svojom kolagenolitičkom i elastinolitičkom aktivnošću doprinose razgradnji vanćelijskog matriksa, vulnerabilnosti i rupturi aterosklerotskih plakova (187).

U poslednjoj deceniji posebno polje istraživanja predstavlja inflamacija, imajući u vidu ulogu koju ona ima u svim stadijumima aterogeneze. S tim u vezi, a prema poimanju istaknutih istraživača u ovoj oblasti, ateroskleroza predstavlja zaštitni, zapaljensko-proliferacijski odgovor usmeren prema različitim agensima koji mogu da prouzrokuju bolest (189). U početku inflamacija deluje protektivno, dok kasnije zapaljenske ćelije i medijatori zapaljenja ispoljavaju štetne efekte, podstičući kako započinjanje i progresiju bolesti, tako i razvoj njenih komplikacija.

Kliničke manifestacije ateroskleroze zavise od lokalizacije, stepena njenog razvoja i dejstva faktora koji dovode do tromboze i spazma krvnog suda s jedne strane i faktora koji se tim procesima suprotstavljaju sa druge strane. Kod kompletne okluzije krvnog suda javljaju se akutne komplikacije ateroskleroze tipa infarkta srca, mozga i drugih organa ili ozbiljna insuficijencija periferne cirkulacije. U subokluziji pak dolazi do koronarne, cerebralne, visceralne ili periferne insuficijencije cirkulacije (195).

2. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Pretpostavke na kojima se zasniva istraživanje su:

1. Ispitanici sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti imaju značajno više koncentracije biomarkera disfunkcije endotela, solubilne forme intracelularnog adhezivnog molekula -1 i E selektina, u odnosu na normalno uhranjene zdrave ispitanike.
2. Aterosklerotske promene uopšte pa i u hiperalimentacionom tipu gojaznosti mogu da zavise i od profila biomarkera disfunkcije endotela.
3. U ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti postoji povezanost između veličine masne mase tela, posebno abdominalnih depoa, koncentracije biomarkera disfunkcije endotela i debljine kompleksa intima medija karotidne arterije.

Ispitivanje odnosa inflamatornih biomarkera endotelne disfunkcije i ateroskleroze kod ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti imalo je sledeće ciljeve:

1. Uporediti koncentracije biomarkera endotelne disfunkcije, između ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti i normalno uhranjenih zdravih ispitanika.
2. Utvrditi eventualno postojanje razlika u koncentraciji solubilne forme adhezivnog molekula - intracelularnog adhezivnog molekula -1 i E selektina između ispitanika kod kojih je merenjem debljine kompleksa intima medija karotidne arterije uočen supklinički stadijum ateroskleroze i ispitanika koji imaju normalnu debljinu kompleksa intima medija karotidne arterije.
3. Ispitati povezanost parametara telesne kompozicije (ukupne masne mase tela i masne mase abdominalnih depoa) i biomarkera disfunkcije endotela (solubilne forme intracelularnog adhezivnog molekula -1 i E selektina) sa debljinom kompleksa intima medija karotidne arterije kod ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Ispitanici

3.1.1. Konstrukcija i način izbora uzorka

Istraživanje, dizajnirano kao opservaciona analitička studija preseka, je sprovedeno u Kliničkom centru Vojvodine, u periodu od februara 2012. do februara 2014. Faze u toku istraživanja obuhvatile su laboratorijsku analizu uzoraka krvi u Centru za laboratorijsku dijagnostiku, dijagnostiku hiperalimentacionog tipa gojaznosti na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, i ultrazvučni pregled dupleks skeniranje karotidnih arterija na Klinici za neurologiju.

U ispitivanje su uključivani ispitanici oba pola, od 18 – 55 godine života, žene u generativnom periodu. U ispitivanoj grupi od 60 bolesnika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti ispitano je 20 (20/60) muškaraca i 40 (40/60) žena. Kontrolnu grupu činilo je 30 zdravih, normalno uhranjenih ispitanika usklađenih po polu i godinama života sa ispitivanom grupom.

Kriterijumi za isključivanje iz ispitivanja su bili:

1. klinički verifikovano postojanje oboljenja kardiovaskularnog sistema (poremećaji srčanog ritma, koronarna srčana bolest, infarkt miokarda, moždani udar, periferna arterijska bolest), jetre, bubrega, centralnog nervnog sistema, endokrinološki i metabolički poremećaji (diabetes mellitus – glikemija našte i nakon 2 h OGTT ispod 6.1 mmol/l), izuzev hiperlipoproteinemija
2. postojanje hipertenzije (sistolni krvni pritisak (SKP) \geq 140 mmHg i/ili dijastolni krvni pritisak, DKP \geq 90 mm Hg i/ili upotreba antihipertenzivnih medikamenata)
3. klinički verifikovano postojanje infektivnih, malignih i autoimunih oboljenja
4. promene u dosadašnjem nivou fizičke aktivnosti, u telesnoj masi i ishrani u poslednja tri meseca; pušenje; konzumiranje alkohola

5. uzimanje lekova koji mogu uticati na koncentracije cirkulišućih biomarkera inflamacije i endotelne disfunkcije, lipidni i lipoproteinski status, glikoregulaciju, kao ni na menstruacioni ciklus (oralna kontraceptivna sredstva, hormonska supstituciona terapija, antihipertenzivi i antiinflamatorni lekovi, fenotijazini, triciklični antidepresivi, antikonvulzivi)
6. tehnička nemogućnost izvođenja ultrazvučnog pregleda (nesaradnja pacijenata) i odbijanje ispitanika da potpiše pristanak informisanog ispitanika.

3.1.2. Protok ispitivanja

Ispitanici su anketirani o životnim navikama (o tome da li su pušači ili ne, da li redovno vežbaju ili se aktivno bave sportom, da li aktivno konzumiraju alkoholna pića), da li postoji porodična istorija KVB, da li uzimaju pojedine medikamente (oralna kontraceptivna sredstva, hormonska supstituciona terapija, antihipertenzivi i/ili antiinflamatorni lekovi, fenotijazini, triciklični antidepresivi, antikonvulzivi).

U toku kliničkog pregleda urađena su antropometrijska merenja, analiza komponenata telesne kompozicije, merenje krvnog pritiska i elektrokardiogram sa standardnih šest odvoda. Nakon pripreme u vidu dvanaestočasovnog gladovanja, u jutarnjim časovima nakon mirovanja od pola sata, svim ispitanicima je izvršeno uzimanje uzoraka kubitalne venske krvi. Uzorkovanje krvi je vršeno u tri epruvete. Nakon venepunkcije plazma je odvajana centrifugiranjem na 3000 obrtaja u minuti 10 minuta, a serum, nakon perioda potrebnog za koagulaciju (oko 45 minuta), centrifugiranjem na 3000 obrtaja u minuti 15 minuta na sobnoj temperaturi. Najveći broj analiza izvođen je odmah po odvajanju seruma, odnosno plazme. Ostaci seruma za određivanje solubilne forme intracelularnog adhezivnog molekula -1 i E selektina su alikvotirani i čuvani na -70 °C mesec dana do izvođenja analiza. U daljem toku ispitivanja, nakon bazalnog uzorkovanja krvi svim ispitanicima je nakon opterećenja sa 75

grama čiste glukoze otopljene u 300 ml vode (2-časovni glikozni tolerans test) uzet još jedan uzorak venske krvi za određivanje glikemije i insulinemije. Pored toga, svim ispitanicima uzet je i prvi jutarnji uzorak urina. Unutar mesec dana od uzorkovanja krvi svim ispitanicima je urađen ultrazvučni pregled dupleks skeniranje karotidnih arterija.

3.2. Metode ispitivanja

3.2.1. Analiza antropometrijskih karakteristika

U cilju analize antropometrijskih karakteristika ispitanika urađena su sledeća merenja: 1. merenje telesne visine (TV) vršeno je antropometrom po Martinu, sa preciznošću od 0,1 cm. Merenje je vršeno u stojećem stavu, sastavljenih peta i odmaknutih prstiju, ruku opuštenih uz telo. Položaj glave je takav da je Frankfurtska linija (linija koja spaja tragus ušne školjke i spoljašnji ugao usana) horizontalna. Dobijene vrednosti izražavane su u centrimetrima (cm); 2. merenje telesne mase (TM) - korišćena je medicinska decimalna vaga preciznosti 0,1 kg, a vrednosti su izražavane u kilogramima (kg); 3. merenje obima struka (OS) - Holtain fleksibilna merna traka (Holtain Ltd, Croswell, UK) preciznosti 0,1 centimetra - merenje je vršeno u stojećem stavu, na sredini između najniže tačke rebarnog luka i prednje gornje bedrene bodlje karlične kosti. Abdominalna gojaznost definisana je prema NCEP ATP III preporukama (196), (OS > 102 cm muškarci, OS > 88 cm žene). Pomoću dobijenih vrednosti izmerenih antropometrijskih parametara izračunavan je indeks telesne mase (ITM) kao odnos telesne mase i kvadrata telesne visine izražene u metrima - $ITM (kg/m^2) = TM (kg) / TV (m^2)$. Za procenu stepena gojaznosti korišćeni su parametri Svetske zdravstvene organizacije (gojaznost I stepena – $ITM \geq 30 - 35 kg/m^2$, gojaznost II stepena - $ITM \geq 35 - 40 kg/m^2$, gojaznost III stepena - $ITM \geq 40 - 44,9 kg/m^2$ (26).

U cilju analize telesne kompozicije korišćena je se metoda bioelektrične impedansne analize (BIA), aparat Tanita Body Composition Analyzer BC – 418 MA III. Metoda se zasniva na merenju otpora tkiva prolasku naizmenične struje. Aparat indukuje struju

frekvencije 50 mHz i jačine 800 mA i poseduje dve elektrode u vidu senzora na kojima ispitivana osoba stoji (foot pad electrodes), dve elektrode drži šakama, što omogućava segmentnu analizu telesne kompozicije. Senzori aparata registruju pad napona struje pri prolasku kroz telo i na osnovu razlike u naponu aparat indirektno izračunava masnu masu tela (eng. FAT – kg), procenat masne mase (eng. FAT,%), bezmasnu masu tela (eng. LBM – kg) i masu ukupne telesne vode (eng. TBW – kg). (27). Za procenu izmerenih vrednosti koristili smo referentne vrednosti po Bray-u (197) - normalne vrednosti FAT % za muškarce 12-20% i žene 20-30%, patološke vrednosti za muškarce >25% i za žene >33%.

Vrednosti krvnog pritiska merene su sfingomanometrom, metodom po Riva Rocciju, dva puta nakon petominutnog mirovanja. Dobijene vrednosti izražene su u militerima živinog stuba (mmHg).

3.2.2. Laboratorijske analize

U cilju laboratorijske analize parametara metabolizma glikoze urađeni su glikemija i insulinemija našte, kao i 2 h nakon oralnog opterećenja sa 75 gr glukoze; glikolizirani hemoglobin (HbA1c) iz bazalnog uzorkovanja pune venske krvi. Primenjeni su sledeći principii: 1. koncentracija glikoze određivana je standardnim enzimatskim UV testom (metoda sa heksokinazom) na OLYMPUS biohemijском analizatoru, korišćenjem komercijalnih Beckman Coulter kitova (Irska). Referentne vrednosti iznose 3,9-6,1 mmol/L; 2. koncentracija imunoreaktivnog insulina (IRI) vršeno je Chemiluminescent Imunnoassay metodom (CMIA) na automatizovanom analizatoru ADVIA Centaur XP, Siemens. Referentne vrednosti za insulin su 3,0 – 25,0 mIU/l; 3. nivo HbA1c određivan je imunoinhibicionim testom na na OLYMPUS biohemijском analizatoru, korišćenjem komercijalnih Beckman Coulter kitova (Irska). Referentne vrednosti za HbA1c su 20-41 mmol/mol (IFCC). Na osnovu izmerenih koncentracija glikoze i insulina izračunati su indeksi za procenu sekretorne sposobnosti i insulinske rezistencije pomoću sledećih matematički modela:

Iz bazalnih vrednosti glikemije i insulinemije izračunati su iz homeostaznog modela :

$HOMA-\%B = (20 \times \text{insulinemija (mIU/ml)}) / (\text{glikemija (mmol/l)} - 3.5) \%$ - sekretorni indeks oslobađanja insulina

$HOMA-IR = (\text{glikemija} \times \text{insulinemija}) / 22.5$ – indeks insulinske rezistencije

$HOMA-IR \geq 2,5$ definisano kao insulinska rezistencija (198)

Iz vrednosti insulinemije u 0 min i 120 min, nakon opterećenja glukozom, koristeći demografske podatke o godinama života ispitanika i ITM izračunati su indeksi po Stumvoll-u koristeći formule za nedijabetične ispitanike (199):

Indeks insulinske senzitivnosti (eng. estimated insulin sensitivity index – ISI ($\text{mmol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1} \times \text{pmol}$)) Insulin (Ins) je u ovim formulama izražen kao pmol/l korišćen je faktor konverzije u odnosu na izmerene vrednosti u mIU/l.

$ISI = 0.156 - 0.0000459 \times \text{Ins}_{120} - 0.000321 \times \text{Ins}_0 - 0.00541 \times \text{Gluc}_{120}$

U cilju laboratorijske analize parametara lipida i lipoproteina urađeni se sledeće analize: 1. parametri lipidskog statusa određivani su standardnim biohemijskim analizama - ukupni holesterol i trigliceridi određivani su standardnim enzimskim postupkom uz korišćenje reagenasa firme BIOMERIEUX, holesterol u HDL-frakciji je određivan nakon izolovanja ove frakcije metodom po Bursteinu i sar, vrednosti LDL holesterola (Friedewald i saradnici) je dobijen računskim putem, referentne vrednosti za lipidski status su uzete iz Odeljenja za specijalizovanu laboratorijsku dijagnostiku, Centra za laboratorijsku medicinu, KC Vojvodine (Tabela 4); 2. serumske koncentracije apo A-I i apo B određivane su imunoturbidimetrijskom metodom na OLYMPUS biohemijskom analizatoru, uz korišćenje komercijalnih Beckman Coulter kitova (Irska), referentne vrednosti su uzete iz Odeljenja za specijalizovanu laboratorijsku dijagnostiku, Centra za laboratorijsku medicinu, KC Vojvodine i iznose za žene: 1,18-1,86 g/L (apoAI) i 0,38-0,9 g/L (apoB), odnosno za

muškarce: 1,03-1,83 g/L (apoAI) i 0,35-1,07 g/L (apoB); Serumska koncentracija Lp(a) određivana je imunoturbidimetrijskom metodom na OLYMPUS biohemijskom analizatoru, uz korišćenje komercijalnih Sentinel kitova (Irska). Referentne vrednosti - u normalnih osoba Lp(a) prisutan je u koncentracijama do 0,30 g/l; povišene vrednosti (0,30-0,50 g/l).

Hipertrigliceridemija je definisana kao trigliceridi $\geq 1,7$ mol/l, niske vrednosti HDL holesterola $\leq 1,29$ mol/l za žene i HDL holesterola $\leq 1,04$ mol/l za muškarce (199).

Proterogeni dislipidemijski profil je definisan kao udruženo postojanje hipertrigliceridemije (trigliceridi $\geq 1,7$ mol/l), niskih vrednosti HDL holesterola ($\leq 1,29$ mol/l za žene i $\leq 1,04$ mol/l za muškarce) i povišenih vrednosti apoB ($>0,9$ g/L za žene i $>1,07$ g/L za muškarce). (200)

Tabela. br. 4.Referentne vrednosti lipida u krvi

<i>Koncentracije</i>	<i>Poželjne</i>	<i>Granično rizične</i>	<i>Visoko rizične</i>
Ukupni holesterol (mmol/l)	< 5,20	5,20-6,19	$\geq 6,20$
Trigliceridi (mmol/l)	< 1,70	1,70-2,29	$\geq 2,30$
HDL-holesterol (mmol/l)	♂ $\geq 1,60$ ♀ $\geq 1,4$	1,01 – 1,3 1,31 – 1,5	$\leq 1,00$ $\leq 1,3$
LDL-holesterol (mmol/l)	< 3,40	3,40-4,09	$\geq 4,10$

U cilju laboratorijske analize parametara inflamacije ispitanika urađene su sledeće laboratorijske analize: 1. kompletna krvna slika (KKS) određivana je metodom protočne citometrije, uz korišćenje komercijalnih reagenasa firme Abbott (SAD), na automatskom hematološkom brojaču Sapphire, iste firme; 2. koncentracija hsCRP određivana je iz uzorka seruma imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom analizatoru Olympus AU400, uz korišćenje komercijalnih Beckman Coulter kitova (Irska), referentni opseg 0 - 5 mg/L; 3. koncentracija fibrinogena je određivana Klausovom metodom u citratnoj plazmi na ACL sistemu, uz korišćenje komercijalnih setova firme Instrumentation Laboratory (Italija), u referentnom opsegu 2,2-4,96 g/L; 4. koncentracija mokraćne kiseline određivana je standardnim enzimatskim kolor testom (PAP metod sa urikazom i peroksidazom) za

kvantitativno određivanje mokraćne kiseline u serumu na OLYMPUS AU400 biohemijskom analizatoru, uz korišćenje komercijalnih Beckman Coulter kitova (Irska), referentne vrednosti su: za muškarce 208,3-428,4 $\mu\text{mol/L}$, odnosno za žene 154,7-357,0 $\mu\text{mol/L}$.

Proinflamatorno stanje je definisano kao hsCRP > 5 mg/L. Ispitanici sa izmerenim serumskim koncentracijama > 10 mg/l, kao i ispitanici kod kojih je bio povišen broj leukocita ($>12 \times 10^9$) nisu uključeni u ispitivanje (200).

U cilju analize homocisteina, kao protrombogenog biomarkera kardiovaskularnog rizika, primenjeni su sledeći principi: 1.koncentracija ukupnog homocisteina određivana je iz uzorka plazme metodom fluorescentne polarizacione imunoanalize (FPIA), na AxSYM analizatoru uz korišćenje komercijalnih setova firme ABBOTT (SAD), referentne vrednosti u Centru za laboratorijsku analizu iznose 5,0-12,0 $\mu\text{mol/l}$; 2.koncentracija vitamina B₁₂ i folne kiseline određivana je iz uzorka seruma metodom hemiluminiscencije (CMIA) na aparatu Architect ci4100, referentni opseg za serumske koncentracije B₁₂ je 154-713 pmol/l, za folnu kiselinu je 16,31 - 34,88 nmol/l.

Ostale laboratorijske analize, u cilju isključenja funkcijskih oboljenja jetre, bubrega, štitaste žlezde, sekundarnih dislipidemijskih poremećaja obuhvatile su određivanje serumske koncentracije AST, ALT i gama glutamil-transferaze (GGT) [urađene su kinetičkim UV testom, na aparatu AU 400 (Olimpus) uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača]; serumske koncentracije uree, kreatinina, mokraćne kiseline [kinetičkim UV testom, na aparatu AU 400 (Olimpus) uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača]; pregled prvog jutarnjeg urina (mikroskopija, proteinurija kvalitativni i kvantitativni pregled urina - endpoint metoda na analizatoru ADVIA, uz korišćenje setova firme BAYER) i serumske koncentracije TSH [metodom Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA)]

3.2.3 Određivanje serumskih koncentracija sE-selektina i sICAM-1

Za određivanje koncentracija solubilnih adhezionih molekula, sE-selektin-a i sICAM-1 u serumu, krv je uzimana u epruvetu sa serum separator gelom, nakon 30 min centrifugirana 15 minuta na 1000g. Tako obrađeni uzorci seruma su čuvani na -80°C do momenta analize, a neposredno pre izvođenja analize uzorci su odmrzavani na sobnoj temperature. Serumaska koncentracija sE-selektin-a i sICAM-1 je određivana ELISA tehnikom, Enzyme-linked immunosorbent Assay Kit, proizvođača R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA. Serumске koncentracije su izražene u jedinicama ng/ml. Detekcioni limit za koncentraciju sE-selectin je iznosio 0.04 ng/mL; za sICAM-1 je iznosio 0.25 ng/mL.

3.3. Dopler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova

Ultrasonografski pregled karotidnih arterija urađen je ultrazvukom visoke rezolucije u B modu, u realnom vremenu, pomoću kolor duplex ultrazvučnog aparata (Aloka – ProSound ALPHA 10), linearnom sondom opsega frekvence od 13 MHz. Pregled karotidnih arterija je urađen prema preporukama Manhajmskog konsenzusa iz 2004 i revidiranih iz 2011. godine (201). Pomoću softverskog programa, uzdužnim snimanjem izmerena je debljina intimo medijalnog kompleksa zajednička karotidne arterije (IMK), dužina i prominencija (u lumen) plaka. Intimo medijalni kompleks je definisan kao rastojanje između ivice koja odgovara spoju lumena i intime i ivice koja odgovara spoju medije i adventicije. Merenja debljine IMK karotidnih arterija učinjena su na zadnjem zidu obe zajedničke karotidne arterije, 10 mm proksimalno od početka karotidnog bulbosa. Na longitudinalnom preseku desne i leve zajedničke karotidne arterije duž sekcije duge 20 mm na zadnjem zidu, učinjena su po 3 merenja na mestu bez fokalnih plakova, na kraju dijastole. Iz dobijenih vrednosti izračunate su srednje vrednosti koje su upotrebljene za definisanje debljine zajedničkih karotidnih

arterija (IMK). Ultrasonografska merenja su izvedena od strane nezavisna lekara, koji nisu bili upoznati sa kliničkim podacima ispitanika.

Reproducibilnost merenja, IMK je posmatrana u podgrupi od 20 ispitanika, kojima su merenja izvedena unutar sat vremena od strane oba lekara. Koeficijent varijacije (intraobserver i interobserver) za merenja je iznosio 2.8% i 3.2%.

U daljem toku ispitivanja, za svakog ispitanika izračunate su prosečne normalno očekivane vrednosti IMK, kao i srednja devijacija na osnovu navedenih formula (203):

Za žene

Prosečna normalno očekivana vrednost

$$\text{noIMK } (\mu\text{m}) = 321.7 + 4.971 \times \text{godine života}$$

Standardna devijacija

$$\text{SD noIMK } (\mu\text{m}) = 54.50 + 0.8256 \times \text{godine života}$$

Za muškarce

Prosečna normalno očekivana vrednost

$$\text{noIMK } (\mu\text{m}) = 323.5 + 5.201 \times \text{godine života}$$

Standardna devijacija

$$\text{SD noIMK}(\mu\text{m}) = 57.24 + 0.9027 \times \text{godine života},$$

Na osnovu izmerenih (IMK) i normalno očekivanih vrednosti (noIMK) za svakog ispitanika je izračunat IMK Z-skor

$$\text{IMK Z-skor} = \frac{(\text{IMK} - \text{noIMK})}{\text{SD} \times \text{noIMK}}$$

IMK Z-skor $> 1,67$ je pozitivno odstupanje od prosečne vrednosti IMK u zdravoj populaciji, koje odgovara 97,5 - om percentilu i u ovom istraživanju je definisano kao postojanje supkliničkog stadijuma ateroskleroze (203).

3.4. Osnovne metode statističke obrade podataka

U svrhu prikaza osnovnih karakteristika ispitanika korištene su metode deskriptivne statistike. Nakon testiranja distribucije za svaku pojedinačnu varijablu, upotrebom Shapiro-Wilk's testa, kontinuirane varijable sa normalnom distribucijom su prezentovane kao srednja vrednost (\bar{x}) i standardna devijacija (SD), odnosno varijable koje nemaju normalnu distribuciju kao geometrijska sredina (medijana - Me) i interval poverenja za medijanu (95%CI za Me). Kategorijske varijable prezentovane su kao broj opservacija podeljen sa ukupnim brojem ispitanika u grupi (204).

Za ispitivanje statističke značajnosti razlika kontinuiranih varijabli korišten je Studentov T test, odnosno Mann-Whitney U test. Za ispitivanje razlika u učestalosti definidanih kategorija (stepen gojaznosti, insulinska rezistencija, proaterogeni dislipidemični profil, proinflamatorno stanje) između različitih grupa ispitanika korišten je Pearson-ov χ^2 test. Parametrijski ANOVA, odnosno neparametrijski Krushal Walis H test sa post hoc testitanjem je korišćen za ispitivanje statističke značajnosti između pogrupa ispitivane grupe u odnosu na stepen gojaznosti. Za utvrđivanje korelacija su korišten je Pearson-ov koeficijent linearne korelacije (r) sa logaritamski transformisanim vrednostima koje nisu imale normalnu distribuciju, odnosno Sberman-ov koeficijent za kategorijske varijable (rho). Korelaciona analiza je ponderisana sa ITM. U cilju identifikacije parametara koji su nezavisno povezani sa serumskom koncentracijom sE-selektina i sICAM-a urađena je postepena multipla linearna regresiona analiza.

U cilju ispitivanja odnosa između ispitivane grupe parametara i IMK Z skora, indikatora supkliničke ateroskleroze sprovedena je faktorska analiza [analiza glavnih komponenti (principal components analysis)]. Ova statistička metoda ima primenu u identifikaciji relativno malog broja faktora koji se mogu predstavljati odnos između mnogobrojnih, međusobno povezanih, promenljivih. Primena ove metode je imala za cilj da

se identifikuju osnovne, ne direktno vidljive, dimenzije hiperalimentacionog tipa gojaznosti kao i da se utvrdi priroda veze izdvojenih faktora sa supkliničkom formom ateroskleroze u ispitivanom uzorku. Primenom ove metode originalne promenjive (u ovom slučaju antropometrijski i biohemijski parametri) su transformisane u nove promenjive koje se nazivaju glavne komponente ili faktori. Faktori predstavljaju linearnu kombinaciju više ispitivanih promenjivih, koji u različitom stepenu mogu da se koriste za razlikovanje ispitanika u uzorku. Komponentne ili faktori su izdvojeni na osnovu ukupne varijacije i pretpostavlja se da predstavljaju osnovne dimenzije svih ispitivanih parametara. Prvi faktor (glavna komponenta) koji se izdvojio obuhvata najveći deo varijanse originalnog skupa podataka, odnosno predstavlja linearnu kombinaciju podataka koja maksimalno razlikuje ispitanike. Naredni faktori su formirani tako da su obuhvatili onaj deo varijanse originalnog skupa podataka koji nije obuhvaćen prethodno izdvojenim glavnim komponentama. Analiza je sprovedena u četiri koraka: izračunavanje kovarijacione matrice, ekstrakcija faktora, rotacija faktora i izračunavanje faktorskih skorova. Prediktivni potencijal faktorskih skorova za vrednosti IMK Z skora koje su iznad 97,5 percentila normalno očekivanih vrednosti u zdravoj populaciji, ispitanici su u sklopu multivarijabilnog modela sa svim faktorima zajedno. Prediktivni potencijal pojedinačnih parametara objedinjenih u faktoru koji se prvi izdvojio za patološku vrednosti IMK Z skora, ispitanici su univarijantnom logističkom regresionom analizom.

Statističko testiranje postavljenih hipoteza obavljeno je dvostranim statističkim testovima sa nivoom značajnosti od 0,05 ($p < 0,05$), u svakom od pomenutih testova. Za statističku obradu podataka korišteni su programi MedCalc® Ver. 12.1.3 (MedCalc software, Mariakerke, Belgium), SPSS, verzija 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) i Statistika software 12,0 (StatSoftInc.,Tulsa,OK, USA).

4. REZULTATI

4.1. OPŠTE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA U ISPITIVANOJ I KONTROLNOJ GRUPI

4.1.1. Demografski podaci u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Ispitivanjem je obuhvaćeno 60 osoba kod kojih je ustanovljen hiperalimentacioni tip gojaznosti, 40 (40/60, 66%) žena i 20 (20/60, 34%) muškaraca. U ispitivanoj grupi medijana godina života je bila 37 godine. Najmlađi ispitanik je imao 29, a najstariji 43 godine.

Kontrolnu grupu činilo je 30 zdravih ispitanika, 20 (20/30) žena i 10 (10/30) muškaraca. U kontrolnoj grupi medijana godina života je iznosila 36 godina. Najmlađi ispitanik je imao 30, a najstariji 42 godina.

Tabela 1 prikazuje da Mann-Whitney testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivane i kontrolne grupe u odnosu na godine života ($P=0,09$). Analizom polne strukture nije zabeležena statistički značajna razlika između grupe ispitivane i kontrolne grupe ($\chi^2=0,44$, $P=0,50$).

Tabela 1. Demografski podaci ispitanika

	Ispitivana grupa n=60 Me (min-max)	Kontrolna grupa n=30 Me (min-max)	P
Godine života	37 (29-43)	36 (30 – 42)	0,09*
Pol (n): muški/ženski	20/40	10/20	0,5**

Legenda: *- Mann-Whitney test, **- χ^2 test nezavisnosti

4.1.2. Antropometrijske karakteristike ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija odredivanih antropometrijskih parametara ispitanika u ispitivanoj grupi prikazana je u Tabeli 2. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da analizirani parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 2 Antropometrijski parametri ispitanika u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P
ITM (kg/m ²)	38,84	6,06	30	46	38,35	33,6 - 42,7	0,04
OS (cm)	127,6	16,2	98	163	130	110,6 - 134,2	0,74
FAT (%)	42,5	6,3	31	55,9	43,7	32,8 - 45,5	0,15
FAT T (%)	35,6	5,6	31,5	52,8	37,5	32,1 - 43,7	0,43

Legenda: ITM – Indeks telesne mase, OS – obim struka, FAT% - procenat masne mase u telesnoj kompoziciji, FAT T % - procenat masne mase u abdominalnoj regiji, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

Analizom ITM ispitanika, 21/60 ispitanika je imalo I stepen gojaznosti, 20/60 ispitanika II stepen gojaznosti i 19/60 ispitanika III stepen gojaznosti.

Distribucija odredivanih antropometrijskih parametara ispitanika u kontrolnoj grupi prikazana je u Tabeli 3. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da analizirani parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 3. Antropometrijski parametri ispitanika u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
ITM kg/m ²	22,7	2,3	20,1	24,7	22,7	21,4 - 23,8	0,24
FAT (%)	20,2	5,9	15,8	27,8	18,6	16,3 - 21,9	0,14
OS (cm)	82	6,3	70	92	85,5	80,4 - 89,6	0,36
FAT T (%)	18,9	6,2	9,6	20,8	18,2	16,4 - 20,9	0,47

Legenda: FAT% - Procenat masne mase u telesnoj kompoziciji, ITM – Indeks telesne mase, OS – obim struka, FAT T % - procenat masne mase u abdominalnoj regiji, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

U Tabeli 4 su prikazani rezultati poređenja antropometrijskih parametara između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti ITM ($38,84 \pm 6,06$ vs. $22,8 \pm 2,3$ kg/m² P= 0,00), OS ($127,6 \pm 16,2$ vs. $82 \pm 9,3$ cm), FAT% ($42,5 \pm 6,3$ vs. $20,2 \pm 5,9$ %, P= 0,00), FAT T% ($35,6 \pm 5,6$ vs. $18,9 \pm 6,2$, P= 0,00) ispitanika u ispitivanoj grupi u odnosu na ispitanike u kontrolnoj grupi.

Tabela 4. Poređenje antropometrijskih parametara između ispitivane i kontrolne grupe

	Ispitivana grupa n=60 X ± SD	Kontrolna grupa n=30 X ± SD	P
ITM (kg/m ²)	38,84 ± 6,06	22,8 ± 2,3	0,00*
OS (cm)	127,6 ± 16,2	82 ± 9,3	0,00*
FAT (%)	42,5 ± 6,3	20,2 ± 5,9	0,00*
FAT trunk (%)	35,6 ± 5,6	18,9 ± 6,2	0,00*

Legenda: TM – telesna masa, FAT% - Procenat masne mase u telesnoj kompoziciji, ITM – Indeks telesne mase, OS – obim struka, FAT trunk % - procenat masne mase u abdominalnoj regiji

*-T-test nezavisnih uzoraka,**- Mann-Whitney test

4.1.2. Parametri metabolizma glukoze ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija određivanih parametara metabolizma glukoze u ispitivanoj grupi prikazana je u Tabeli 5. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za koncentraciju insulina našte, insulina 2 h u toku oralnog glukoza tolerans testa, HOMA1-%B, ISI i HOMA-IR. Svi ostali parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 5 Parametri metabolizma glukoze ispitanika u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
Glukoza našte (mmol/L)	4,8	1,2	4,3	5,4	4,8	4,49 - 5,05	0,26
Glukoza 2h (mmol/L)	5,7	1,9	4,6	5,9	5,25	4,8 - 5,69	0,14
Insulin našte (mU/mL)	18,3	11,8	12,5	26,8	16,6	13,81 - 19,82	0,00
Insulin 2h (mU/mL)	44,7	34,1	19,8	44,9	28	23,01 - 42,56	0,00
HbA1c (mmol/L)	34,12	0,58	31,2	38,6	34,4	33,26 – 35,4	0,36
HOMA1-%B	316,1	196,1	145,8	560,1	283,15	198,3 - 365,8	0,00
ISI	0,07	0,03	0,5	0,09	0,07	0,06 - 0,08	0,00
HOMA-IR	4,2	2,9	1,9	7,8	3,55	2,78 - 4,41	0,00

Legenda: Glukoza i glukoza 2h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, Insulin i insulin 2 h – koncentracija insulina u toku oralnog glukoza tolerans testa, HbA1c - glikozilirani hemoglobin, HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ISI - Indeks insulinske senzitivnosti - $\mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1} \times \text{pmol/l}$ (Stumvoll), HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

U ispitivanoj grupi insulinsku rezistenciju na nivou jetre je imalo 46 (46/60) ispitanika, u I stepenu gojaznosti 15 (15/21), u II stepenu 15 (15/20) i 17 (17/19) ispitanika u III stepenu gojaznosti.

Distribucija određivanih parametara metabolizma glukoze u kontrolnoj grupi učesnika prikazana je u Tabeli 6. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da svi parametri imaju normalnu raspodelu.

Tabela 6 Parametri metabolizma glukoze ispitanika u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
Glukoza našte (mmol/L)	4,7	0,45	4,1	5,5	4,69	4,56 - 4,92	0,44
Glukoza 2h (mmol/L)	5,01	1,1	4,11	5,7	4,95	4,33 - 5,4	0,24
Insulin našte (mU/mL)	6,8	4,4	10,8	23,7	5,85	4,71 - 8,23	0,01
Insulin 2h (mU/mL)	20,8	3,4	11,8	24,1	16,7	13,64 - 21,48	0,00
HbA1c (mmol/L)	31,23	1,86	28,6	33,9	31,2	29,3 – 33,25	0,26
HOMA1-%B	120,9	63	50,4	150,8	118,65	76,95 - 141,2	0,00
ISI	0,11	0,02	0,04	0,13	0,11	0,10 - 0,12	0,26
HOMA-IR	1,46	1,02	0,32	2,1	1,27	1,06 - 1,72	0,00

Legenda: Glukoza i glukoza 2h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, Insulin i insulin 2 h – koncentracija insulina u toku oralnog glukoza tolerans testa, HbA1c - glikozilirani hemoglobin, HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ISI - Indeks insulinske senzitivnosti (Stumvoll), HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze) P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

U Tabeli 7 su prikazani rezultata poređenja parametara metabolizma glukoze između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti insulinemije našte (16,6 (13,81 - 19,82) vs. 5,85 (4,71 - 8,23) mU/mL, P= 0,00), insulinemije 2 h OGTT –a (28 (23,01 - 42,56) vs.13,7 (9,64 - 21,48) mU/mL, P= 0,00) i nivoa HbA1c (35.34 ± 5.58 vs. 31.23 ± 1.86 mmol/L, P= 0,00) ispitanika u ispitivanoj grupi u odnosu na ispitanike u kontrolnoj grupi. Takođe, ispitanici u ispitivanoj grupi su mali statistički značajno više vrednosti HOMA-IR (3,55 (2,78 - 4,41) vs. 1,27 (1,06 - 1,72), P= 0,00) sekretornog indeksa HOMA1-%B (283,15 (198,29 - 365,8) vs. 118,65 (76,95 - 141,2), P= 0,00) i indeksa insulinske senzitivnosti ISI (0,07 (0,06 - 0,082) vs. 0,11 (0,10 - 0,12), P= 0,00) u odnosu na ispitanike kontrolne grupe.

Tabela 7. Poređenje parametara metaboliza glukoze između ispitivane i kontrolne grupe

	Ispitivana grupa n=60 X ± SD Me (95%CI za Me)	Kontrolna grupa n=30 X ± SD Me (95%CI za Me)	P
Glukoza našte (mmol/L)	4,8±1,2	4,7 ± 0,45	0,21
Glukoza 2h (mmol/L)	5,7 ± 1,9	5,01 ± 1,1	0,36
Insulin našte (mU/mL)	16,6 (13,81 - 19,82)	5,85 (4,71 - 8,23)	0,00**
Insulin 2h (mU/mL)	28 (23,01 - 42,56)	13,7 (9,64 - 21,48)	0,00**
HbA1c (mmol/L)	35,34 ± 5,58	31,23 ± 1,86	0,00*
HOMA-IR	3,55 (2,78 - 4,41)	1,27 (1,06 - 1,72)	0,00**
HOMA1-%B	283,15 (198,29 - 365,8)	118,65 (76,95 - 141,2)	0,00**
ISI	0,07 (0,06 - 0,082)	0,11 (0,10 - 0,12)	0,00**

Legenda: Glukoza i glukoza 2h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, Insulin i insulin 2 h – koncentracija insulina u toku oralnog glukoza tolerans testa, HbA1c - glikozilirani hemoglobin, HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ISI - Indeks insulinske senzitivnosti - $\mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1} \times \text{pmol/l}$ (Stumvoll), HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze)

*-T-test nezavisnih uzoraka,**- Mann-Whitney test

U ispitivanoj grupi gojaznih, nije uočena statistički značajna razlika u medijani HOMA1-%B između ispitanika I, II i III stepena gojaznosti (198,34 (131,69 - 489,19) vs. 281,3 (226,29 - 417,26) vs. 324,44 (152,41 - 441,54), P=0,26). U ispitanika sa III stepenom gojaznosti medijana ISI je bila statistički značajno niža u odnosu na medijanu ISI kod ispitanika sa I stepenom (0,01 (0,01 - 0,04) vs. 0,08 (0,05 - 0,09), P=0,02). Medijana ISI kao ispitanika III stepena gojaznosti je bila statistički značajno niža u odnosu na medijanu ISI ispitanika sa II stepenom gojaznosti (0,01 (0,01 - 0,04) vs 0,07 (0,048 - 0,07), P=0,03). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u medijani ISI između ispitanika sa I i II stepenom gojaznosti (P=0,36). Analizom vrednosti HOMA-IR u podgrupama ispitivane grupe, uočeno je postojanje statistički značajno nižih vrednosti medijane HOMA-IR kod ispitanika

sa I stepenom gojaznosti u odnosu na vrednost medijane kod ispitanika sa III stepenom gojaznosti (3,34 (1,62- 4,12) vs. 4,4 (2,75 - 8,43), $P=0.03$). Medijana HOMA-IR je bila statistički značno niža kod ispitanika sa II u odnosu na medijanu HOMA-IR kod ispitanika sa III stepenom gojaznosti (3,5 (1,91 - 5,43) vs. 4,4 (2,75 - 8,43), $P=0.01$). Nije uočeno postojanje statistički značajne razlike u medijani HOMA-IR između ispitanika sa I i II stepenom gojaznosti ($P=0,36$). U ispitivanoj grupi vrednosti medijane HbA1c su bile statistički značajno više kod ispitanika sa III stepenom gojaznosti u odnosu na vrednost medijane HbA1c kod ispitanika sa I stepenom (37,01 (34,2 – 38,01) vs. 34,23 (32,14 – 34,56) mmol/L, $P=0.001$). Vrednost medijane HbA1c kod ispitanika sa III stepenom gojaznosti je bila statistički značajno viša u odnosu na vrednost medijane ispitanika sa II stepenom gojaznosti (37,01 (34,2 – 38,01) vs. 34,25 (33,56 – 35,6) mmol/L, $P=0.002$).

4.1.3. Parametri metabolizma lipida i lipoproteina ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija određivanih parametara metabolizma lipida i lipoproteina učesnika u ispitivanoj grupi prikazana je u Tabeli 8. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za koncentraciju triglicerida i Lp(a). Svi ostali parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 8. Parametri metabolizma lipida i lipoproteina ispitanika u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
UK holesterol (mmol/L)	5,36	1,61	4,01	6,3	5,36	4,97 – 5,75	0,36
LDL - H (mmol/L)	3,52	0,84	2,06	4,78	3,55	3,22 - 3,89	0,41
HDL – H (mmol/L)	1,16	0,35	0,56	2,41	1,08	0,99 - 1,19	0,26
Trigliceridi (mmol/L)	1,5	0,88	0,51	2,11	1,37	1,09 - 1,76	0,00*
Trigliceridi/HDL-H	1,40	0,88	0,43	2,04	1,17	0,89 – 1,67	0,09
Apo A-I (g/L)	1,25	0,25	0,69	1,90	1,20	1,15 - 1,28	0,06
Apo B (g/L)	0,94	0,21	0,54	1,44	0,92	0,83 - 1,01	0,43
ApoB/apoA-I	0,78	0,21	0,29	1,27	0,73	0,67 – 0,86	0,56
Lp(a) (g/L)	0,21	0,22	0,01	0,65	0,09	0,07 - 0,19	0,00

Legenda: UK holesterol – ukupni holesterol; TG – trigliceridi, HDL –H – HDL holesterol, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoproteina B, Lp(a) – lipoprotein, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

Hipertrigliceridemiju je imalo 26/60 (43 %) gojaznih ispitanika, češće među ispitanicima ženskog pola 17/26 (65%). Snižene vrednosti HDL holesterola je imalo 34/60 (56 %) gojaznih ispitanika, muškaraca 11/34 i 23/34 žena. Povišene vrednosti apoB lipoproteina je imalo 25 gojaznih ispitanika 9/25 muškaraca i 11/25 žena. Proaterogeni dislipidemični profil je imalo ukupno 20 (20/60) gojaznih ispitanika, 6 muškaraca i 14 žena.

Distribucija određivanih parametara metabolizma lipida i lipoproteina ispitanika u kontrolnoj grupi prikazana je u Tabeli 8. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za trigliceride i Lp(a).Svi ostali parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 8. Parametri metabolizma lipida i lipoproteina ispitanika u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
UK holesterol (mmol/L)	4,68	0,94	4,2	5,3	4,56	4,27 - 5,06	0,46
LDL - H (mmol/L)	2,82	0,48	2,11	3,80	2,70	2,51 - 3,02	0,24
HDL – H (mmol/L)	1,43	0,15	1,22	1,82	1,44	1,33 - 1,52	0,12
Trigliceridi (mmol/L)	0,99	0,63	0,47	2,7	0,88	0,60 - 1,05	0,00
Trigliceridi/HDL-H	0,63	0,27	0,26	1,1	0,52	0,43 – 0,85	0,09
Apo A-I (g/L)	1,43	0,12	1,08	1,91	1,44	1,32 - 1,48	0,26
Apo B (g/L)	0,81	0,20	0,52	1,12	0,76	0,71 – 0,89	0,47
ApoB/apoA-I	0,59	0,19	0,34	0,99	0,55	0,47 – 0,62	0,36
Lp(a) (g/L)	0,21	0,22	0,04	0,57	0,09	0,07 - 0,19	0,00

Legenda: UK holesterol – ukupni holesterol; TG – trigliceridi, HDL –H – HDL holesterol, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoproteina B, Lp(a) – lipoprotein, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

Hipertrigliceridemiju je imalo 7/40 ispitanika u kontrolnoj grupi. Snižene vrednosti HDL holesterola je imalo 9/40. U kontrolnoj grupi nije uočeno postojanje proaterogenog dislipidemijskog profila.

U Tabeli 9 su prikazani rezultata poređenja parametara metabolizma lipida i lipoproteina između ispitivane i kontrolne grupe.

Tabela 9. Poređenje parametara metaboliza lipida i lipoproteina između ispitivane i kontrolne grupe

	Ispitivana grupa n=60 X ± SD Me (95%CI za Me)	Kontrolna grupa n=30 X ± SD Me (95%CI za Me)	P
UK holesterol (mmol/L)	5,36 ± 1,61	4,68 ± 0,94	0,02*
LDL - H (mmol/L)	3,52 ± 0,84	2,82 ± 0,48	0,00*
HDL – H (mmol/L)	1,16 ± 0,35	1,43 ± 0,15	0,00**
Trigliceridi (mmol/L)	1,37 (1,09 - 1,76)	0,88 (0,60 - 1,05)	0,00**
Apo A-I (g/L)	1,25 ± 0,25	1,43 ± 0,12	0,00*
Apo B (g/L)	0,94 ± 0,21	0,81 ± 0,20	0,00*
Lp(a) (g/L)	0,09 (0,07 - 0,19)	0,14 (0,08 - 0,19)	0,61**
TG/HDL-H	1,40 ± 0,88	0,63 ± 0,27	0,00*
ApoB/apoA-I	0,78 ± 0,21	0,59 ± 0,19	0,00*

Legenda: TG – trigliceridi, HDL –H – HDL holesterol, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoproteina B

*-T-test nezavisnih uzoraka, **- Mann-Whitney test

Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti koncentracije ukupnog holesterola ($5,36 \pm 1,61$ vs. $4,68 \pm 0,94$ mmol/L, $P=0,02$), LDL holesterola ($3,52 \pm 0,84$ vs. $2,82 \pm 0,48$ mmol/L, $P=0,00$), triglicerida ($1,37 (1,09 - 1,76)$ vs. $0,88 (0,60 - 1,05)$ mmol/L, $P=0,00$), apo B ($0,94 \pm 0,21$ vs. $0,81 \pm 0,22$ g/L, $P=0,00$) u ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika. Ispitanici u kontrolnoj grupi su imali signifikantno više koncentracije HDL holesterola ($1,43 \pm 0,15$ vs. $1,16 \pm 0,35$, $P=0,00$) i apo A-I ($1,39 \pm 0,12$ vs. $1,25 \pm 0,25$, $P=0,00$) u odnosu na ispitanike u ispitanoj grupi.

U ispitivanoj grupi gojaznih, posmatranoj prema stepenu gojaznosti, uočena je statistički značajno niža prosečna vrednost HDL holesterola u ispitanika sa III stepenom gojaznosti u odnosu na prosečnu vrednost HDL-holesterola kod ispitanika sa I stepenom gojaznosti ($1,01 \pm 0,16$ vs. $1,25 \pm 0,33$; $P=0,02$). Testirajući statističku značajnost u razlici vrednosti drugih lipidskih i lipoproteinskih frakcija između ispitanika sa I, II i III stepenom gojaznosti nije uočeno postojanje statistički značajnih razlika u prosečnim vrednostima LDL - holesterola ($3,64 \pm 0,91$ vs. $3,33 \pm 0,98$ vs. $3,59 \pm 0,69$ mmol/L, $P=0,15$), medijani triglicerida ($1,22$ (0,56 – 1,81) vs. $1,03$ (0,82 – 1,91) vs. $1,45$ (1,23 – 2,06) mmol/L $P=0,25$), prosečnim vrednostima apo A-I ($1,29 \pm 0,23$ vs. $1,24 \pm 0,33$ vs. $1,28 \pm 0,18$ g/L, $P=0,16$), prosečnim vrednostima apoB ($0,93 \pm 0,23$ vs. $0,88 \pm 0,23$ vs. $0,99 \pm 0,17$ g/L, $P=0,19$), prosečnim vrednostima Lp(a) ($0,09$ (0,08 – 0,39) vs. $0,14$ (0,06 – 0,31) vs. $0,07$ (0,03 – 0,46) g/L, $P=0,26$).

4.1.4. Parametri inflamacije u ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija određivanih laboratorijskih parametara inflamacije učesnika u ispitivanoj grupi prikazana je u Tabeli 10. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za koncentraciju hsCRP-a. Svi ostali parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 10. Parametri inflamacije ispitanika u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
Leukociti (n)	6,96	1,68	3,6	8,3	7,1	6,57 – 7,38	0,26
Neutrofili/limfociti (n)	1,9	0,84	0,98	4,41	1,78	1,36 - 2,07	0,47
hsCRP (mg/L)	5,26	3,02	1,1	9,6	5,95	4,3 – 8,7	0,01
Fibrinogen (g/L)	3,6	0,8	2,16	4,51	3,56	3,05 - 4,28	0,47

Legenda: hsCRP – visoko osetljivi C reaktivni protein, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

Analizom ispitivane grupe gojaznih, kod 34/60 ispitanika je utvrđeno postojanje proinflamatornog stanja, sa statistički značajnim trendom rasta broja ispitanika sa proinflamatornim stanjem sa povećanjem stepena gojaznosti (5/20 (I stepen) vs. 12/20 (II stadijum) vs. 17/19 (III stadijum), χ^2 (trend) = 4,59, P = 0,03).

Distribucija određivanih parametara inflamacije učesnika u kontrolnoj grupi prikazana je u Tabeli 11. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da svi parametri imaju normalnu raspodelu.

Tabela 11. Parametri inflamacije ispitanika u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
Leukociti (n)	6,49	1,55	3,6	7,5	6,4	5,66 - 6,96	0,26
Neutrofili/limfociti (n)	1,55	0,79	0,72	2,1	1,38	1,06 - 1,58	0,14
hsCRP (mg/L)	0,8	1,3	0,1	3,1	0,3	0,2 – 2,12	0,29
Fibrinogen (g/L)	2,6	0,5	1,81	3,21	2,5	2,23 – 2,71	0,41

Legenda: hsCRP – visoko osetljivi C reaktivni protein, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

U Tabeli 12 su prikazani rezultata poređenja parametara inflamacije između ispitivane i kontrolne grupe.

Tabela 12. Poređenje parametara inflamacije između ispitivane i kontrolne grupe

Parametar	Ispitivana grupa n=60 X ± SD	Kontrolna grupa n=30 X ± SD	P
Leukociti (n)	6,96 ± 1,68	6,49 ± 1,55	0,26*
Neutrofili/limfociti (n)	1,9 ± 0,84	1,55 ± 0,79	0,01*
hsCRP (mg/L)**	5,26 ± 3,02	0,8 ± 1,3	0,00*
Fibrinogen (g/L)	3,6 ± 0,8	2,6 ± 0,5	0,00*

Legenda: *-T-test nezavisnih uzoraka, ** - logaritamski transformisana vrednost

Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti odnosa neutrofili/limfociti ($1,9 \pm 0,84$ vs. $1,55 \pm 0,79$, $P=0,01$), koncentracije hsCRP ($5,26 \pm 3,02$ vs. $0,8 \pm 1,3$ mg/L, $P=0,00$) i koncentracije fibrinogena ($3,6 \pm 0,8$ vs. $2,6 \pm 0,5$ g/L, $P=0,00$) u ispitanika u ispitivanoj grupi u poređenju sa kontrolnom grupom. U ispitivanoj grupi gojaznih, posmatranoj prema stepenu gojaznosti, uočena je statistički značajno viša prosečna vrednost medijane hsCRP-a u ispitanika III stepena gojaznosti u odnosu na prosečnu vrednost ispitanika I stepena gojaznosti ($8,6$ ($5,35 - 9,40$) vs. $3,22$ ($1,92 - 4,37$) mg/L, $P=0,01$). Nije uočena statistički značajna razlika u medijani serumske koncentracije hsCRP-a između ispitanika III i II stepena gojaznosti ($8,6$ ($5,35 - 9,40$) vs. $4,95$ ($4,35 - 7,68$), $P=0,14$), kao ni statistički značajna razlika u medijani serumske koncentracije hsCRP-a između ispitanika I i II stepena gojaznosti ($3,22$ ($1,92 - 4,37$) vs. $4,95$ ($4,35 - 7,68$) mg/L, $P=0,26$). Uočena je odnosa broja neutrofila/limfocita u ispitanika sa III stepenom gojaznosti u odnosu na prosečnu vrednost odnosa broja neutrofila/limfocita kod ispitanika sa I stepenom gojaznosti ($2,13 \pm 0,94$ vs. $1,82 \pm 0,56$; $P=0,02$). Testirajući statističku značajnost u razlici prosečnih vrednosti fibrinogena između ispitanika sa I, II i III stepenom gojaznosti nije uočeno postojanje statistički značajnih razlika ($3,32 \pm 0,71$ vs. $3,28 \pm 0,85$ vs. $4,16 \pm 0,88$ g/L, $P=0,19$)

4.1.5. Vrednosti homocisteina ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija odredivanih parametara metabolizma homocisteina učesnika u ispitivanoj grupi prikazana je u Tabeli 13. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 13. Parametri metabolizma homocisteina ispitanika u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	10,49	2,26	5,5	13,2	10,23	9,77 - 11,09	0,73
Vitamin B ₁₂ (pmol/l)	202,29	79,39	80	416	190,15	164,01 -217,86	0,14
Folna kiselina (nmol/l)	18,72	5,61	9,6	36,8	17,25	16,17 - 20,22	0,00*

Legenda: P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

Distribucija odredivanih parametara metabolizma homocisteina učesnika u kontrolnoj grupi prikazana je u Tabeli 14. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za serumsku koncentraciju B12 vitamina, dok ostali parametri imaju normalnu distribuciju.

Tabela 14. Parametri metabolizma homocisteina ispitanika u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	9,66	1,95	5,7	11,4	9,55	8,27 - 10,6	0,59
Vitamin B ₁₂ (pmol/l)	310,04	121,7	144,6	459,3	250,2	228,01 -399,91	0,36
Folna kiselina (nmol/l)	17,78	5,78	10,6	31,5	16,55	14,40 - 19,35	0,14

Legenda: P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

U Tabeli 15 su prikazani rezultata poređenja koncentracije homocisteina između ispitivane i kontrolne grupe.

Tabela 15. Poređenje koncentracije homocisteina između ispitivane i kontrolne grupe

Parametar	Ispitivana grupa n=60 X ± SD	Kontrolna grupa n=30 X ± SD	P
Homocistein (µmol/l)	10,49 ±2,26	9,66 ± 1,95	0,09*

Legenda: *-T-test nezavisnih uzoraka

Nije uočena statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima koncentracije homocisteina u gojaznih ispitanika u odnosu na njegove prosečne koncentracije u kontrolnoj grupi (10,49 ±2,26 vs. 9,66 ± 1,95 µmol/l, P= 0,09).

Distribucija ostalih laboratorijskih parametara je prikazan u Prilogu 1.

4.2. BIOMARKERI DISFUNKCIJE ENDOTELE

4.2.1. Biomarkeri disfunkcije endotela u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija određivanih biomarkera disfunkcije endotela učesnika u ispitivanoj grupi prikazana je u Tabeli 16. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za ispitivane parametre.

Tabela 16. Biomarkeri disfunkcije endotela ispitanika u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
sE-selektin (ng/mL)	36,22	9,76	17,2	56,2	36,2	33,21 - 43,7	0,01
sICAM-1 (ng/mL)	282,63	67,77	184,7	450,3	266,8	245,8 – 326,73	0,02

Legenda: sE-selektin – solubilna forma E selektina, sICAM – solubilna forma intercelularnog adhezivnog molekula 1, P - Shapiro Wilk test za normalnost distribucije

Distribucija određivanih biomarkera disfunkcije endotela učesnika u kontrolnoj grupi prikazana je u Tabeli 17. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da raspodela nije normalna za ispitivane parametre

Tabela 17. Biomarkeri disfunkcije endotela ispitanika u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
sE-selektin (ng/mL)	27,78	10,15	17,8	31,4	25,14	23,1 -29,48	0,01
sICAM-1 (ng/mL)	181,01	48,28	122,6	231,6	183,32	167,9 – 208,57	0,02

Legenda: sE-selektin – solubilna forma E selektina, sICAM – solubilna forma intercelularnog adhezivnog molekula

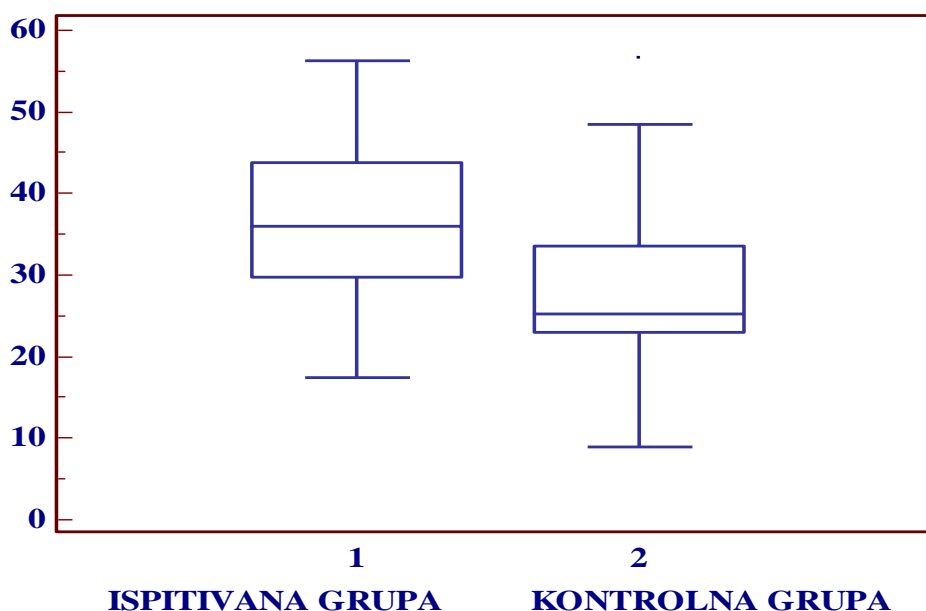
U Tabeli 18 su prikazani rezultati poređenja koncentracije sE-selektina između ispitivane i kontrolne grupe.

Tabela 18. Poređenje serumskih koncentracija sE-selektina u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

	Ispitivana grupa n=60 Me (95%CI za Me)	Kontrolna grupa n=20 Me (95%CI za Me)	P
sE - selektin (ng/mL)	36,2 (33,21 - 43.7)	25,14 (23,1 -29,48)	0,00**

Legenda: sE-selektin – solubilna forma E-selektina, ** - Mann-Whitney test

Grafikon 1. prikazuje da su učesnici u ispitivanoj grupi imali statistički značajno više vrednosti medijane serumске koncentracije sE-selektina u poređenju sa medijanom serumске koncentracije sE-selektina učesnika u kontrolnoj grupi (36,2 (33,21 - 43.7) vs. 25,14 (23,1 - 29,48), P=0,00).



Grafikon 1. Medijana i interval poverenja za medijanu (95%CI) serumске koncentracije sE-selektina u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

U tabeli 19 su prikazani rezultati poređenja koncentracije sICAM-1 između ispitivane i kontrolne grupe.

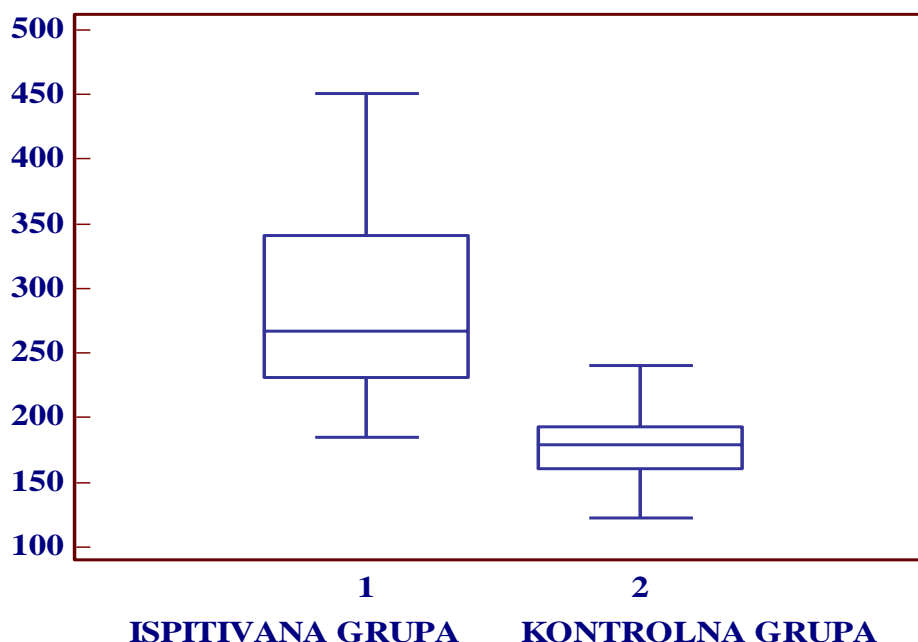
Tabela 19. Poređenje serumskih koncentracija sICAM-1 u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

	Ispitivana grupa n=60 Me (95%CI za Me)	Kontrolna grupa n=20 Me (95%CI za Me)	P
sICAM-1 (ng/mL)	266,8 (245,8 – 326,73)	183,32 (167,9 – 208,57)	0,00**

Legenda: sICAM – 1 – solubilna forma intracelularnog adhezivnog molekula 1

** - Mann-Whitney test

Grafikon 2 prikazuje da su ispitanici u ispitivanoj grupi imali statistički značajno više vrednosti medijane serumске koncentracije sICAM-1 u poređenju sa medijanom serumске koncentracije sICAM-1 učesnika u kontrolnoj grupi (266,8 (245,8 – 326,73) vs. 183,32 (167,9 – 208,57), P=0,00).



Grafikon 2. Medijana i interval poverenja za medijanu (95%CI) serumске koncentracije sICAM-1 u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

4.2.2. Analiza biomarkera disfunkcije endotela u ispitivanoj grupi prema stepenu gojaznosti

U tabeli 20 su prikazani rezultati poređenja koncentracije sE-selektina između ispitanika u I, II i III stepenu gojaznosti.

Tabela 20. Poređenje nivoa sE-selektina u ispitivanoj grupi prema stepenu gojaznosti

	Ispitivana grupa		
	I stepen gojaznosti n=21 Me (95%CI za Me)	II stepen gojaznosti n=20 Me (95%CI za Me)	III stepen gojaznosti n=19 Me (95%CI za Me)
sE-selektin (ng/mL)	34,34 (22,49 - 36,62)	32,1 (26,1 - 43,64)	41,5 (36,58 – 49,48)**§

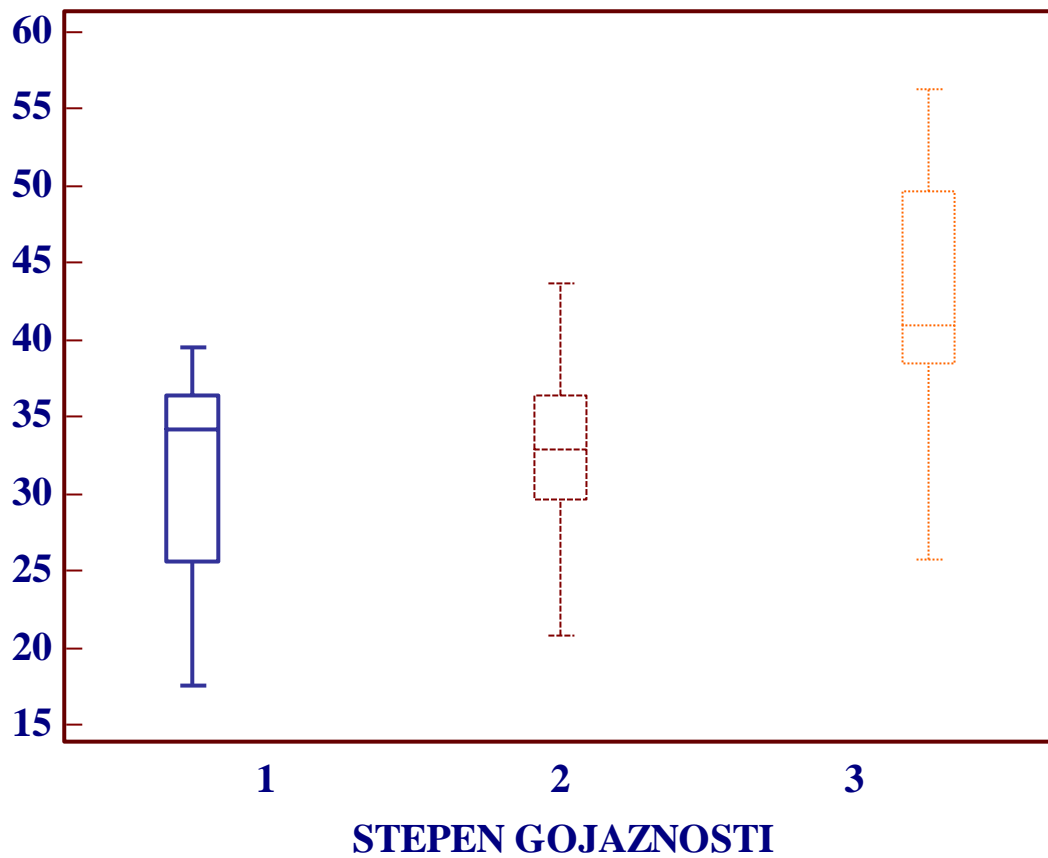
Legenda

* Krushall Walis test, (post hoc test), statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na vrednost u ispitanika I stepena gojaznosti

** Krushall Walis test, (post hoc test), statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na vrednost u ispitanika I stepena gojaznosti

§ Krushall Walis test, (post hoc test), statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na vrednost u ispitanika II stepena gojaznosti

Na grafikonu 4 je prikazano da nije utvrđena statistički značajna razlika u medijani serumske koncentracije sE-selektina između ispitanika u I odnosno u II stepenu gojaznosti (34,34 (22,49 - 36,62) vs. 32,1 (26,1 - 43,64) ng/mL, $P=0,12$). Ispitanici u III stepenu gojaznosti su imali statistički značajno višu medijanu serumske koncentracije sE-selektina u odnosu na medijanu u ispitanika I (41,5 (36,58 – 49,48) vs. 34,34 (22,49 - 36,62) ng/mL, $P=0,00$). Ispitanici sa II stepenom gojaznosti su imali statistički značajno nižu medijanu serumske koncentracije sE-selektina u odnosu na ispitanike u III stepenu gojaznosti (32,1 (26,1 - 43,64) vs. 41,5 (36,58 – 49,48) ng/mL, $P=0,00$).



Grafikon 4. Medijana i interval poverenja za medijanu (95%CI) serumske koncentracije sE-selektina u ispitivanoj grupi u ispitanika sa I, II I III stepenom gojaznosti

U tabeli 21 su prikazani rezultati poređenja koncentracije sE-selektina između ispitanika u I, II i III stepenu gojaznosti.

Tabela 21. Poređenje nivoa sICAM-1 u ispitivanoj grupi prema stepenu gojaznosti

	Ispitivana grupa		
	I stepen gojaznosti n=21 Me (95% CI za Me)	II stepen gojaznosti n=20 Me (95% CI za Me)	III stepen gojaznosti n=19 Me (95% CI za Me)
sICAM-1 (ng/mL)	200,6 (190,26 - 264,4)	278,5 (219,54 - 343,24)*	329,6 (259,2 - 350,34) **§

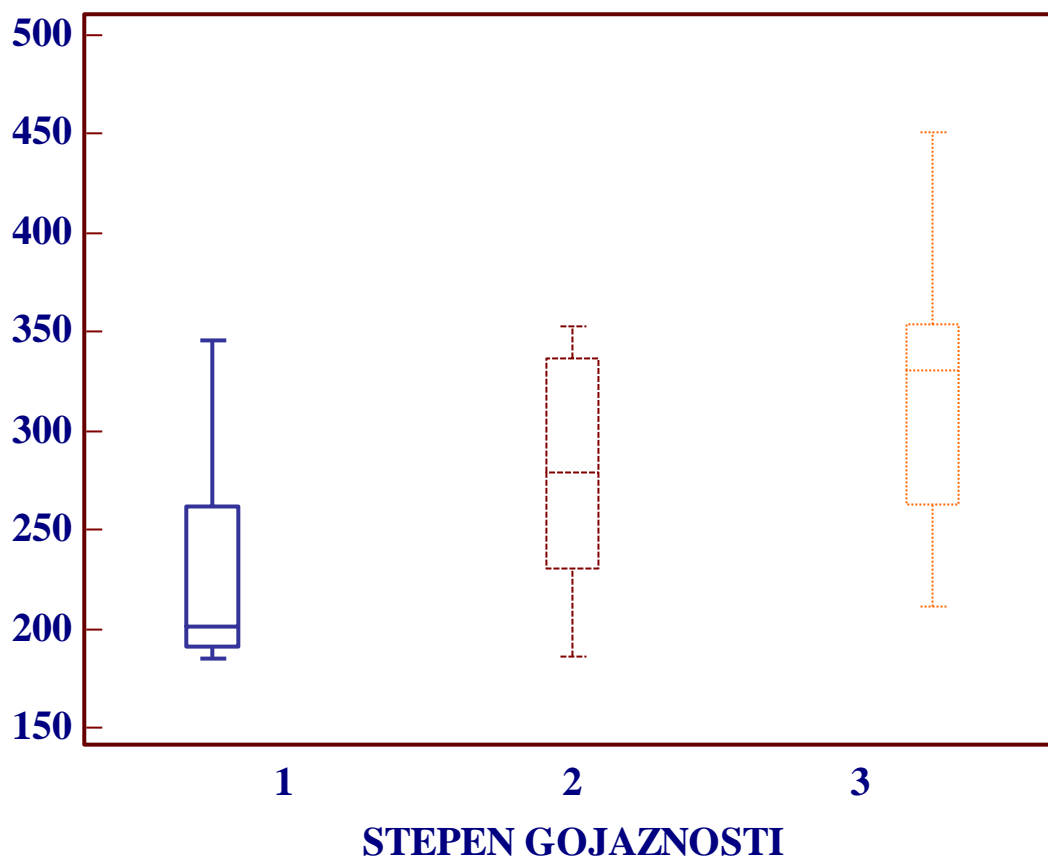
Legenda

* Krushall Walis test, (post hoc test), statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na vrednost u ispitanika I stepena gojaznosti

** Krushall Walis test, (post hoc test), statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na vrednost u ispitanika I stepena gojaznosti

§ Krushall Walis test, (post hoc test), statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u odnosu na vrednost u ispitanika II stepena gojaznosti

Na grafikonu 5 je prikazano da je utvrđena statistički značajna razlika u medijani koncentracije sICAM-1 između ispitanika u I, II I III stepena gojaznosti (200,6 (190,26 - 264,4) vs. 278,5 (219,54 - 343,24) vs. 329,6 (259,2 - 350,34) ng/mL, $P=0,00$)



Grafikon 5. Medijana i interval poverenja za medijanu (95%CI) serumske koncentracije sE-selektina u ispitanjnoj grupi u ispitanika sa I, II I III stepenom gojaznosti

4.2.2. Analiza biomarkera disfunkcije endotela i debljine kompleksa intime medije karotidne arterije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Distribucija određivane IMK i IMK Z skora u ispitivanoj grupi prikazana je u tabeli

22. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da su ispitivani parametri imali normalnu raspodelu.

Tabela 22. Debljina kompleksa intima medija karotidne arterije i vrednost IMK Z skora u ispitivanoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
IMK (μm)	616	105,68	400	800	600	600 - 700	0,25
IMK Z skor	1,18	1,1	-1,2	3,1	1,13	0,85 – 1,84	0,47

Legenda: IMK – debljina kompleksa intima medija karotidne arterije, IMK Z skor IMK – vrednost koje predstavlja odnos izmerene i dobno i polno normalne očekivane vrednosti IMK

Analizom vrednosti IMK Z skora uočeno je da u 36/60 gojaznih ispitanika, vrednosti IMK Z skora su veće od 95 percentila normalno očekivane vrednosti u odnosu na pol I godine života IMK.

Distribucija određivane IMK i IMK Z skora u kontrolnoj grupi prikazana je u Tabeli

23. Shapiro Wilk-ovim testom je utvrđeno da parametri imali normalnu raspodelu.

Tabela 23. Debljina kompleksa intima medija karotidne arterije i vrednost IMK Z skora u kontrolnoj grupi

Parametar	X	SD	Min	Max	Me	95%CI za Me	P*
IMK (μm)	475	85,8	300	600	500	400 - 500	0,14
IMK Z skor	-0,17	0,91	- 2,1	1,71	-0,17	-0,89 – 0,16	0,69

Legenda: IMK – debljina intimomedijalnog kompleksa karotidne arterije, IMK Z skor IMK – vrednost koje predstavlja odnos izmerene i dobno i polno normalne očekivane vrednosti IMK

Analizom vrednosti IMK Z skora, 7 od 30 učesnika u kontrolnoj grupi je imalo odstupanje vrednosti IMK Z skora veće od 95 percentila normalno očekivane vrednosti IMK.

U Tabeli 24 su prikazani rezultati poređenja vrednosti IMK i IMK Z skora između ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti i normalno uhranjenih ispitanika.

Tabela 24. Poređenje vrednosti IMK i IMK Z skora između ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojaznosti i normalno uhranjenih ispitanika.

	Ispitivana grupa n=60 X ± SD	Kontrolna grupa n=30 X ± SD	P
IMK (μm)	616 ± 105,68	475 ± 85,8	0,00*
IMK Z skor	1,18 ± 1,1	-0,17 ± 0,91	0,00*
IMK Z-skor > 1 (n)	36/60	7/40	0,00**

Legenda: IMK – debljina intimomedijalnog kompleksa karotidne arterije, IMK Z skor IMK – vrednost Z skora koje predstavlja odnos izmerene i dobno/polno normalne očekivane vrednosti IMK, IMK Z-skor > 1 - pozitivno odstupanje, veće od 95 - og percentila prosečne vrednosti IMK u zdravoj populaciji; *- T test nezavisnih uzoraka**- χ^2 test nezavisnosti

Tabela 25. Poređenje biomarkera disfunkcije endotela između ispitanika sa IMK Z-skor > 1 i ispitanika kod kojih je IMK Z skor \leq 1

	IMK Z-skor > 1 n=43 Me (95%CI za Me)	IMK Z-skor \leq 1 n=47 Me (95%CI za Me)	P
sE-selektin (ng/mL)	36,4 (32,07 - 43,68)	34,5 (29,58 - 39,25)	0,26
sICAM-1 (ng/mL)	295,4 (238,46 - 340,38)	244,2 (227,35- 260,38)	0,00*

Legenda: sE-selektin – solubilna forma E selektina, sICAM – solubilna forma intercelularnog adhezivnog molekula 1, IMK Z-skor > 1 - pozitivno odstupanje, veće od 95 - og percentila prosečne vrednosti IMK u zdravoj populaciji; *- Mann Withey test

U Tabeli 25 je prikazano da je utvrđena statistički značajna razlika u medijani koncentracije sICAM-1 između ispitanika kod kojih je IMK Z-skor > 1 u odnosu na vrednost medijane u ispitanika kod kojih je IMK Z-skor \leq 1 (295,4 (238,46 - 340,38) vs. 244,2 (227,35- 260,38), P=0.00). Signifikantna razlika u medijani serumske koncentracije sE-selektina između ispitivanih podgrupa gojaznih ispitanika nije uočena (36,4 (32,07 - 43,68) vs.34,5 (29,58 - 39,25), P=0,26).

4.3. KORELACIONA I REGRESIONA ANALIZA IZMEĐU BIOMARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I ANALIZIRANIH PARAMETARA

4.3.1. KORELACIONA ANALIZA IZMEĐU BIOMARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I ANTROPOMETRIJSKIH PARAMETARA

Analizom svih ispitanika uključenih u istraživanje značajne vrednosti koeficijenata korelacije uočene su između koncentracije sE-selektina i antropometrijskih parametara, umerenog stepena sa ITM ($r=0,49$, $P=0,00$), FAT% ($r=0,44$, $P=0,00$), FAT trunk % ($r=0,44$, $P=0,00$), OS ($r=0,51$, $P=0,00$). Utvrđene su korelacije visokog stepena između koncentracije sICAM-1 i ispitivanih antropometrijskih parametara, najvišeg stepena sa ITM ($r=0,74$, $P=0,00$), što je prikazano u tabeli br. 26.

Tabela 26. Koeficijenti korelacije između sE-selektina, sICAM-1 i antropometrijskih parametara, kontrolisani za uticaj pola

	<i>sE-selektin (ng/mL)*</i>		<i>sICAM-1 (ng/mL)*</i>	
	r	p	r	p
<i>ITM (kg/m²)</i>	<i>0,49</i>	<i>0,00</i>	<i>0,74</i>	<i>0,00</i>
<i>FAT (%)</i>	<i>0,44</i>	<i>0,00</i>	<i>0,71</i>	<i>0,00</i>
<i>OS (cm)</i>	<i>0,51</i>	<i>0,00</i>	<i>0,67</i>	<i>0,00</i>
<i>FAT trunk (%)</i>	<i>0,44</i>	<i>0,00</i>	<i>0,68</i>	<i>0,00</i>

Legenda: ITM – Indeks telesne mase, FAT% - Procenat masne mase u telesnoj kompoziciji, OS – obim struka, FAT trunk % - procenat masne mase u abdominalnoj regiji

r - Pearsonov koeficijent korelacije

*Statistički testovi sa log10-transformisanim vrednostima

4.3.2. KORELACIONA ANALIZA IZMEĐU BIOMARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I PARAMETARA METABOLIZMA GLUKOZE

U odnosu na vrednosti glikemije našte nije uočena statistički značajna korelacija sa koncentracijama sE-selektina i sICAM-1.

Tabela 27. Koeficijenti korelacije između sE-selektina, sICAM-1 i parametara metabolizma glukoze, kontrolisani za pol i ITM

	<i>sE-selektin (ng/mL)*</i>		<i>sICAM-1 (ng/mL)*</i>	
	r	p	r	p
<i>Glukoza našte (mmol/L)</i>	0,21	0,06	0,12	0,27
<i>Glukoza 2h (mmol/L)</i>	0,37	0,00	0,31	0,02
<i>Insulin našte (mU/mL)*</i>	0,41	0,00	0,49	0,00
<i>Insulin 2h (mU/mL)*</i>	0,33	0,00	0,44	0,00
<i>HbA1c (mmol/L)</i>	0,33	0,00	0,33	0,00
<i>HOMA-IR*</i>	0,44	0,00	0,52	0,00
<i>HOMA1-%B*</i>	0,32	0,02	0,44	0,00
<i>ISI*</i>	-0,41	0,00	-0,56	0,00

Legenda: Glukoza i glukoza 2h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, Insulin i insulin 2 h – koncentracija insulina u toku oralnog glukoza tolerans testa, HbA1c - glikozilirani hemoglobin, HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ISI - Indeks insulinske senzitivnosti (Stumvoll); r - Pearsonov koeficijent korelacije; *statistički testovi sa log10-transformisanim vrednostima

Posmatrajući rezultate korelacione analize između koncentracije sE-selektina i parametara metabolizma glukoze (Tabela 27) uočena je statistički značajna povezanost umerenog stepena sa insulinemijom našte ($r=0,41$, $P=0,00$) i HOMA-IR ($r=0,44$, $P=0,00$), dok je postojanje negativne korelacije umerenog stepena uočeno sa ISI ($r=-0,41$, $P=0,00$). Takođe, utvrđena je statistički značajna korelacija niskog stepena povezanosti sa vrednostima glukoze ($r=0,37$, $P=0,00$) i insulina ($r=0,33$, $P=0,00$) nakon 2h u toku OGTT i sekretornim indeksom insulina ISI ($r=0,32$, $P=0,00$).

Povezanost umerenog stepena utvrđena je između koncentracije sICAM-1 i insulinemije našte ($r=0,49$, $P=0,00$), insulinemija nakon 2h u toku OGTT ($r=0,44$, $P=0,00$), sekretornim indeksom insulina HOMA1-%B ($r=0,44$, $P=0,00$) i HOMA-IR ($r=0,52$, $P=0,00$), a negativna statistički značajna korelacija je utvrđena sa ISI ($r=-0,56$, $P=0,00$). Osim toga, utvrđena je statistički značajna korelacija niskog stepena povezanosti između sICAM-1 i vrednostima glukoze ($r=0,31$, $P=0,00$) nakon 2h u toku OGTT.

Vrednost koncentracije svakog pojedinačno posmatranog biomarkera, sE-selektina i sICAM-1 je statistički značajno i niskim stepenom bila povezana sa HbA1c ($r=0,33$, $P=0,00$).

4.3.3.KORELACIONA ANALIZA IZMEĐU BIOMARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I PARAMETARA LIPIDSKOG I LIPOPROTEINSKOG STATUSA

Utvrđeno je postojanje statistički značajne korelacije umereno niskog intenziteta između koncentracije sE-selektina i vrednosti triglicerida ($r=0,39$, $P=0,00$), vrednosti HDL holesterola ($r= - 0,37$, $P=0,00$), kao i aterogenog bioindeksa TG/HDL ($r=0,37$, $P=0,00$), što je prikazano u tabeli br. 16. Korelacija niskog stepena je utvrđena između koncentracije sE-selektina i bioindeksa apoB/apoA-I ($r=-0,31$, $P=0,01$).

Tabela 28. Koeficijenti korelacije između sE-selektina, sICAM-1, lipidnih i lipoproteinskih parametara i bioindeksa, kontrolisani za pol i ITM

	<i>sE-selektin (ng/mL)*</i>		<i>sICAM-1 (ng/mL)*</i>	
	r	p	r	p
<i>LDL - holesterol (mmol/L)</i>	0,14	0,67	0,26	0,01
<i>HDL – holesterol (mmol/L)</i>	-0,37	0,00	-0,42	0,00
<i>*Trigliceridi (mmol/L)</i>	0,39	0,00	0,25	0,03
<i>Apo A-I (g/L)</i>	-0,25	0,02	-0,26	0,02
<i>Apo B (g/L)</i>	0,17	0,14	0,21	0,07
<i>*Lp(a) (g/L)</i>	0,16	0,14	0,14	0,17
<i>*TG/HDL-H</i>	0,37	0,00	0,31	0,00
<i>ApoB/apoA-I</i>	0,31	0,01	0,36	0,00

Legenda: TG – trigliceridi, HDL - H – HDL holesterol, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoprotein B

r - Pearsonov koeficijent korelacije,*Statistički testovi sa log10-transformisanim vrednostima

Uočeno je (Tabela 28) da je koncentracija sICAM-1 imala statistički značajnu inverznu korelaciju umerenog intenziteta povezanosti sa vrednostima HDL holesterola ($r= - 0,42$, $P=0,00$) i nisko umerenu statistički značajnu povezanost sa odnosom apoB/apoA-I ($r=0,36$, $P=0,00$).

4.3.4.KORELACIONA ANALIZA IZMEĐU BIOMARKERA DISFUNKCIJE ENDOTELA I PARAMETARA INFLAMACIJE

Visoko umerena statistički značajna povezanost je utvrđena između koncentracije sE-selektina i vrednosti hsCRP-a ($r=0,59$, $P=0,00$), kao i umerena povezanost sa vrednostima fibrinogena ($r= 0,38$, $P=0,00$). Statistički značajna i umerena povezanost je uočena između koncentracije sICAM-1 i hsCRP ($r= 0,39$, $P=0,00$) i fibrinogena ($r= 0,39$, $P=0,00$).

Tabela 29. Koeficijenti korelacije između sE-selektina, sICAM-1 i parametara inflamacije, kontrolisani za pol i ITM

	<i>sE-selektin (ng/mL)*</i>		<i>sICAM-1 (ng/mL)*</i>	
	r	p	r	p
<i>Leukociti (n)</i>	0,12	0,26	0,11	0,32
<i>Neutrofili/limfociti (n)</i>	0,28	0,01	0,27	0,00
<i>hsCRP (mg/L)*</i>	0,59	0,00	0,39	0,00
<i>Fibrinogen (g/L)</i>	0,38	0,00	0,39	0,00

Legenda: r - Pearsonov koeficijent korelacije,*Statistički testovi sa log10-transformisanim vrednostima

Osim toga, korelacionom analizom između biomarkera disfunkcije endotela i drugih biohemijskih parametara uočena je statistički značajna korelacija niskog stepena povezanosti između sE-selektina i mokraćne kiseline ($r=0,29$, $P=0,00$), kao i između sICAM-1 i mokraćne kiseline ($r=0,22$, $P=0,04$). Nije utvrđena statistički značajna korelacija između koncentracija homocisteina i biomarkera disfunkcije endotela.

4.3.5. REGRESIONA ANALIZA IZMEĐU KONCENTRACIJE *sE-selektina* i ISPITIVANIH PARAMETARA

Tabela 30. Multipla linearna regresiona analiza nezavisne povezanosti serumske koncentracije sE-selektina sa ispitivanim parametrima

	<i>sE-selektin (ng/mL)</i>	
	R ² =0,71 Korigovani R ² =0,59	
	β	p
<i>ITM (kg/m²)</i>	0,22	0,94
<i>OS (cm)</i>	0,189	0,62
<i>Glukoza 2h (mmol/L)</i>	0,323	0,12
<i>Insulin našte (mU/mL)</i>	0,433	0,31
<i>Insulin 2h (mU/mL)</i>	0,054	0,84
<i>HOMA-IR</i>	0,443	0,035
<i>HOMA1-%B</i>	0,24	0,22
<i>ISI</i>	-0,36	0,028
<i>Trigliceridi (mmol/L)</i>	0,20	0,59
<i>HDL – H (mmol/L)</i>	-0,02	0,92
<i>TG/HDL-H</i>	0,32	0,41
<i>ApoB/apoA-I</i>	0,04	0,77
<i>hsCRP (mg/L)</i>	0,45	0,00
<i>Fibrinogen (g/L)</i>	0,22	0,11

Legenda: ITM – Indeks telesne mase, OS – obim struka, Glukoza 2h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, Insulin i insulin 2 h – koncentracija insulin u toku oralnog glukoza tolerans testa, HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ISI – Indeks insulinske senzitivnosti (Stumvoll), TG – trigliceridi, HDL – H – HDL holesterol, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoprotein B; R² – koeficijent determinacije koji govori o procentu varijacija zavisne promenljive koji je objašnjen regresionim modelom; Korigovani R² – koeficijent determinacije koji je usklađen sa brojem nezavisnih promenljivih uključenih u model; β – vrednosti regresionog koeficijenta

U cilju identifikacije nezavisnih determinanti serumske koncentracije sE-selektina urađena je multipla linearna regresiona analiza (postepeni engl. Stepwise metod), kontrolisana za uticaj pola. Rezultati su prikazani u Tabeli 30. U modelu ($R^2=0,71$, korigovani $R^2=0,59$) izdvojili su se parametri hsCRP ($\beta=0,45$, $P=0,00$), HOMA-IR ($\beta=0,44$, $P=0,035$) i ISI ($\beta= - 0,36$, $P=0,028$) koji su ostali u nezavisnoj korelaciji sa koncentracijom sE-selektina i za koje su su dobijene statistički značajne vrednosti regresionog koeficijenta β . Izdvojeni parametri značajno doprinose, odnosno određuju vrednost zavisne promenljive, što je u ovom slučaju serumska koncentracija sE-selektina.

4.3.6. REGRESIONA ANALIZA IZMEĐU KONCENTRACIJE *sICAM-1* I ISPITIVANIH PARAMETARA

Tabela 31. Multipla linearna regresiona analiza nezavisne povezanosti serumske koncentracije *sICAM-1* sa ispitivanim parametrima

	<i>sICAM-1</i> (ng/mL)	
	R ² =0,65	
	Korigovani R ² =0,56	
	β	p
<i>ITM</i> (kg/m²)	0,55	0,00
<i>OS</i> (cm)	0,32	0,34
<i>Glukoza 2h</i> (mmol/L)	0,18	0,35
<i>Insulin našte</i> (mU/mL)	0,11	0,76
<i>Insulin 2h</i> (mU/mL)	0,18	0,45
<i>HOMA-IR</i>	0,86	0,09
<i>HOMA1-%B</i>	0,12	0,45
<i>ISI</i>	-0,24	0,34
<i>Trigliceridi</i> (mmol/L)	0,30	0,00
<i>HDL – H</i> (mmol/L)	-0,31	0,01
<i>TG/HDL-H</i>	0,33	0,01
<i>ApoB/apoA-I</i>	0,31	0,26
<i>hsCRP</i> (mg/L)	0,34	0,00
<i>Fibrinogen</i> (g/L)	0,31	0,00

Legenda: ITM – Indeks telesne mase, OS – obim struka, Glukoza 2h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, Insulin i insulin 2 h – koncentracija oru se u toku oralnog glukoza tolerans testa, HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ISI – Indeks insulinske senzitivnosti (Stumvoll), MCR – Metabolički klirens insulina (Stumvoll), TG – trigliceridi, HDL – H – HDL holesterol, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoprotein B; R² – koeficijent determinacije koji govori o procentu varijacija zavisne promenljive koji je objašnjen regresionim modelom; Korigovani R² – koeficijent determinacije koji je usklađen sa brojem nezavisnih promenljivih uključenih u model; β – vrednosti regresionog koeficijenta

U cilju identifikacije nezavisnih determinanti serumske koncentracije sICAM-1 urađena je multipla linearna regresiona analiza (postepeni engl. Stepwise metod), kontrolisana za uticaj pola. Rezultati su prikazani u Tabeli 31. U modelu ($R^2=0,65$, korigovani $R^2=0,56$) izdvojili su se parametri ITM ($\beta=0,55$, $p=0,00$), trigliceridi ($\beta=0,30$, $P=0,00$), HDL holesterol ($\beta=-0,31$, $P=0,00$), odnos TG/HDL-holesterol ($\beta=-0,33$, $P=0,01$), hsCRP ($\beta=0,31$, $P=0,00$) i fibrinogen ($\beta=0,34$, $P=0,00$) koji su ostali u nezavisnoj korelaciji sa koncentracijom sICAM-1 a i za koje su dobijene statistički značajne vrednosti regresionog koeficijenta β . Izdvojeni parametri značajno doprinose, odnosno određuju vrednost zavisne promenljive, što je u ovom slučaju serumska koncentracija sICAM-1.

4.4. FAKTORSKA ANALIZA

Analiza je sprovedena u četiri koraka: izračunavanje korelacione matrice, ekstrakcija faktora, rotacija faktora i izračunavanje faktorskih skorova. Bartlett-ovim testom sferičnosti ispitano je da li je korelaciona matrica ($4,24 \times 10^{-5}$) pogodna za izvođenje faktorske analize. U ovom slučaju je dobijena χ^2 vrednost od 2274.970 ($p < 0,0001$), što je značilo da korelaciona matrica može da se koristi za faktorsku analizu. Adekvatnost veličine uzorka za faktorsku analizu, ispitana je Kaiser- Meyer-Olkin-ovom statistikom. Vrednost Kajzer-Mejer-Oklinovog koeficijenta reprezentativnosti je iznosio 0.72 iz čega se moglo zaključiti da je uzorak varijabli pogodan za faktorsku analizu (Tabela 32)

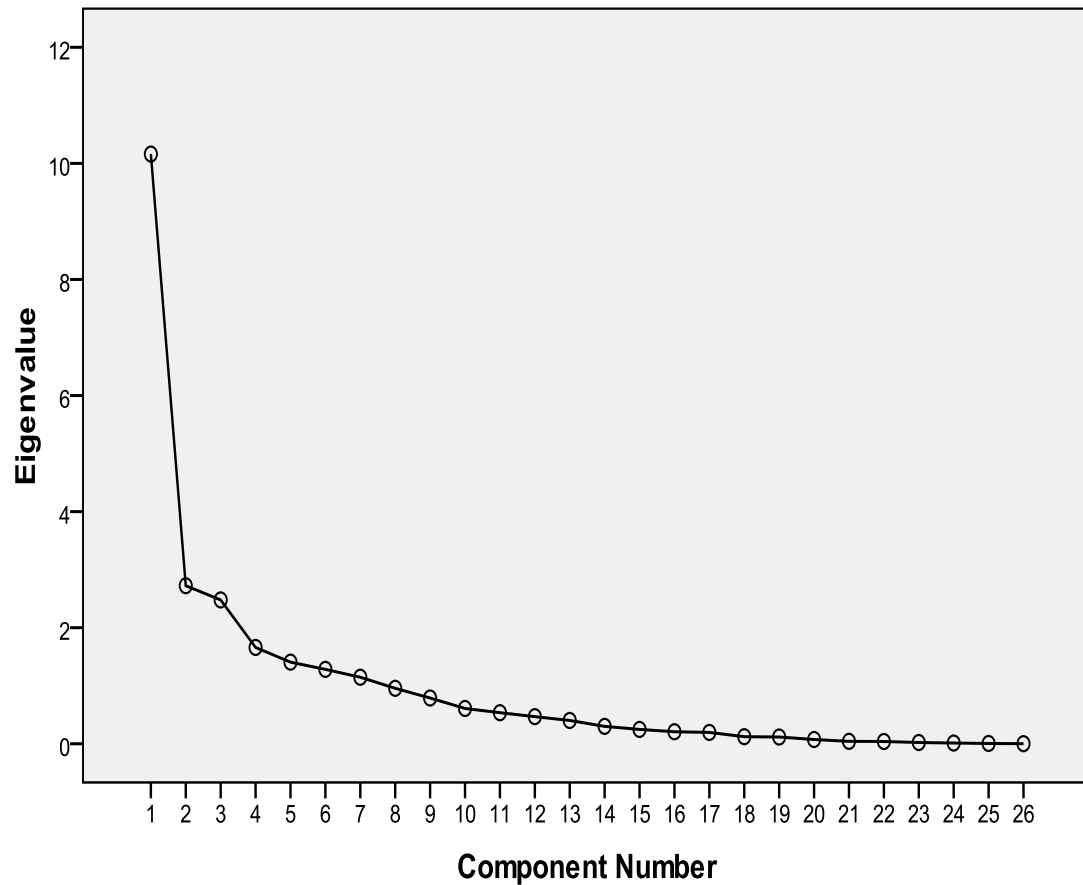
Tabela 32. Bartlett-ov test sferičnosti i Kajzer-Mejer-Oklinov koeficijent reprezentativnosti

Kaiser-Meyer-Olkin Measure of Sampling Adequacy		.721
Bartlett's Test of Sphericity	Approx. Chi-Square	2274.970
	df	406
	Sig.	.000

Po kriterijumu jedinice koji se pripisuju Guttmanu i Kaiseru, zaključeno je da je značajno 7 faktora čiji je karakteristični koren veći od jedan. Karakteristični koren (eng. *eigenvalue*) predstavlja relativnu snagu svakog od izdvojenih faktora, odnosno deo ukupne varijacije ispitivanih parametara koji se objašnjava zbirnim faktorom koji ih obuhvata. Uloga faktora u objašnjenju varijabilnosti kompletnog seta podataka je veća što je vrednost karakterističnog korena veća. Faktor je obuhvatio ispitivane parametre sa koeficijentom korelacije između faktora i promenljive od $\geq 0,30$. Sprovedeno je više faktorskih rešenja sa različitim rotacijama i brojem faktora, a rešenje sa 5 faktora i Promax rotacijom je zadržano (Prilog 2)

Scree test takođe je pokazao postojanje pet faktora u ispitivanom uzorku (grafikon 5).

Scree Plot



Grafikon 5. Dijagram karakteristične vrednosti za kriterijum scree testa

x-osa – broj faktora

y-osa – latentni koren (karakteristična vrednost)

Faktorskom analizom je na osnovu navedenih kriterijuma od 29 polaznih parametara (Prilog 2) identifikovano je 5 faktora – glavnih komponenti. Ekstrahovani faktori objašnjavaju 69.72% ukupne objašnjene varijanse. Prvi ekstrahovani faktor A koji je nazvan **GOJAZNOST** objašnjava 38,75% ukupne varijanse i objedinjuje deset promenljivih, sve sa pozitivnim koeficijentom korelacije (Tabela 33). Priroda veze između skora parametra i faktorskog skora kod učesnika u ispitivanju je označena predznakom koeficijenta korelacije faktora i parametra. Faktorski skor predstavlja relativni doprinos svih parametara koji ga predstavljaju. U slučaju da je koeficijent korelacije negativan, to znači da će kod osobe sa visokim skorom parametra faktorski skor biti nizak.

Tabela 33. **FAKTOR A – GOJAZNOST** identifikovan faktorskom analizom na osnovu koeficijenata korelacije između faktora i parametra (*factor loading*) $\geq 0,30$

Parametar	GOJAZNOST
FAT trunk (%)	0.997
FAT (%)	0.960
OS (cm)	0.817
ITM (kg/m ²)	0.785
LDL – holesterol (mmol/L)	0.671
SP (mmHg)	0.627
HOMA1-%B	0.577
Fibrinogen (g/L)	0.424
ApoB/apoA-I	0.393
hsCRP (mg/L)	0.366

Legenda : FAT trunk % - procenat masne mase u abdominalnoj regiji, FAT% - Procenat masne mase u telesnoj kompoziciji, OS – obim struka, ITM – Indeks telesne mase, SP- sistolni pritisak, HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoprotein B

Drugi ekstrahovani faktor B koji je nazvan **INSULINSKA REZISTENCIJA** objašnjava 10.51 % ukupne varijanse i objedinjuje četiri promenljive, tri u pozitivnoj korelaciji sa faktorom, i indeks insulinske senzitivnosti, ISI, koji je u negativnoj korelaciji sa faktorom (Tabela 34).

Tabela 34. **FAKTOR B – INSULINSKA REZISTENCIJA** identifikovan faktorskom analizom na osnovu koeficijenata korelacije između faktora i parametra (factor loading) $\geq 0,30$

Parametar	INSULINSKA REZISTENCIJA
ISI	-0.904
Insulin našte (mU/mL)	0.853
HOMA-IR	0.852
Insulin 2h (mU/mL)	0.767

Legenda: ISI – Indeks insulinske senzitivnosti ($\text{Stumvoll} - \mu\text{mol} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1} \times \text{pmol/l}$), HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), glukoza 2h i insulin 2 h – koncentracija glukoze insulin u toku oralnog glukoza tolerans test

Treći ekstrahovani faktor C koji je nazvan **ATEROGENI FAKTOR** objašnjava 9,02 % ukupne varijanse i objedinjuje osam promjenljivih gde su svi u pozitivnoj korelaciji sa faktorom (Tabela 35).

Tabela 35. **FAKTOR C – ATEROGENI FAKTOR** identifikovan faktorskom analizom na osnovu koeficijenata korelacije između faktora i parametra (factor loading) $\geq 0,30$

Parametar	ATEROGENI FAKTOR
Glukoza našte (mmol/L)	0.773
HbA1c (mmol/L)	0.735
Glukoza 2h (mmol/L)	0.688
Neutrofili/limfociti odnos	0.670
ApoB/apoA-I	0.671
Lp(a) (g/L)	0.634
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	0.541
TG/HDL-H	0.460

Legenda Glukoza našte i glukoza 2 h – koncentracija glukoze u toku oralnog glukoza tolerans testa, HbA1c – glikozilirani hemoglobin, apo A-I – apolipoprotein A-I, apo B – apolipoprotein B, TG – trigliceridi, HDL – H –HDL holesterol

Četvrti ekstrahovani faktor D koji je nazvan **VASKULARNA INFLAMACIJA I ENDOTELNA DISFUNKCIJA** objašnjava 6,39 % ukupne varijanse i objedinjuje tri promenjive u pozitivnoj korelaciji sa faktorom (Tabela 36)

Tabela 36. **FAKTOR D – VASKULARNA INFLAMACIJA I DISFUNKCIJA ENDOTELE** identifikovan faktorskom analizom na osnovu koeficijenata korelacije između faktora i parametra (factor loading) $\geq 0,30$

Parametar	VASKULARNA INFLAMACIJA I DISFUNKCIJA ENDOTELE
sE-selektin (ng/mL)	0.718
sICAM-1 (ng/mL)	0.683
hsCRP (mg/L)	0.456

Legenda sE-selektin – solubilna forma E selektina , sICAM-1– solubilna forma intercelularnog adhezivnog molekula 1, hsCRP – visoko osetljivi C reaktivni protein

Peti ekstrahovani faktor E koji je nazvan **METABOLIČKI FAKTOR** objašnjava 5,04 % ukupne varijanse i objedinjuje dve promenjive gde je odnos AST/ALT u negativnoj korelaciji sa faktorom (Tabela 37).

Tabela 37. **FAKTOR E – METABOLIČKI FAKTOR** identifikovan faktorskom analizom na osnovu koeficijenata korelacije između faktora i parametra (factor loading) $\geq 0,30$

Parametar	METABOLIČKI FAKTOR
Mokraćna kiselina	0.681
AST/ALT	-0.404

Veza između faktora, izdvojenih iz velike grupe antropometrijskih parametara, parametara metabolizma glukoze, lipidskog i lipoproteinskog statusa, homocisteina, inflamatornih i biomarkera disfunkcije endotela, ispitana je logističkom regresijom. Prediktivni potencijal faktorskih skorova (koji se izračunavaju u okviru faktorske analize za svakog od učesnika i za svaki od faktora) za vrednosti IMK Z skora >1 , odnosno vrednostima IMK koje su iznad 97,5 percentila normalno očekivanih vrednosti u zdravoj populaciji, ispitani su u sklopu multivarijabilnog modela sa svim faktorima zajedno. Ovim modelom je objašnjeno ukupno 75% varijanse (Tabela 38).

Tabela 38. Logistička regresiona analiza povezanosti faktorskih skorova sa supkliničkom formom ateroskleroze na osnovu patološke vrednosti IMK Z skora

	<i>IMK Z skor >1</i>		
<i>FAKTOR</i>	<i>Odds ratio</i>	<i>95% CI</i>	<i>P</i>
<i>Gojaznost</i>	<i>2,74</i>	<i>1,18-6,33</i>	<i>0,019</i>
Insulinska rezistencija	1,26	0,57-2,76	0,558
Aterogeni faktor	0,64	0,32-1,23	0,181
Disfunkcija endotela	0,93	0,48-1,78	0,837
Metabolički faktor	0,90	0,46-1,74	0,763

Prilikom ispitivanja uticaja izdvojenih faktora na rizik od postojanja supkliničke forme ateroskleroze (IMK iznad 97,5 percentila od normalno očekivanih vrednosti u zdravoj populaciji), zapažamo da OR iznosio 2,74 (CI 1,18-6,33) za faktor GOJAZNOST. Osim toga, rezultati regresione analize ukazuju da pojedinačni uticaj faktora insulinska rezistencija, aterogenog faktora, disfunkcija endotela i metaboličkog faktora, nema statistički značajan uticaj na IMK Z skor >1 u ispitivanom uzorku.

Prediktivni potencijal pojedinačnih parametara objedinjenih u faktoru GOJAZNOST za patološku vrednosti IMK Z skora, ispitani su univarijantnom logističkom regresionom analizom, što je prikazano u tabeli br. 39.

Tabela 39. Logistička regresiona analiza povezanosti pojedinačnih parametara u faktoru GOJAZNOST sa supkliničkičkom formom ateroskleroze na osnovu IMK Z skora >1

	IMK Z SKOR >1		
<i>PARAMETAR</i>	<i>Odds ratio</i>	<i>95% CI</i>	<i>P</i>
FAT trunk (%)	0,82	0,54-1,3	0,35
FAT %	0,47	0,75-1,8	0,47
OS (cm)	0,21	0,91-1,4	0,20
ITM (kg/m ²)	0,67	0,36-1,23	0,22
LDL – holesterol (mmol/L)	5,3	1,9-14,2	0,02
Fibrinogen (g/L)	1,1	0,4-2,4	0,27
hsCRP (mg/L)	2,53	1,3-3,98	0,017
SP (mmHg)	1,12	0,94-1,33	0,09
HOMA1-%B	1,01	0,94-1,02	0,31
ApoB/apoA-I	1,25	1,01 – 2,56	0,21
Godine	0,92	0,65-1,25	0,59
Pol (ženski)	0,04	0,02-1,23	0,64

Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na rizik od postojanja supkliničkog stadijuma ateroskleroze, zapažamo da je za koncentraciju LDL holesterola OR iznosio 5,3 (CI 1,9 – 14,2) odnosno povećanje koncentracije LDL holesterola petostruko povećava rizik od supkliničke forme ateroskleroze. U odnosu na hsCRP uočeno je da OR iznosi 2,53 (CI 1,3 – 3,98), povećanje koncentracije hsCRP-a dvostruko povećava rizik od supkliničke forme ateroskleroze u ispitanom uzorku.

5. DISKUSIJA

Gojaznost je hronično metaboličko oboljenje i predstavlja modifikabilni faktor rizika za aterosklerozu (204). Brojne epidemiološke studije ukazale su na multifaktorijalnu etiologiju ateroskleroze, kao i da kombinacija naslednih i stečenih faktora rizika dovodi do klinički manifestne kardiovaskularne bolesti. Takođe, kako svaki individualni faktor rizika ima različitu prediktivnu vrednost, potraga za novim parametrima koji bi unaprediti identifikaciju individua pod rizikom je kontinuirana (205-208). U prilog tome od posebnog značaja su cirkulišući biomarkeri i neinvazivne vizuelizacione tehnike u proceni stadijuma aterosklerotskog procesa, omogućujući ranu identifikaciju asimptomatskih stadijuma bolesti (209,210).

Poznato je da je disfunkcija vaskularnog endotela, fenotipska modulacija funkciono intaktnog endotela prema proinflamatornom, prokoagulantnom i vazokonstriktivnom fenotipu predstavlja rani događaj u patofiziološkom kontinuumu aterosklerotskog procesa (7). Produženo izlaganje vaskularnog endotela klasičnim i faktorima rizika za aterosklerozu povezanim sa gojaznosti promoviše fenotipsku konverziju vaskularnog endotela i može doprineti kliničkoj manifestaciji ateroskleroze. Poslednjih godina pored insulinske rezistencije i dislipidemije, posebno interesovanje usmereno je na postojanje hronične inflamacije niskog stepena koja primarno može nastane u disfunkcionalnim masnim depozitima, i kao takva može da ima značajnu ulogu u patogenezi ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti (65-69). Stanje hronične inflamacije niskog stepena u gojaznosti uključuje većinu komponenti klasičnog inflamatornog odgovora, pa i fenotipsku konverziju endotelnih ćelija u aktivnu formu sa posledičnom interakcijom između cirkulirajućih leukocita i vaskularnog endotela. Iako je gojaznost povezana sa akceliranim aterosklerozom i povećanim rizikom za kardiovaskularne događaje, neke gojazne osobe ipak imaju povoljne fenotipske metaboličke i inflamatorne karakteristike (211-213). U tom smislu i klinička

manifestacija endotelnog fenotipa pored ravnoteže između faktora rizika i protektivnih mehanizama može da zavisi od fenotipskih osobnosti gojaznih osoba (telesna kompozicija i distribucija masnog tkiva, metabolički i inflamatorni profil).

Kako je ovo istraživanje za osnovi cilj imalo da ispita uticaj gojaznosti (uvećanog udela masne mase u ukupnoj telesnoj masi) na proinflamatorne fenotipske karakteristike vaskularnog endotela i supklinički stadijum aterosklerotske bolesti, analizom su obuhvaćeni ispitanici kod kojih je kliničkim i laboratorijskim ispitivanjem ustanovljen hiperalimentacioni tip gojaznosti, kao i normalno uhranjeni zdravi ispitanici. Prilikom uključivanja ispitanika u studiju posebna pažnja je posvećena identifikaciji poznatih faktora rizika za endotelnu disfunkciju. Odabir ispitanika omogućio je sagledavanje pojedinih fenotipskih karakteristika gojaznih individua, bez uticaja pušenja, povišenog krvnog pritiska, komorbiditeta, medikamenata sa poznatim dejstvom na nivoe adhezivnih molekula, i drugih poznatih faktora koji bi mogli da utiču na nivoe cirkulišućih biomarkera u krvi. Takođe, kako je nivo fizičke aktivnosti od značaja za fenotipski status vaskularnog endotela, svi ispitanici uključeni u studiju nisu imali promene u nivou fizičke aktivnosti u poslednja tri meseca. Ispitanici su vodili sedanterni način života.

U ovom istraživanju proučavana su dva različita solubilna adhezivna molekula, jedan iz grupe superfamilije imunoglobulina [ICAM-1 (CD54)] i jedan iz grupe selektina [Eselektin (ELAM-1, CD62E)]. Rezultati našeg ispitivanja govore da gojazni ispitanici imaju signifikatno više nivoe cirkulišućih biomarkera disfunkcije endotela, sE-selektina i sICAM-1 u odnosu na normalno uhranjene ispitanike (Tabela 18 i 19).

Oblici adhezivnih molekula su prisutni u krvi u solubilnom, biološki aktivnom obliku. Kako su adhezivni molekuli neophodni za leukocitno/endotelnu interakciju u proinflamatornoj fenotipskoj konverziji endotela, određivanje cirkulišućih solubilnih formi u velikoj meri odražava njihovu ekspresiju na endotelnim ćelijama. Osim toga, merenjem

koncentracije ovih biomarkera direktno procenjujemo stanje endotelne funkcije, s obzirom da je endotel najvažnija determinantna njihovog nivoa u krvi. S tim u vezi, važno je naglasti da endotel u mikrokrocirkulaciji pokriva 98 % ukupne vaskularne površine. Iako cirkulušući nivoi sE-selektina i sICAM-1 mogu da zavise od brojnih faktora, smatra se da imaju veliki značaj u utvrđivanju proinflatornog fenotipa vaskularnog endotela, kao i da sadrže bitan prediktivni potencijal u odnosu na kliničku manifestaciju dijabetes melitusa tipa II i pojedinih kardiovaskularnih oboljenja (214-216).

Ispitanici u našoj studiji su bili srednje životne dobi, bez signifikantne razlike u godinama života između ispitivane i kontrolne grupe. U ispitivanoj grupi medijana godina života je bila 37 (29-43) godine, a u kontrolnoj grupi medijana godina života je iznosila 36 (30-42) godina. Ovakav odabir starosne strukture ispitanike proizilazi iz saznanja o mogućem uticaju godina života na fenotipske osobine vaskularnog endotela. Rezultati drugih studija ukazuju na uticaj godina života na pojedine fenotipske karakteristike endotela, koje se mogu odraziti i na nivoe solubilnih formi adhezivnih molekula (217). Senilne promene (slabljenje sposobnosti vazodilatacije, porast reaktivnih kiseoničnih radikala i oksidativnog stresa, smanjenje regenerativnog kapaciteta praćen povećanjem apoptoze endotelnih ćelija, uticaj inflamacije na indukciju gena za adhezivne molekule) postepeno dovode do konverzije od anti ka proaterosklerotičnom fenotipu vaskularnog endotela (218). Iako je nivo sE-selektina i sICAM-1 relativno konstantan u studiji koja je analizirala uzorak od 493 zdravih individua uzrasta od 18-55 godina, ipak su u pojedinim istraživanjima uočene razlike u nivoima sICAM-1 kod muškaraca mlađim od 40 godina i onih koji su stariji od 55 godina (219,220). U odnosu na polnu strukturu, u našoj studiji je više bio zastupljen ženski pol, 66% u ispitivanoj grupi gojaznih i 75% u kontrolnoj grupi normalno uhranjenih žena. Predominacija ženskog pola u uzorku ispitivanih bolesnika je u saglasnosti sa literaturnim podacima po kojima su žene u srednjim godinama češće gojazne u odnosu na muškarce (4,15). U

pojedininim studijama koje su analizirale nivo adhezionih molekula u zdravih ispitanika, nisu uočene signifikatne razlike između polova, za razliku od drugih studija kod kojih je nivo adhezionih molekula bio viši kod muškaraca nego kod žena (219 – 222).

Smatra se da su faktori rizika za disfunkciju vaskularnog endotela povezani sa telesnom kompozicijom (udjelom masne mase u ukupnoj telesnoj masi i distribucijom masnih depoa), metaboličkim i inflamatornim fenotipskim karakteristikama gojaznih osoba (223,224). Zbog toga su u okviru kliničkih i laboratorijskih pokazatelja ispitanika, pored analize telesne kompozicije na prvom mestu, a potom i svakog pojedinačnog parametra, kao i faktora rizika izdvojeni insulinska rezistencija, proaterogeni dislipidemični profil, proinflamatorno stanje i supklinička forma ateroskleroze. U daljem toku ispitivanja ustanovljeno je da je njihova zastupljenost, očekivano bila značajno češća u grupi gojaznih ispitanika, u poređenju sa kontrolnom grupom.

Rezultati ispitivanja govore u prilog kompleksne etiologije gojaznosti kao oboljenja, a udruženo prisustvo većeg broja faktora rizika može da ukazuje na multifaktorijalnu etiologiju disfunkcije vaskularnog endotela u ispitivanom uzorku. Daljom korelacionom i regresionom analizom između pojedinih parametara i koncentracije solubilne forme adhezionih molekula pokušali smo da utvrdimo njihovu međusobnu povezanost.

Analizom telesne kompozicije uočeno je da su gojazni ispitanici pored povišene vrednosti udela masnog tkiva u ukupnoj telesnoj masi imali i visoki procenat abdominalno raspoređenog masnog tkiva u odnosu na normalno uhranjene ispitanike (Tabela 4). Postojanje centralnog (abdominalnog) tipa gojaznosti je povezano sa povećanom incidencijom kardiovaskularnih oboljenja (224,225,226), s obzirom da je ovaj tip gojaznosti udružen sa metaboličkim poremećajima insulinskom rezistencijom, šećernom bolesti tipa 2 i dislipidemijom, a što je uz arterijsku hipertenziju obuhvaćeno u okviru metaboličkog sindroma (145). Koncept kardiometaboličkog rizika predstavlja ukupan rizik od

kardiovaskularnih bolesti, kao rezultat udruženog dejstva komponenata metaboličkog sindroma, tradicionalnih kardiovaskularnih faktora rizika, ali i drugih nepoznatih rizika (uključujući genetske faktore koji se u najvećem broju slučajeva ne mogu identifikovati). Sa druge strane, periferni (ginoidni) tip gojznosti prvenstveno je udružen sa komplikacijama u vidu bolesti respiratornog, gastrointestinalnog, nervnog i kožnog porekla, kao i povećanoj sklonosti ka razvoju maligniteta i drugim. Ovaj tip gojznosti je uglavnom vezan za žene i najčešće se porast masne mase u ovim depozitima vezuje sa povoljnijim kardiometaboličkim profilom (82, 86). Ipak, prema aktuelnim saznanjima i periferni tip gojznosti se povezuje sa povećanim kardiometaboličkim rizikom, s obzirom da subkutani masni depoziti predstavljaju glavni izvor metaboličkih stresora SMK (87,228).

U našem ispitivanju, u svih ispitanika, uočena je značajna korelacija između analiziranih antropometrijskih parametara i cirkulišućih nivoa sE-selektina i sICAM-1 (Tabela 26), ali i pojedine različitosti u stepenu korelacije između antropometrijskih parametara i svakog pojedinačno analiziranog biomarkera. Naši rezultati govore o umerenom stepenu povezanosti između antropometrijskih parametara i nivoa sE-selektina, odnosno o mogućem uticaju kako uvećane masne mase tako i lokalizacije masnih naslaga u abdominalnoj regiji na nivoe sE-selektina u ispitivanom uzorku. Ipak, u našem ispitivanju najviši stepen korelacije u odnosu na antropometrijske parametre je uočen između nivoa sE-selektina i obima struka, što može govoriti o značaju odnosa abdominalne gojznosti i proinflatornog fenotipa vaskularnog endotela. Pored rezultata drugih studija koje su uočile značaj uticaja uvećanja masne mase i distribucije masnog tkiva na nivoe sE-selektina kod gojznih osoba (228,229), u pojedinim interventnim studijama je uočeno da redukcija telesne mase značajno doprinosi smanjenju cirkulišućih nivoa sE-selektina (230). U studijama koje su pratile trend nivoa sE-selektina nakon hirurških metoda lečenja gojznosti i redukcije telesne mase uočen je signifikantni pad nivoa u periodu nakon 6 i 12 meseci od hirurškog

lečenja što ukazuje na značaj redukcije telesne mase u dugoročnom oporavku endotelne funkcije u gojaznih ispitanika (231). Takođe, pojedine studije su ispitivale razlike u ekspresiji mRNA za E selektin u odnosu na lokalizaciju depoa masnog tkiva u telu, pri čemu su rezultati autora u najvećem broju usaglašeni i ukazuju da nema signifikantne razlike u ekspresiji E selektina između visceralnih i subkutanih depoa masnog tkiva (229,232,233). U prilog tome su i saznanja da je vaskularni endotel glavna determinatna cirkulišućih nivoa sE-selektina u krvi (149). Stoga, rezultati našeg ispitivanja koji govore o povezanosti obima struka i nivoa sE-selektina ističu mogući uticaj abdominalne gojaznosti na fenotipske osobine vaskularnog endotela u ispitivanom uzorku. Pored toga, naša je pretpostavka da sekretorna endokrina i parakrina aktivnost masnog tkiva u visceralnim depovima može da bude u patogenetskoj osnovi povezanosti ovih parametara. Nemogućnost evaluacije sekretornog profila visceralnog adipokinoma smatramo jednim od nedostataka naše studije.

U daljem toku studije, nivo sE-selektina je analiziran u odnosu na stepen gojaznosti. Iako je uočen trend porasta nivoa sE-selektina sa porastom stepena gojaznosti, signifikantne razlike u nivou sE-selektina nisu uočene između ispitanika sa I i II stepenom gojaznosti (Tabela 20). Uzevši u obzir da je uvećanje masne mase u ukupnoj telesnoj masi kao osnovna determinatna porasta stepena gojaznosti samo jedan od faktora koji može da utiče na nivoe sE-selektina, prisustvo drugih faktora rizika mogu da budu u osnovi izostanka linearnog trenda porasta nivoa sE-selektina i stepena gojaznosti.

Pored signifikantno viših nivoa sICAM-1 u ispitivanoj grupi gojaznih u odnosu na negojazne ispitanike, uočili smo linearni trend porasta nivoa sICAM-1 sa rastom stepena gojaznosti, uz signifikantne razlike u nivou biomarkera između podgrupa gojaznih ispitanika (Tabela 21). Takođe, uočene su korelacije visokog stepena (Tabela 26) između nivoa sICAM-1 i ispitivanih antropometrijskih parametara (korelacija je mera tendencije da se promena jedne promenljive oslika promenom druge). Naši rezultati su u najvećoj meri u saglasnosti sa

rezultatima drugih studija koje su ispitivale nivoe sICAM-1 u gojaznih osoba (149,182,222). Ipak u pojedinim studijama koje su analizirale nivoe sICAM-1 u gojaznih ispitanika, ispitivani uzorak je bila populacija starije životne dobi sa pridruženom arterijskom hipertenzijom, što zbog mogućeg uticaja na nivoe sICAM-1 otežava komparacija rezultata naše studije sa pomenutim (233).

Takođe, postoje saznanja o pojedinim specifičnostima adhezionih molekula, razlikama u aktivaciji, specifičnim predominantnim izvorima njihove ekspresije i sekrecije (produkcije) (7,149,231,232). U studijama koje se ispitivale ekspresiju adhezionih molekula u humanim tkivima, uočeno je da i masno tkivo može biti potencijalni izvor cirkulišućih nivoa adhezionih molekula u gojaznih osoba . U prilog tome su saznanja da nivoi sICAM-1 mogu da reflektuju ne samo proinflatornu aktivaciju endotelnih ćelija u mikrocirkulaciji, već da su delom i poreklom iz adipocita i makrofaga iz stromalnog kompartama masnog tkiva (234). U visceralnim masnim depoima, membranska ekspresija ICAM-1 signifikantno i pozitivno koreliše sa cirkulišućim nivoima solubilne forme, ITM i stepenom infiltracije makrofaga (235,236). Kao jedna od mogućih razloga povećane produkcije adhezionih molekula u masnom tkivu navodi se njihovo učešće u parakrinoj regulaciji lokalnog inflamatornog procesa (46,50,83). Adhezioni molekuli mogu doprineti privlačenju i aktivaciji makrofaga u disfunkcionalnim masnim depoima promovišući hroničnu inflamaciju (10,13). Kliničke studije koje su ispitivale razlike u ekspresiji ovog adhezionog molekula između pojedinih depoa masnog tkiva, nisu utvrdile razliku između subkutanih i visceralnih depoa. U studiji Framingham Heart Study analizirana je povezanost cirkulišućih nivoa sICAM-1 i subkutanih odnosno visceralnih depoa masnog tkiva koji su određivani kompjuterskom tomografijom. Rezultati ove studije uočili su signifikantan i sličan stepen povezanosti kako subkutanih tako i visceralnih depoa sa nivoom sICAM-1 u ispitivanom uzorku (241). Ipak, povezanost ovih parametra nije bila značajna nakon prilagođavanja analiza za ITM i obim struka.

U našem ispitivanju, regresionom analizom utvrđeno je da je ITM jedan od parametara koji statistički značajno i nezavisno doprinosi nivou sICAM u ispitivanom uzorku, pri čemu porast IMK za 1 kg/m² dovodi do porasta sICAM-1 za 5 ng/ml. U pojedinim prospektivnim studijama, bazalni nivo sICAM-1 je imao prediktivni značaj za pojedina kardiovaskularna oboljenja (7,54,231,236).

U cilju sagledavanja metaboličkog fenotipa gojaznih ispitanika, kao i u utvrđivanju razlika u metaboličkim karakteristikama između gojaznih i normalno uhranjenih ispitanika ispitivani su pokazatelji metabolizma glukoze, lipida i lipoproteina.

Prilikom analize pokazatelja metabolizma glukoze, parametri koji su pokazali statističku značajnost u diferenciranju gojaznih i normalno uhranjenih ispitanika su bili insulinemija našte i insulinemija u 2 h nakon glikoznog opterećenja, dok su vrednosti glikemije našte i u 2 h OGTT- a bile u granicama normalno očekivanih vrednosti i bez uočene siginifikantne razlike (Tabela 7). Očekivano, gojazni ispitanici su pored signifikantno viših vrednosti indeksa oslobađanja insulina, imali i signifikantno niže vrednosti indeksa za procenu insulinske senzitivnosti u odnosu na kontrolne ispitanike. Osim toga, naši rezultati govore da metabolički profil gojaznih ispitanika u visokom procentu karakteriše postojanje insulinske rezistencije na nivou jetre (46/60), uz izostanak statistički značajne razlike u učestalosti poremećaja između ispitivanih podgrupa gojaznih ispitanika posmatranih po stepenu gojaznosti.

Kao što je poznato, gojaznost je jedan od najčešćih uzroka insulinske rezistencije za koju je nedvojbeno u brojnim studijama uočen značaj u kontinuumu kardiovaskularnih bolesti (242 – 245). Pored značajnog uticaja uvećanja masne mase u ukupnoj telesnoj masi, genetske predispozicije, brojni patofiziološki mehanizmi koji mogu biti u osnovi insulinske rezistencije su isprepletani i međusobno se amplifikuju, što bi moglo delom objasniti izostanak razlike u prevalenci poremećaja u ispitivanim podgrupama. Pored poznatih teorija

lipotoksičnosti i glikotoksičnosti, rezultati studija u poslednjoj deceniji doprineli su razumevanju uticaja hronične inflamacije na insulinsku rezistenciju, parakrinim i endokrinim efektima proinflamatornih citokina porekla rezidentnih makrofaga i drugih imunskih ćelija u disfunkcionalnim masnim depoima. Osim toga, poremećaji u funkciji adipocita, genetski poremećaji u PPAR- γ receptorskom sistemu, biosinteza ceramida stimulirana proinflamatornim citokinima, stečeni i nasleđeni defekti u funkciji mitohondrija koja dovodi do intramiocelularne akumulacije lipida i svakako imaju značaja u nastanku insulinske rezistencije (165,180,185).

Naši rezultati ukazuju da je u ispitivanom uzorku uočena statistički značajna pozitivna povezanost umerenog stepena između nivoa sE-selektina i HOMA-IR, kao i negativna korelacija umerenog stepena sa indeksom insulinske senzitivnosti u ispitivanom uzorku (Tabela 27). Daljom regresionom analizom, od ispitivanih parametara metabolizma glukoze jedino su HOMA-IR i ISI imali značajnu i nezavisnu povezanost sa nivoom sE-selektina, sa trendom rasta nivoa sE-selektina od 4 ng/ml pri porastu vrednosti HOMA-IR (rezistencija na nivou jetre) za jednu jednicu, odnosno padom nivoa sE-selektina od 3 ng/ml pri porastu ISI (periferna rezistencija) za jednu jednicu. Studije koje su analizirale nivo sE-selektina kod gojaznih osoba u velikom delu su usaglašene da parametri metabolizma glukoze imaju značajan uticaj na cirkulišuće nivoe ovog biomarkera (166-168). Hiperglikemija i insulinska rezistencija su najčešće povezivane sa povišenim nivoima sE-selektina kod gojaznih ispitanika (241-245). Danas se smatra da poremećaj vazodilatacijske funkcije vaskularnog endotela uz postojanje insulinske rezistencije ima za posledicu smanjeno dopremanje insulina do insulin senzitivnih mišića i smanjeni uptake glukoze u mišićima. Prema podacima drugih studija u stanju insulinske rezistencije, prekomerna stimulacija mitogen aktivirane protein kinase (MAPK)- zavisnih puteva, kompenzatornom hiperinsulinemijom u endotelu rezultuje povećanom ekspresijom E selektina (50, 60,64,67,76).

U studijama koja su dizajnirane kao prospektivne, nivo sE-selektina je pokazao značajnu prediktivnu vrednost u razvoju šećerne bolesti tipa 2, kao i u pojavi ponovljenih koronarnih događaja kod bolesnika sa simptomatskom koronarnom bolešću (149,150,166, 173). Uzimajući u obzir da prevencija insulinske rezistencije ima potencijal da redukuje infarkt miokarda za 42%, u okviru terapijskih procedura koje poboljšavaju insulinsku senzitivnost istovremeno mogu da utiču na endotelnu disfunkciju (246). Poslednjih godina kako je inflamatorni proces u gojaznosti u fokusu istraživača, uočena je povezanost nivoa sE-selektina i pronflamatornih adipokina, markera oksidativnog stresa, odnosno inverzna povezanost sa adiponektinom, kao potentnim ateroprotektivnim adipokinom (247).

O značaju uticaja insulinske rezistencije na disfunkciju endotela govore i rezultati istraživanja koje su drugim metodama procenjivale fenotipske karakteristike endotelnih ćelija. Studija koja je ispitivala povezanost insulinske rezistencije i endotelne disfunkcije (mezenterična mikrocirkulacija, *wire myography* in vitro metoda koja ispituje funkcioni odgovor i vaskularnu reaktivnost malih arteriola) u ekstremno gojaznih ispitanika uočila je postojanje disfunkcije endotela samo kod ispitanika kod kojih je modelom homeostaze utvrđeno postojanje insulinske rezistencije, usled porasta oksidativnog stresa u mitohondrijama i sistemskih proinflamatornih citokina (148,156,169). U studiji koji je ispitivala relativno homogenu grupu gojaznih ispitanika srednje životne dobi, nivo sE-selektina je nezavisno i inverzno bio povezan sa metaboličkom fleksibilnosti (hiperglikemijski clamp), kao ranim pokazateljem poremećaja metabolizma glukoze. U pomenutoj studiji, ispitivanje metabolizma glukoze je evaluirano pomoću clamp tehnike (euglikemijski clamp), koja se smatra “zlatnim standardom” u ispitivanju metaboličkih aktivnosti glukoze (247,248). Ipak, kako je pomenuta tehnika teško izdvoljiva u svakodnevnom radu, brojni matematički modeli koji su izvedeni iz klamp tehnike pomažu evaluaciju metabolizma glukoze u rutinskom laboratorijskom radu. Tako je uočeno

postojanje visoko značajne korelacije između procene insulinske rezistencije određene putem HOMA modela koji smo mi koristili u našem ispitivanju i euglikemijske clamp tehnike (249). Homa je matematički model koji procenjuje insulinsku sekreciju i funkciju β ćelija pankreasa iz bazalnih koncentracije glukoze i insulina, a prediktori koji se koriste u modelu proizilaze iz eksperimentalnih studija na životinjama i ljudima (302). Hepatička insulinska rezistencija se smatra glavnom determinantom bazalne glikemije, i kao takva je glavni doprinosni faktor pre dijabetičnog stanja, povišene glikemije našte. U većini osoba, periferna tkiva razvijaju insulinsku rezistenciju kasnije nego jetra. To je bitno ograničenje primene ovog indeksa koji se izračunava samo iz bazalnih vrednosti. Iako hepatična i periferna insulinska rezistencija pokazuju značajan stepen korelacije, relativni doprinos svake pojedinačne je individualan. Odnos između koncentracije glukoze i insulinemije u bazalnom stanju odražava balans između utilizacije glukoze u jetri i insulinske sekrecije. Kako je insulinska sekrecija je pulsatilna, teoretski pristup u matematičkim modelima zahteva tri uzastopna uzorka krvi unutar 5 min. Ipak, praktičan pristup najčešće podrazumeva uzimanje jednog uzorka. Rezultati ispitivanja modela homeostaze za izračunavanje funkcije beta ćelija i procene sekrecije insulina na velikom ispitivanom uzorku, uočili su postojanje razlika u koeficijentu varijacije kada se uporede rezultati sa jednim i tri uzorka (CVs do 30 % (imunoreaktivni) 7,7% u poređenju sa 4,4 % novi eseji) (303). Osim toga, da bi se poboljšao stepen korelacije sa rezultatima dobijenim clamp-om, pored bazalnih vrednosti, prilikom računanja indeksa mogu se koristiti godine starosti i ITM ispitanika, kao i glikemije i insulinemije dobijene u različitim vremenima tokom izvođenja OGTT (249). U našoj studiji u cilju evaluacije dinamike kretanja insulina, odnosno oslobađanja insulina u drugoj fazi insulinskog odgovora na glikoznu stimulaciju, mi smo koristili indeks insulinske senzitivnosti (primarno reflektuje mišićnu insulinsku senzitivnost), po Stumvolu, sa korekcijom godina života i ITM (304). Osnovni nedostatak u ovog indeksa u kliničkoj primeni je nedovoljna reproducibilnost, zbog

čega i granice referentnih intervala nisu uspostavljene. Zahvaljujući dinamskoj dimenziji podataka koji smo koristili, procenjujemo najraniju fazu poremećaja glikoregulacije. U okviru navedenih teorijskih postavki i dosadašnjih ispitivanja, dobijeni rezultati ove studije ukazuju da u ispitivanoj grupi gojaznih, postojanje insulinske rezistencije, kako na nivou jetre tako i periferne, predstavlja nezavisnu determinantu aktivacije vaskularnog endotela.

U gojaznih osoba, pored disfunkcije vaskularnog endotela, postepeno adaptivno remodelovanje vaskularnih struktura i pridruženo dejstvo tradicionalnih faktora rizika može doprineti morfološkim promenama u kompleksu intima medija arterijskog zida te odražavati vaskularne promene povezane sa supkliničkičkom formom aterosklerotične bolesti (250-254).

Imajuću u vidu da su populacione studije uočile korelaciju između težine ateroskleroze arterija u jednom području (koronarni, cerebralni i periferni krvni sudovi) i zahvaćenosti drugih arterija, rano otkrivanje aterosklerotske bolesti u klinički zdravih osoba može biti usmereno na periferne arterije u području karotidnih arterija (255). Procena kardiovaskularnog rizika koristeći neinvazive metode vizuelizacije, najčešće ultrazvuk karotidnih arterija se fokusira na merenje debljine IMK, prisutnost plakova i njihove karakteristike. Takođe, ovi parametri su implemenirani u evropske i nacionalne preporuke za prevenciju kardiovaskularnih bolesti i predstavljaju oru se o povećanog kardiovaskularnog rizika (255,256). Značaj IMK je na prvom mestu u primarnoj prevenciji KVB, a rezultati brojnih studija su utvrdili da najveći značaj ima u reklasifikaciji osoba sa intermedijalnim riziokm u više kategorije (257). Osobe bez poznate KVB s povećanim IMK su pod povećanim rizikom za srčani i moždani udar (porast za 1 SD karotidne IMK povećava rizik od infarkta miokarda za 26%, odnosno povećava rizik 31% od moždanog udara), a prediktivna vrednost IMK je značajnija kod žena u odnosu na muškarce (258,305). Dakle,

ultrazvuk karotidnih arterija može pružiti značajnu informaciju pored tradicionalnih faktora rizika i pomoći u donošenju odluka o potrebi lečenja u okviru primarne prevencije.

Iako postoji postepeni porast KVB rizika sa povećanjem IMK, u preporukama za prevenciju KVB vrednost IMK od 0.9 mm se smatra abnormalnim. Ovo je donelo pojedina ograničenja u kliničkim studijama, posebno kada je potrebo uporediti grupe ispitanika koje nisu usklađene po godinama života, polu, prisutnim tradicionalnim faktorima rizika. Takođe, postoje saznanja da svega oko 10 % osoba koje kod kojih se procenjuje da je važna primarna prevencija od kardiovaskularnih bolesti ima ovakav nalaz. Nedavno su objavljeni rezultati studije koja je prikazala referentne vrednosti, percentile karotidne IMK po godinama života i polu (202). Studija je uzela u obzir podatke iz 24 istraživačka centra koji su priključeni od 24 871 osoba (15-85 godina života). Referentne vrednosti za karotidnu IMK, kao i određivanje vrednosti IMK Z skora omogućavaju poređenje osoba sa različitim kardiovaskularnim profilom u kliničkim i epidemiološkim studijama. U pomenutoj studiji u delu ispitivane populacije koja nije imala kardiovaskularne bolesti i nije bila pod terapijom (antihipertenzivi, antidijabetici i hipolipemici) ($n = 14\ 609$), uočeni parametri koji bili povezani sa većim vrednostima IMK Z skora. Odnos verovatnoće za veće vrednosti IMK Z skora kod muškaraca, odnosno kod žena je bio za sistolni krvni pritisak [0.19 (0.16–0.22) i 0.18 (0.15–0.21)], pušenje [0.25 (0.19–0.31) i 0.11 (0.04–0.18)], dijabetes [0.19 (0.05–0.33) i 0.19 (0.02–0.36)], ukupni/HDL holesterol [0.07 (0.04–0.10) i 0.05 (0.02–0.09)] i ITM [0.14 (0.12–0.17) i 0.07 (0.04–0.10)].

Rezultati našeg ispitivanja govore da su gojazni ispitanici imali statistički značajne više vrednosti karotidne IMK, kao i IMK Z skora u odnosu na normalno uhranjene zdrave ispitanike. Vrednosti IMK Z skora koje su bile iznad 95 percentila od normalno očekivanih vrednosti u odnosu na pol i godine života su uočene kod ukupno 47% ispitanika koji su obuhvaćeni ispitivanjem. Osim toga, učestalost vrednosti IMK Z skora iznad 95 percentila od

normalno očekivane u odnosu na pol i uzrast je bila signifikatno veća u gojaznih u odnosu na normalno uhranjene ispitanike (Tabela 25).

U daljem toku našeg ispitivanja urađena je faktorska analiza u cilju analize ispitivane grupe velikog broja parametara koji predstavljaju različite fiziološke i patofiziološke procese, a radi definisanja veze ispitivanih parametara sa IMK Z skorom, markerom supkliničke forme aterosklerotskog procesa.

U analizi je izdvojeno pet faktora, koji objašnjavaju 69.72% ukupne varijanse ispitivanog uzorka i koji su označeni “gojaznost”, “insulinska rezistencija”, “aterogeni faktor”, “endotelna disfunkcija i vaskularna inflamacija” i “metabolički faktor”.

Kao dominantni faktor u faktorskoj analizi se izdvojio faktor „gojaznost“ odgovoran za 38,75% ukupne varijacije u sistemu ispitivanih parametara. U njegovom sastavu su se našli antropometrijski pokazatelji gojaznosti i abdominalne gojaznosti, sistolni krvni pritisak, LDL – holesterol i lipoproteinski indeks ApoB/apoA-I, bazalna insulinemija i biomarkeri inflamacije (fibrinogen i hsCRP). Grupisanje pomenutih parametara u jedan faktor govori u prilog kompleksnosti gojaznosti kao oboljenja u kome su uz povećanje masne masu u ukupnoj telesnoj masi udruženi poremećaji metabolizma glukoze, lipida i lipoproteina, kao i proinflamatorno stanje. Ovaj faktor se pokazao kao nezavistan sa prediktivnim potencijalom za vrednost IMK Z skora koji može da ukaže na prisustvo supkliničke forme aterosklerotskog procesa. Na osnovu toga možemo da pretpostavimo da je postojanje supkliničkog stadijuma ateroskleroze u ispitivanom uzorku povezano sa porastom obima struka i ITM, većim nivoima LDL holesterola i indeksa ApoB/apoA-I, povećanom sekrecijom insulina, kao i povećanim cirkulušućim nivoima biomarkera inflamacije.

U faktoru gojaznost najznačajniji uticaj je imao procenat masne mase u abdominalnoj regiji, kao i procenat masne mase u ukupnoj telesnoj masi. Uvećanje masne mase u ukupnoj

telesnoj masi, može da utiče na vaskularne strukture sistemskim efektom, dejstvom kako na sistemski arterijski krvni pritisak tako i na ukupni telesni volumen. Pojedine studije su prikazale uticaj veličine telesne površine i centralne distribucije masnih naslaga na vaskularne promene (254,261). Takođe, adaptivno arterijsko remodelovanje u gojaznih osoba nastaje jer sa porastom masne mase dolazi i do porasta bezmasne mase, koja je sa 20 do 40% zastupljena u ukupnoj telesnoj masi s koja ima značajan uticaj na ukupni volumen krvi, udarni srčani i minutni volumen. U gojaznosti, posebno ekstremnoj, dugotrajni porast udarnog srčanog volumena dovodi do proporcijalnog porasta u sistolnom protoku, kao i brzini protoka u velikim arterijama, a u cilju atenuacije sila smicanja dolazi do relativnog porasta u luminalnom dijametru arterija. Osim toga, poznato je da su sile smicanja i rastezanja međusobno povezane i da geometrijske karakteristike arterijskog remodelovanja zavise od tipa hemodinamskih sila koje deluju na zid arterijskog krvnog suda. Stoga, pri povišenom sistolnom krvnom pritisku povećanje dijametra lumena arterija može biti praćeno i povećanjem debljine kompleksa intima medija arterijskog zida (264). Pojedine studije navode da povećanje IMK može predstavljati i uticaj godina života na vaskularne promene (251). Takođe je važno napomenuti da u klinički zdravoj populaciji srednje životne dobi, uticaj muškog pola na porast debljine IMK nije zavistan od godine života (252). Porast debljine IMK koji je očekivan sa godinama života može biti odraz strukturnih promena u zidu arterija (poremećaji u sadržaju i integritetu strukturnih proteina matriksa, na prvom mestu elastina i kolagena), a može biti pod uticajem endogenih nivoa estrogena (265). Ispitanici u našem uzorku su u većem broju ženskog pola, u reproduktivnoj fazi. Osim toga, analiza je prilagođena za uticaj pola. U drugim studijama je uočeno da muškarci imaju nešto veće vrednosti IMK u poređenju sa ženama, ali je porast ovog parametra sa godinama života bez značajnih razlika između polova (5.2 μm /godišnje muškarci vs. 4,8 μm /godišnje žene).

Kako u gojznosti remodelovanje arterijskog zida može biti praćeno i morfološkim promenama u arterijskom zidu dolazi do promena u reflektivnosti i akustičnosti tkiva, odnosno do promena u propagaciji ultrazvućnog talasa (atenuacija/masno tkivo). Tako su u sagledavanju moguće etiologije povećanja IMK, pored dopler sonografije, izvođene i druge metode, kao digitalna denzitometrijska analiza (267,268). Ova metoda omogućava pored evaluacije akustičnih karakteristika tkiva i indirektnu procenu ćelijskog sastava aterosklerotskih lezija. U pojedinim studijama je uoćeno da akustična reflektivnost inicijalnih aterosklerotskih lezija u zidu karotidne arterije pozitivno koreliše sa sadržajem glatko mišićnih ćelija i kolagenih vlakana u karotidnoj intimi i mediji, a ovakav nalaz u gojznih osoba je povezan sa povećanim obimom struka. Ovakav rezultat su autori objasnili sa endokrinom aktivnosti abdominalnog masnog tkiva, na prvom mestu pojaćanom sintezom angiotenzina II koji ima znaćajan uticaj na remodelovanje vaskularnih struktura, stimulišući sintezu glatko mišićnih ćelija. Osim toga u elastićnim arterijama, angiotensin II povećava taloženje kolagena u tuniki mediji i utiće na regulaciju i ekspresiju matriks metaloproteinaza (261,268,269).

Daljom analizom faktorske analize, u faktoru "gojznost" kao znaćaj u uticaju na vrednosti IMK Z skora u ispitivanom uzorku se izdvojio LDL holesterol sa nezavisnim prediktivnim potencijalom, kako u faktorskoj tako i u pojedinaćnoj analizi (Tabela 38 i 39). Brojne studije su ukazale na snaćnu pozitivnu povezanost između LDL holesterola i karotidne IMK, kao i na znaćaj smanjivanja koncentracije LDL holesterola (medikamentozno, dijetom, promenama naćina života ili hirurškim putem) u smanjivanju rizika od KVB (270-274). Iako je LDL holesterol identifikovan kao glavni aterogeni lipoprotein, u gojznosti, posebno visceralnog tipa kada je povećana koncentracija triglicerida, njegova koncentracija ne mora uvek da odgovara aktuenom kardiovaskularnom riziku. Za visceralnu gojznost je karakteristićna aterogena dislipidemija u kojoj je prisutna

povišena koncentracija triglicerida zbog povećanog prisustva aterogenih remnant lipoproteina, niska koncentracija HDL holesterola i prisustvo malih, gustih LDL čestica (179,211). Kako male, guste LDL čestice imaju veći aterogeni potencijal u odnosu na veće, a sadrže manje LDL holesterola određivanje LDL holesterola nije uvek ekvivalentno broju LDL čestica (255, 256). Pored LDL holesterola, lipoproteinski indeks apoAI/apoB ima značajan uticaj u faktoru "gojaznost", pa i na supkliničku formu ateroskleroze u ispitivanom uzorku. Apo B prikazuje aterogeni potencijal s obzirom da predstavlja direktnu meru broja prisutnih aterogenih čestica u cirkulaciji (svaka lipoproteinskih čestica u čijem sastavu se nalazi apo B sadrži samo jedan molekul ovog proteina). Poznato je da ako je koncentracija LDL holesterola normalna ili blago povišena, a vrednost apo B jako povećana, verovatno je prisutan veliki broj malih, aterogenijih i gušćih LDL čestica, što je od posebnog značaja kod osoba sa abdominalnom gojaznosti (12). Rezultati studija u poslednjih godina ukazuju na značaj povišenih koncentracija apoB i niskih koncentracija apo A-I sa markerima supkliničke ateroskleroze i incidencijom KVB (270,271). Međutim, rezultati su neusaglašeni kako u drugim studijama nije pokazana prednost apo B i apo A-I u odnosu na tradicionalne lipidne parametre u proceni rizika (257-279).

Masno tkivo može da deluje ili direktno na vaskularni zid preko endokrine i parakrine sekrecije adipokina ili putem jetre kroz modulaciju aterogene sredine u kojoj se vaskularni zid nalazi. Takođe, u gojaznosti adipozno tkivo produkuje prekomernu količinu inflamatornih citokina, kao što je IL-6, koji stimuliše produkciju CRP u jetri (228). Tako su se i u našim rezultatima u faktoru gojaznost izdvojili su se, reaktanti akutne faze, hsCRP i fibrinogen. Udruženost gojaznosti i nivoa hsCRP je očekivana i postoje podaci o snažnoj i nezavisnoj asocijaciji uvećanja masne mase u ukupnoj telesnoj masi sa povišenim nivoima markera inflamacije u velikoj populaciji zdravih žena (226). Mnogobrojne studije u toku poslednje decenije pokazuju da su pored CRP, povišene koncentracije fibrinogena povezane sa

razvojem ili prisustvom supkliničke aterosklerotske bolesti i rizikom od koronarne bolesti srca (280-283). Takođe je pokazana da u odnosu na hsCRP i tradicionalne faktore rizika (hipertenziju, godine života, muški pol), vrednosti fibrinogena mogu da imaju aditivnu vrednost u proceni kardiovaskularnog rizika. Rezultati pojedinih studija pokazuju da je prediktivna vrednost fibrinogena slična po jačini onoj za hsCRP, a zajednički efekat je veći od individualnog (284,285), što je od značaja kod gojaznih osoba, kako je u značajnom broju prisutno uvećanje koncentracija oba markera. Analizom podataka iz prospektivnih studija ispitivana je vrednost dodavanja koncentracije hsCRP-a ili fibrinogena klasičnim parametrima u proceni kardiovaskularnog rizika, u smislu diskriminacije i reklasifikacije rizika, a rezultati su pokazali značaj kod osoba sa intermedijernim rizikom. Uočeno je da bi u proceni rizika, dodatno merenje koncentracije hsCRP-a ili fibrinogena moglo da spreči pojavu jednog događaja u toku 10 godina na svakih 400 do 500 osoba (286-289).

Naši rezultati nisu pokazali značajnu povezanost supkliničke forme ateroskleroze i parametara koji su grupisali u “aterogenom” faktoru, a koji je objedinio parametre – ApoB/apoA-I, Lp(a), TG/HDL-H, homocistein, neutrofili/limfociti odnos, kao i parametre glikoregulacije koncentraciju glukoze našte i 2 časa nakon stimulacije, HbA1c. Sniženje HDL holesterola je značajna karakteristika dislipidemičnog profila gojaznih osoba, što je potvrđeno i našim rezultatima. Iako su pojedinim studijama koncentracije HDL holesterola negativno povezane sa supkliničkom aterosklerozom i incidencijom KVB (290), uzročno posledična veza niske koncentracije HDL holesterola i pojave aterosklerotskih KBV nije potpuno objašnjena. Podaci iz epidemioloških studija pokazuju da smanjenje koncentracije HDL holesterola za 1% povećava rizik od KVB za 2–3% (260,291), a populacione studije su pokazale kontinuirani porast rizika za KVB kako se koncentracija HDL-a snižava (293). Mehanizmi koji su u osnovi povezanosti HDL holesterola i ateroskleroze govore o značaju HDL u pokretanju efluksa holesterola iz penastih ćelija u aterosklerotskim lezijama u sklopu

reverznog transporta holesterola. Osim toga poznate su antikoagulantne, pro-fibrinolitičke, antiagregacione, antioksidativne i antiinflamatorne osobine HDL-a, koje takođe inhibiraju aterogenezu. Pored toga, HDL ima inhibitorni efekat na hemotaksu monocita, leukocitnu adheziju za vaskularni endotela, disfunkciju endotela i apoptozu, oksidaciju LDL čestica i aktivaciju komplekta (253).

Naši rezultati ukazuju da je prisustvo niske koncentracije HDL holesterola bilo udruženo sa povišenom koncentracijom triglicerida u gojaznih ispitanika. Pitanje da li je povezanost triglicerida sa rizikom od komplikacija KVB u budućnosti nezavisna od ostalih lipidnih parametara dugo je bilo kontroverzno, a podaci iz studija dizajniranih po slučaj-kontrola modelu idu u prilog koncentraciji triglicerida kao nezavisnom faktoru kardiovaskularnog rizika (292). Takođe, rezultati ispitivanja eksperimentalnih modela su pokazali da trigliceridima bogati lipoproteini mogu povećati ekspresiju inflamatornih proteina i adhezivnih molekula, što uslovljava njihov aterogeni potencijal (120). S druge strane, zaključak pojedinih prospektivnih studija je bio da određivanje triglicerida ne nosi dodatnu informaciju u odnosu na HDL i ukupan holesterol u opštoj populaciji. Međutim, u studiji koja je obuhvatila mlade ljude, 36 do 45 godina starosti, koji su praćeni 10 godina, pokazana je direktna korelacija između povećanih nivoa triglicerida i aterosklerotskih KVB (293). U "aterogenom faktoru" se izdvojio i Lp(a), sa poznatim visokim aterogenim potencijalom. Pored toga, u našem ispitivanju nisu uočene signifikantne razlike u koncentraciji Lp(a) lipoproteina između ispitivane grupe gojaznih i normalno uhranjenih ispitanika, što je u saglasnosti sa rezultatim drugim studija u gojaznih osoba. Lp(a) se vezuje za endotelne ćelije, makrofage, fibroblaste, trombocite i subendotelni matriks, promovise proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija i hemotaksu monocita, inhibira fibrinolizu (strukturna homologija sa plazminogenom), a brojne studije su pokazale snažnu povezanost između povišenih vrednosti Lp(a) i rizika od KVB (294).

U "metaboličkom faktoru" se izdvojila mokraćna kiselina, ali bez značajnog uticaja na vrednost IMK Z skora u ispitivanom uzorku. Iako se ovaj parameter odavno povezuje sa genezom KVB, povezanost između vrednosti mokraćne kiseline i pojedinih faktora kardiovaskularnog rizika, kao što su hipertenzija, gojaznost i hronična bolest bubrega, otežavaju da se utvrdi uzročna veza u epidemiološkim studijama (297,298). Podaci iz eksperimentalnih studija su pokazali povezanost povišenih vrednosti mokraćne kiseline sa inflamacijom, aktivacijom sistema renin angiotensin, disfunkcijom vaskularnog endotela i proliferacijom glatkih mišićnih ćelija. U visceralnoj gojaznosti i metaboličkom sindromu, hiperurikemija je posledica hiperinsulinemije, s obzirom da insulin smanjuje realnu ekskreciju mokraćne kiseline. (298-300). Međutim, hiperurikemija često prethodi razvoju hiperinsulinemije, gojaznosti i pojavi šećerne bolesti tipa 2. Takođe, povišena koncentracija mokraćne kiseline je povezana sa promenjenim metabolizmom lipoproteina i prisustvom malih, gustih LDL čestica (280,281), ima značaja u indukciji ekspresije CRP-a u vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama i endotelnim ćelijama (301). Studije su pokazale povezanost hiperurikemije i incidencije KVB, izraćenije kod žena nego kod muškaraca (296,298,301).

6. ZAKLJUČCI

1. Cirkulišuće serumske koncentracije biomarkera endotelne disfunkcije, sE-selektina i sICAM-1, su značajno povišene kod ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojznosti u odnosu na njihove koncentracije u normalno uhranjenih ispitanika.
2. U gojznih ispitanika trend porasta u koncentraciji sICAM-1 je značajno povezan sa porastom stepena gojznosti. Takođe, koncentracija sE-selektina je značajno povišena kod ispitanika sa III stepenom gojznosti u odnosu na njegove koncentracije kod ispitanika sa I i II stepenom gojznosti.
3. U ispitivanoj grupi gojznih u poređenju sa normalno uhranjenim ispitanicima, pored uvećanja udela masne mase u ukupnoj telesnoj masi, značajno češće se nalazi uvećanje abdominalnih masnih depoa, insulinska rezistencija, proinflamatorno i proaterogeno dislipidemično stanje.
4. U gojznih ispitanika uočena je značajna povezanost između koncentracije sE-selektina, insulinske rezistencije i vrednosti biomarkera inflamacije.
5. Koncentracija sICAM-1 u grupi gojznih ispitanika je značajno povezana sa udelom masne mase u ukupnoj telesnoj masi, vrednostima biomarkera inflamacije i proaterogenih lipidnih i lipoproteinskih parametara
6. Zastupljenost supkliničkog stadijuma ateroskleroze je značajno češća u ispitanika sa hiperalimentacionim tipom gojznosti u poređenju sa normalno uhranjenim ispitanicima.
7. Ispitanici sa supkliničkim stadijumom ateroskleroze, koji je prisutan u 67% gojznih ispitanika, imaju značajno više koncentracije sICAM-1 u odnosu na njegove koncentracije kod ispitanika kod kojih je nije uočeno postojanje supkliničkog stadijuma ateroskleroze

8. U faktorskoj analizi je izdvojeno pet faktora “gojaznost”, “insulinska rezistencija”, “aterogeni faktor”, “endotelna disfunkcija i vaskularna inflamacija” i “metabolički faktor” koji objašnjavaju 69.72% ukupne varijanse ispitivanog uzorka
9. Ispitanici kod kojih je prisutno uvećanje abdominalnih masnih depoa i udela masnog tkiva u telesnoj masi, vrednosti sistolnog krvnog pritiska, koncentracije LDL–holesterola, vrednosti lipoproteinskog indeksa ApoB/apoA-I, bazalne insulinemije i biomarkera inflamacije, imaju trostruko povećan rizik od supkliničkog stadijuma ateroskleroze
10. U gojaznih osoba prilikom procene rizika od aterosklerotskih KVB, potrebno je utvrditi fenotipske osobine vaskularnog endotela i eventualno postojanje supkliničkog stadijuma ateroskleroze, da bi se definisale adekvatne preventivne mere i sagledale potencijalne terapijske mogućnosti.

7. LITERATURA

1. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J*. 2014;35(42):2929.
2. Nowbar AN, Howard JP, Finegold JA, Asaria P, Francis DP. 2014 global geographic analysis of mortality from ischaemic heart disease by country, age and income: statistics from World Health Organisation and United Nations. *Int J Cardiol*. 2014;174(2):293-8.
3. Caballero B. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev*. 2007;29:1-5.
4. Grujić V, Dragnić N, Radić I, Harhaji S, Susnjević S. Overweight and obesity among adults in Serbia: results from the National Health Survey. *Eat Weight Disord*. 2010;15(1-2):34-42.4.
5. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2111-7.
6. Tousoulis D, Kampoli AM, Papageorgiou N, Androulakis E, Antoniadis C, Toutouzas K, Stefanadis C. Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation. *Curr Pharm Des*. 2011;17(37):4089-110.
7. Libby P, Ridker PM, Hansson GK; Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2129-38.
8. Lefterova M.I., Lazar M.A. New developments in adipogenesis. *Trends Endocrinol. Metab*. 2009;20(3):107-114.
9. Bays HE. Adiposopathy: Is “sick fat” a cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:2461-2473.
10. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860-7.
11. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006;444(7121):875-80.
12. Lavie CJ, De Schutter A, Milani RV. Healthy obese versus unhealthy lean: the obesity paradox. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(1):55-62.

13. Meyers MR, Gokce N. Endothelial dysfunction in obesity: etiological role in atherosclerosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2007;14(5):365-9.
14. Kardassis D, Schönander M, Sjöström L, Karason K. Carotid artery remodelling in relation to body fat distribution, inflammation and sustained weight loss in obesity. *J Intern Med.* 2014;275(5):534-43.
15. Tsigos C, Hainer V, Basdevant A, Finer N, Fried M, Mathus-Vliegen E, et al. Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity. Management of obesity in adults: European clinical practice guidelines. *Obes Facts.* 2008;1(2):106-16.
16. McMinn JE, Baskin DG, Schwartz MW. Neuroendocrine mechanisms regulating food intake and body weight. *Obes Rev.* 2000;1(1):37-46.
17. Choquet H, Meyre D. Genetics of Obesity: What have we Learned? *Curr Genomics.* 2011;12(3):169-79.
18. Hirschhorn JN. Genome wide association studies – Illuminating biologic pathways. *N. Engl. J. Med.* 2009;360(17):1699-1701.
19. Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, Helgadóttir A, et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat. Genet.* 2009;41(1):18-24.
20. Walley AJ, Asher JE, Froguel P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nat. Rev. Genet.* 2009;10(7):431-442.
21. Carlsson B, Lindell K, Gabrielsson B, Karlsson C, Bjarnason R, Westphal O, Karlsson U, et al. Obese (ob) gene defects are rare in human obesity. *Obes Res.* 1997;5(1):30-5.
22. Chen D, Garg A. Monogenic disorders of obesity and body fat distribution. *J Lipid Res.* 1999 ;40(10):1735-46.
23. Zimmermann E, Ängquist LH, Mirza SS, Zhao JH, Chasman DI, Fischer K, et al. Is the adiposity-associated FTO gene variant related to all-cause mortality independent of adiposity? Meta-analysis of data from 169,551 Caucasian adults. *Obes Rev.* 2015;16(4):327-40.

24. Schwartz MW. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-671.
25. Martin SS, Qasim A, Reilly MP. Leptin resistance: a possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(15):1201-10.
26. WHO: Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva, WHO Technical Report Series 894, 2000.
27. Stokic E. Gojaznost je bolest koja se leči. *Medicinski fakultet Novi Sad* 2004; 11-70.
28. Goacher PJ, Lambert R, Moffatt PG. Can weight-related health risk be more accurately assessed by BMI, or by gender specific calculations of percentage body fatness? *Med Hypotheses.* 2012;79(5):656-662.
29. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(6): 959-966.
30. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča u kliničkoj praksi. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Gojaznost. Nacionalni vodič za lekare opšte prakse. 1. izd. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID; 2004.
31. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120:1640-1645.
32. Stokic E, Srdić B. Analiza telesne kompozicije. *Acta clinica.* 2007;7(2):45-57.
33. Prins JB, O’Rahilly S. Regulation of adipose cell number in man. *Clin Sci* 1997;92:3- 11.
34. Bumbaširević V. Morfogenezna adipocita. *Acta clinica.* 2007;7(2):25-35.

35. Arner P. Control of lipolysis and its relevance to development of obesity in man. *Diabetes Metab. Rev.* 1988; 4:507-515.
36. Stephens JM. The fat controller: adipocyte development. *PLoS Biol.* 2012;10(11):e1001436. doi: 10.1371/journal.pbio.1001436. Epub 2012 Nov 27.
37. Trayhurn P. Adipocyte biology. *Obes Rev.* 2007;8(1):41-4.
38. Ali AT, Hochfeld WE, Myburgh R, Pepper MS. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol.* 2013;92(6-7):229-36.
39. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Hosoya Y, Yamashita H, Fujita H, et al. Adipogenesis in obesity requires close interplay between differentiating adipocytes, stromal cells, and blood vessels. *Diabetes.* 2007;56(6):1517-26.
40. Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev.* 2000;14(11):1293-307.
41. Rangwala SM, Lazar MA. Transcriptional control of adipogenesis. *Annu Rev Nutr.* 2000;20:535-59.
42. Spiegelman BM, Puigserver P, Wu Z. Regulation of adipogenesis and energy balance by PPARgamma and PGC-1. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 200;24(4):8-10.
43. Harp JB. New insights into inhibitors of adipogenesis. *Curr Opin Lipidol.* 2004;15(3):303-7.
44. Jia G, Martinez-Lemus LA, Sowers JR. Interaction of Adipogenesis and Angiogenesis in Dietary-Induced Obesity. *Diabetes.* 2015;64(7):2326-8.
45. Ma X, Lee P, Chisholm DJ, James DE. Control of adipocyte differentiation in different fat depots; implications for pathophysiology or therapy. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015;6:1. doi: 10.3389/fendo.2015.00001. eCollection 2015. Review.
46. Lehr S, Hartwig S, Lamers D, Famulla S, Müller S, Hanisch FG, et al. Identification and validation of novel adipokines released from primary human adipocytes. *Mol Cell Proteomics.* 2012;11(1):M111.010504. doi: 10.1074/mcp.M111.010504. Epub 2011 Sep 26.
47. Harwood HJ Jr. The adipocyte as an endocrine organ in the regulation of metabolic homeostasis. *Neuropharmacology.* 2012;63(1):57-75.

48. Wernstedt Asterholm, Tao C, Morley TS, Wang QA, Delgado-Lopez F, Wang ZV, Scherer PE. Adipocyte inflammation is essential for healthy adipose tissue expansion and remodeling. *Cell Metab.* 2014;1;20(1):103-18.
49. Luna-Luna M, Medina-Urrutia A, Vargas-Alarcón G, Coss-Rovirosa F, Vargas-Barrón J, Pérez-Méndez Ó. Adipose Tissue in Metabolic Syndrome: Onset and Progression of Atherosclerosis. *Arch Med Res.* 2015 May 22. pii: S0188-4409(15)00125-3. doi: 10.1016/j.arcmed.2015.05.007.
50. Lastra G, Manrique C. Perivascular adipose tissue, inflammation and insulin resistance: link to vascular dysfunction and cardiovascular disease. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2015;22(1):19-26.
51. Anders H. Berg and Philipp E. Scherer. Adipose Tissue, Inflammation, and Cardiovascular Disease. *Circulation Research.* 2005;96:939-949.
52. Kranendonk ME, van Herwaarden JA, Stupkova T, de Jager W, Vink A, Moll FL, et al. Inflammatory characteristics of distinct abdominal adipose tissue depots relate differently to metabolic risk factors for cardiovascular disease: distinct fat depots and vascular risk factors. *Atherosclerosis.* 2015;239(2):419-27.
53. Stokić E. Gojaznost je bolest koja se leči. Novi Sad: Medicinski fakultet. 2004:43-55.
54. Mayes JS, Watson GH. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. *Obes Rev.* 2004;5(4):197-216.
55. Dicker A, Le Blanc K, Astrom G, van Harmelen V, Gotherstrom C, Blomqvist L, et al. Functional studies of mesenchymal stem cells derived from adult human adipose tissue. *Exp. Cell Res.* 2005; 308:283-290.
56. Boivin A, Brochu G, Marceau S, Marceau P, Hould FS, Tchernof A. Regional differences in adipose tissue metabolism in obese men *Metab Clin Exp* 2007; 56:533- 540.
57. Spiegelman BM, Flier JS. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell* 1996;87:377-89.
58. Farb MG, Gokce N. Visceral adiposopathy: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2015;21(2):125-36.

59. Bays HE, Toth PP, Kris-Etherton PM, Abate N, Aronne LJ, Brown WV, et al. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol*. 2013;7(4):304-83.
60. Yang J, Kang J, Guan Y. The mechanisms linking adiposopathy to type 2 diabetes. *Front Med*. 2013;7(4):433-44.
61. Chrostowska M, Szyndler A, Hoffmann M, Narkiewicz K. Impact of obesity on cardiovascular health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2013;27(2):147-56.
62. Wronkowitz N, Romacho T, Sell H, Eckel J. Adipose tissue dysfunction and inflammation in cardiovascular disease. *Front Horm Res*. 2014;43:79-92.
63. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):428-35.
64. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(12):923-34.
65. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:415-45.
66. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2111-7.
67. Sun S, Ji Y, Kersten S, Qi L. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annu Rev Nutr*. 2012;32:261-86.
68. Lastra G, Manrique C. Perivascular adipose tissue, inflammation and insulin resistance: link to vascular dysfunction and cardiovascular disease. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2015;22(1):19-26.
69. Kono H, Kimura Y, Latz E. Inflammasome activation in response to dead cells and their metabolites. *Curr Opin Immunol*. 2014;30:91-8.
70. Skeldon AM, Faraj M, Saleh M. Caspases and inflammasomes in metabolic inflammation. *Immunol Cell Biol*. 2014;92(4):304-13.
71. Henao-Mejia J, Elinav E, Thaiss CA, Flavell RA. Inflammasomes and metabolic disease. *Annu Rev Physiol*. 2014;76:57-78.

72. Gurung P, Lukens JR, Kanneganti TD. Mitochondria: diversity in the regulation of the NLRP3 inflammasome. *Trends Mol Med*. 2015;21(3):193-201.
73. Jin C, Flavell RA. Innate sensors of pathogen and stress: linking inflammation to obesity. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(2):287-94
74. Fessler MB, Rudel LL, Brown JM. Toll-like receptor signaling links dietary fatty acids to the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2009;20(5):379-385.
75. Vandanmagsar B. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*. 2011;17(2):179-188.
76. Arkan MC, et al. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med*. 2005;11(2):191-198.
77. Sharma AM, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and adipose tissue—understanding obesity-related changes in regulation of lipid and glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):386-95.
78. Chawla A. Control of macrophage activation and function by PPARs. *Circ Res*. 2010;106(10):1559-69.
79. Kaelin WG Jr, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell*. 2008;30(4):393-402.
80. Hosogai N. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*. 2007;56(4):901-911.
81. Liu YC, Zou XB, Chai YF, Yao YM. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int J Biol Sci*. 2014;10(5):520-9.
82. Cinti SI. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res*. 2005; 46(11):2347-2355.
83. Nishimura S. Adipogenesis in obesity requires close interplay between differentiating adipocytes, stromal cells, and blood vessels. *Diabetes*. 2007; 56(6):1517-1526.
84. Strissel KJ. Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. *Diabetes*. 2007;56(12):2910-2918.

85. Lumeng CN, Deyoung SM, Bodzin JL, Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes*. 2007;56(1):16-23.
86. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85-97.
87. Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev*. 2012;249(1):218-38.
88. Huber J, Kiefer FW, Zeyda M, Ludvik B, Silberhumer GR, Prager G, et al. CC chemokine and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;93(8):3215-21.
89. Barlic J, Murphy PM. Chemokine regulation of atherosclerosis. *J Leukoc Biol*. 2007;82(2):226-36.
90. De Paoli F, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. Macrophage phenotypes and their modulation in atherosclerosis. *Circ J*. 2014;78(8):1775-81.
91. Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013;4:93. doi: 10.3389/fendo.2013.00093.
92. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(10):709-21.
93. Peled M, Fisher EA. Dynamic Aspects of Macrophage Polarization during Atherosclerosis Progression and Regression. *Front Immunol*. 2014;5:579. doi: 10.3389/fimmu.2014.00579.
94. Caspar-Bauguil S, Cousin B, Bour S, Casteilla L, Penicaud L, Carpenne C. Adipose tissue lymphocytes: types and roles. *J Physiol Biochem*. 2009;65:423-436.
95. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009;15(8):914-20.
96. Winer S, Winer DA. The adaptive immune system as a fundamental regulator of adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Immunol Cell Biol*. 2012;90(8):755-62.

97. Winer DA, Winer S, Shen L, Wadia PP, Yantha J, Paltser G, et al. B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat Med.* 2011;17(5):610-7.
98. Maizels RM, Allen JE. Immunology. Eosinophils forestall obesity. *Science.* 2011;332(6026):186-7.
99. Mattu HS, Randeve HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. *J Endocrinol.* 2013;216(1):17-36.
100. Lijnen HR. Angiogenesis and obesity. *Cardiovasc Res.* 2008;78(2):286-293.
101. Cao Y. Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9(2):107-115.
102. Villaret A. Adipose tissue endothelial cells from obese human subjects: differences among depots in angiogenic, metabolic, and inflammatory gene expression and cellular senescence. *Diabetes.* 2010; 59(11):2755-2763.
103. Khan T. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Mol Cell Biol.* 2009; 29(6):1575-1591.
104. O'Hara A, Lim FL, Mazzatti DJ, Trayhurn P. Microarray analysis identifies matrix metalloproteinases (MMPs) as key genes whose expression is up-regulated in human adipocytes by macrophage-conditioned medium. *Pflugers Arch.* 2009;458(6):1103-1114.
105. Thaler JP, Schwartz MW. Minireview: Inflammation and obesity pathogenesis: the hypothalamus heats up. *Endocrinology.* 2010;151(9):4109-4115.
106. Holland WL. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1858-1870.
107. Zhang X, Zhang G, Zhang H, Karin M, Bai H, Cai D. Hypothalamic IKKbeta/NF-kappaB and ER stress link overnutrition to energy imbalance and obesity. *Cell.* 2008;135(1):61-73.

108. Donath MY, Boni-Schnetzler M, Ellingsgaard H, Halban PA, Ehses JA. Cytokine production by islets in health and diabetes: cellular origin, regulation and function. *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21(5):261-267.
109. Neves AL, Coelho J, Couto L, Leite-Moreira A, Roncon-Albuquerque R. Metabolic endotoxemia: a molecular link between obesity and cardiovascular risk. *J Mol Endocrinol.* 2013;51(2):51-64.
110. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews. Immunology* 2001; 1:135-145.
111. Manco M, Putignani L and Bottazzo GF. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. *Endocrine Reviews* 2010;31: 817-844.
112. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 2006;444:881-7.
113. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev.* 2010;11(1):11-8.
114. Klötting N, Fasshauer M, Dietrich A, Kovacs P, Schön MR, Kern M, et al. Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299(3):506-15.
115. Weinstein AR, Sesso HD, Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, et al. Relationship of physical activity vs body mass index with type 2 diabetes in women. *JAMA.* 2004;292(10):1188-94.
116. Abraham TM, Pencina KM, Pencina MJ, Fox CS. Trends in diabetes incidence: the Framingham Heart Study. *Diabetes Care.* 2015;38(3):482-7.
117. Yu YH, Ginsberg HN. Adipocyte signaling and lipid homeostasis: sequelae of insulin-resistant adipose tissue. *Circ Res.* 2005;96:1042-1052.
118. Bays HE, Gonzalez-Campoy JM, Bray GA, et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008;6:343-368.

119. Al-Shayji IA, Caslake MJ, Gill JM. Effects of moderate exercise on VLDL(1) and Intralipid kinetics in overweight/obese middleaged men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;302:349- 355.
120. Greene NP, Martin SE, Crouse SF. Acute exercise and training alter blood lipid and lipoprotein profiles differently in overweight and obese men and women. *Obesity (Silver Spring).* 2012;20:1618-1627.
121. Bays HE. Adiposopathy, diabetes mellitus, and primary prevention of atherosclerotic coronary heart disease: treating “sick fat” through improving fat function with anti-diabetes therapies. *Am J Cardiol.* 2012;110:4-12.
122. Bays H, Ballantyne C. Adiposopathy: why do adiposity and obesity cause metabolic disease? *Future Lipidol.* 2006;1:389-420.
123. Bays HE, Gonzalez-Campoy JM, Bray GA, et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008;6:343-368.
124. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(2):325-33.
125. Đurić P. Poremećaji metabolizma organskih materija. U: Živančević-Simonović S (ur.). *Opšta patološka fiziologija, Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski fakultet, Kragujevac, 2002, 423-440.*
126. Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. *Br J Anaesth.* 2004;93(1):105-13.
127. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circ Res.* 2007;100(2):158-73.
128. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: II. Representative vascular beds. *Circ Res.* 2007;100(2):174-90.
129. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109(23):27-32.

130. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288:373-376.
131. Flammer AJ, Luscher TF. Human endothelial dysfunction: EDRFs. *Pflugers Arch*. 2010;459:1005-1013.
132. Edwards G, Feletou M, Weston AH. Endothelium-derived hyperpolarizing factors and associated pathways: a synopsis. *Pflugers Arch*. 2010; 459:863-879.
133. Pries AR, Kuebler WM. Normal endothelium. *Handb Exp Pharmacol*. 2006;(176 Pt 1):1-40.
134. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrangé D, Creager MA, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995;75:71-74.
135. Aird WC. Endothelium and haemostasis. *Hamostaseologie*. 2015;35(1):11-6.
136. Liao JK. Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation. *J Clin Invest*. 2013;123(2):540-1.
137. De Caterina R. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*. 1995;96(1):60–68.
138. Gimbrone MA Jr, Nagel T, Topper JN. Biomechanical activation: An emerging paradigm in endothelial adhesion biology. *J Clin Invest*. 1997;99(8):1809–1813.
139. Xiao L, Liu Y, Wang N. New paradigms in inflammatory signaling in vascular endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;306(3):317-25.
140. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(9):678-89.
141. Butcher E. C. Leukocyte–endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell*;1991:67, 1033–1036.
142. Springer T. A. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu. Rev. Physiol*. 1995;57: 827–872.

143. Laudanna C, Kim J.Y, Constantin G and Butcher E. Rapid leukocyte integrin activation by chemokines. *Immunol. Rev.* 2002;186:37–46.
144. Imhof B.A. and Aurrand-Lions M. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nature Rev. Immunol.* 2004;4:432–444.
145. Muller W. A. Leukocyte–endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. *Trends Immunol.* 2003;24:327–334.
146. Kansas G.S. Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood.*1996; 88:3259–3287.
147. Hidalgo A, Peired A.J., Wild K, Vestweber D and Frenette S. Complete identification of E-selectin ligands on neutrophils reveals distinct functions of PSGL-1, ESL-1, and CD44. *Immunity.*2007;26:477–489.
148. Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, Sonoyama K, Clancy O, Jeziorska M et al. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. *Circulation.* 2009;119(12):1661-70.
149. Deanfield JE, Halcox J, Rabelink TN. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115 (10):1285-95.
150. Karaca Ü, Schram MT, Houben AJ, Muris DM, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction as a link between obesity, insulin resistance and hypertension. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103(3):382-7.
151. Bakker W, Sipkema P, Stehouwer CD, Serne EH, Smulders YM, van Hinsbergh VW, et al. Protein kinase C theta activation induces insulin-mediated constriction of muscle resistance arteries. *Diabetes.* 2008;57(3):706-13.
152. Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda).* 2007;22:252–60.
153. Bensinger SJ, Tontonoz P. Integration of metabolism and inflammation by lipid-activated nuclear receptors. *Nature.* 2008;454:470–477.

154. Wolinsky H. A proposal linking clearance of circulating lipoproteins to tissue metabolic activity as a basis for understanding atherogenesis. *Circ Res.* 1980;47:301–11.
155. Mittendorfer B. Origins of metabolic complications in obesity: adipose tissue and free fatty acid trafficking. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011;14(6):535-41.
156. Booth G, Stalker TJ, Lefer AM, Scalia R. Mechanisms of amelioration of glucose-induced endothelial dysfunction following inhibition of protein kinase C in vivo. *Diabetes.* 2002;51:1556–1564.
157. Zhou J, Qin G. Adipocyte dysfunction and hypertension. *Am J Cardiovasc Dis.* 2012; 2(2): 143–149.
158. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel R, et al. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation.* 2003;108(6):736-40.
159. Devaraj S, Du Clos TW, Jialal I. Binding and internalization of C-reactive protein by Fc gamma receptors on human aortic endothelial cells mediates biological effects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:995–1001.
160. Verma S, Szmitko PE. Is C-reactive protein a culprit in atherogenesis? C-reactive protein and cardiovascular disease. *MediEdition* 2006;53–62.
161. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem* 2009;55:229–38.
162. Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized low-density lipoprotein. *Methods Mol Biol.* 2010;610:403-17.
163. Steinbrecher UP, Parthasarathy S, Leake DS, Witztum JL, Steinberg D. Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984;81:3883–3887.
164. Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res.* 2004;45:993–1007.

165. Lebovitz HE. Insulin resistance: definition and consequences. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007;3(1):46-56.
166. Rask-Madsen C, King GL Mechanisms of Disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3(1):46-56.
167. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006;113(15):1888-904.
168. Sjöholm A, Nyström T. Endothelial inflammation in insulin resistance. *Lancet*. 2005;365(9459):610-2.
169. Worm J. Insulin and insulin-like growth factor-1 inhibit monocyte adhesion to endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2015;241(1):75-76.
170. Favre GA, Esnault VL, Van Obberghen E. Modulation of glucose metabolism by the renin-angiotensin-aldosterone system. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;308(6):435-49.
171. Avolio A, Grassi G. Microvascular function: disturbed by obesity and rescued by angiotensin blockade. *J Hypertens*. 2015;33(5):928-30.
172. Yannoutsos A, Levy BI, Safar ME, Slama G, Blacher J. Pathophysiology of hypertension: interactions between macro and microvascular alterations through endothelial dysfunction. *J Hypertens*. 2014;32(2):216-24.
173. Flammer A, Anderson T, Celermajer D, Creager A, Deanfield J, Ganz P, et al. The Assessment of Endothelial Function – From Research into Clinical Practice. *Circulation*. 2012; 126(6): 753–767.
174. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003;23:168–175.
175. Flammer AJ, Luscher TF. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases. *Swiss Med Wkly*. 2010;140:w13122.
176. Beltrame JF, Crea F, Camici P. Advances in coronary microvascular dysfunction. *Heart, lung & circulation*. 2009;18:19–27.

177. Camici PG, Crea F. Coronary microvascular dysfunction. *The New England journal of medicine*. 2007;356:830–840.
178. Đerić, M., Kojić-Damjanov, S., Čabarkapa, V. and Eremić, N. Biochemical markers of atherosclerosis. *Journal of Medical Biochemistry*.2008; 27(2), 148-153.
179. Upadhyay R. Emerging Risk Biomarkers in Cardiovascular Diseases and Disorders *J Lipids*. 2015; 2015: 971453.
180. Muris DM, Houben AJ, Schram MT, Stehouwer CD. Microvascular dysfunction: an emerging pathway in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Rev Endocr Metab Disord*. 2013;14(1):29-38.
181. Rosario Scalia. The microcirculation in adipose tissue inflammation. *Rev Endocr Metab Disord* 2013; 14:69-76.
182. Zhang J, Defelice AF, Hanig JP, Colatsky T. Biomarkers of endothelial cell activation serve as potential surrogate markers for drug-induced vascular injury.*Toxicol Pathol*. 2010;38(6):856-71.
183. Stošić Z, ed. *Patološka fiziologija*. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, 2012.
183. Gamulin S, Marušić M, Kovač Z, eds. *Patofiziologija*. Knjiga prva. Sedmo obnovljeno i izmenjeno izdanje. Zagreb: Medicinska naklada Zagreb, 2011.
184. Živančević-Simonović S, ed. *Opšta patološka fiziologija*. Drugo izdanje. Kragujevac: Medicinski fakultet u Kragujevcu, 2006.
185. Fauci AS, Kasper DL, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, et al, eds. *Harrison's principles of Internal medicine*. 17th edition. New York-Toronto: The McGraw-Hill Companies, 2008.
186. Kulauzov M, ed. *Patološka fiziologija*. Deo 1. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, 2004.
187. Libby P, Hansson GK. Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree: players and layers. *Circ Res*. 2011;116(2):307-11.

188. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Ateroskleroza u svetlu postojećih naučnih teorija. *Medicinska istraživanja*.2008;42 (2):29-36.
189. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Zapaljenski proces u aterogenezi – nove činjenice o starom plamenu. *Medicinski pregled*.2012;65(9-10):388-395.
190. Tegos TJ, Kalodiki E, Sabetai MM, Nicolaidis AN. The genesis of atherosclerosis and risk factors: a review. *Angiology*. 2001;52:89-98.
191. Dzau VJ. Pathobiology of atherosclerosis and plaque complications. *Am Heart J* 1994;128:1300-1304.
192. Radak Đ, Maravić-Stojković V. Imunološki aspekti ateroskleroze. U: Radak Đ, Maravić- Stojković V (ur.). *Imunologija u genezi i terapiji ateroskleroze*. Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, 2004, 7-30.
193. Paffen E, De Maat PMM. C-reactive protein in atherosclerosis: a causal factor? *Cardiovasc Res* 2006;71:30-39.
194. Đurić D. Endotel i aterogeneza. U: Đurić MD (ur.). *Ateroskleroza: faktori rizika, patogeneza, terapija, prevencija: sa međunarodno prihvaćenim preporukama za prevenciju ateroskleroze*. Društvo fiziologa Srbije (Kragujevac: Grafičar), Beograd, 2005, 29-43.
195. Mudau M, Genis A, Lochner A, Strijdom H. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc J Afr*. 2012;23(4):222-31.
196. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
197. Bray GA. *Contemporary Diagnosis and Measurement of Obesity*, Published by Handbooks in Health Care Co. Newton, Pennsylvania, USA, 1998: 5-104.
198. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.

199. Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Järvinen H, et al. The oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000;23: 295–301.
199. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CNB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004;110:227–39.
200. Reiner Ž, Catapano AL, De Baker G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. The task force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 2011;32(14):1769-818.
200. Pearson T, Mensah G, Wayne Alexander G, Anderson Jeffrey L, et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511.
201. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, Woo KS. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovasc Dis*.2012; 34(4): 290-296.
202. Engelen L, Ferreira I, Stehouwer CD, Boutouyrie P and Laurent S. Reference intervals for common carotid intima-media thickness measured with echotracking: relation with risk factors. *Eur Heart J*. 2013;34(30): 2368-2380.
203. Simundic AM. Practical recommendations for statistical analysis and data presentation in *Biochemia Medica* journal. *Biochem Med* 2012;22:15-23.
204. Flint AJ, Hu FB, Glynn RJ, Caspard H, Manson JE, Willett WC, Rimm EB. Excess weight and the risk of incident coronary heart disease among men and women. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18(2):377–83.
205. Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Atherosclerosis*. 2012;223(1):1-68.

205. Cooney MT, Dudina A, D'Agostino R, Graham IM. Cardiovascular risk-estimation systems in primary prevention: Do they differ? Do they make a difference? Can we see the future? *Circulation* 2010;122:300–10.
207. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008;117:743–53.
208. Lloyd-Jones DM. Cardiovascular risk prediction: basic concepts, current status, and future directions. *Circulation* 2010;121:1768–77.
208. Koenig W. Cardiovascular biomarkers: added value with an integrated approach? *Circulation* 2007;116:3–5.
209. Wang JT. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation* 2011;123:551–65.
210. Global Burden of Metabolic Risk Factors for Chronic Diseases Collaboration (BMI Mediated Effects), Lu Y, Hajifathalian K, Ezzati M, Woodward M, Rimm EB, Danaei G. Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: a pooled analysis of 97 prospective cohorts with 1.8 million participants. *Lancet*. 2014;383(9921):970-83.
211. Mørkedal B, Vatten LJ, Romundstad PR, Laugsand LE, Janszky I. Risk of myocardial infarction and heart failure among metabolically healthy but obese individuals: HUNT (Nord-Trøndelag Health Study), Norway. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(11):1071-8.
212. Seo MH, Rhee EJ. Metabolic and cardiovascular implications of a metabolically healthy obesity phenotype. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2014;29(4):427-34.
213. Esser N, Paquot N, Scheen AJ. Inflammatory markers and cardiometabolic diseases. *Acta Clin Belg*. 2015;70(3):193-9.
214. Reis F., Palavra G. Inflammation Biomarkers and Cardiometabolic Risk in Biomarkers of Cardiometabolic Risk, Inflammation and Disease. 2015;1-24
215. Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med*. 2004;351(25):2599–610.

217. Ponthieux A, Herbeth B, Droesch S, Haddy N, Lambert D, Visvikis S. Biological determinants of serum ICAM-1, E-selectin, P-selectin and L-selectin levels in healthy subjects: the Stanislas study. *Atherosclerosis*. 2004;172(2):299-308.
218. Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. *Cardiovasc Res*. 2005;66(2):286-94.
219. Rudloff S, Thomas C, Kunz C. Variations of soluble intercellular cell adhesion molecule 1 (sICAM-1) in serum of adult volunteers. *Eur J Med Res* 1995;1:171–2.
220. Blann AD, Daly RJ, Amiral J. The influence of age, gender and ABO blood group on soluble endothelial cell markers and adhesion molecules. *Br J Haematol* 1996;92:498–500.
221. Ling S, Nheu L, Komesaroff PA. Cell adhesion molecules as pharmaceutical target in atherosclerosis. *Mini Rev Med Chem*. 2012;12(2):175-83.
222. Miller MA, Cappuccio FP. Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multiethnic population. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(8):1176-82.
223. Bosanská L, Michalský D, Lacinová Z, Dostálová I, Bártlová M, Haluzíková D et al. The influence of obesity and different fat depots on adipose tissue gene expression and protein levels of cell adhesion molecules. *Physiol Res*. 2010;59(1):79-88.
224. Scheuer SH, Færch K, Philipsen A, Jørgensen ME, Johansen NB, Carstensen B, et al. Abdominal fat distribution and cardiovascular risk in men and women with different levels of glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;29:JC20144479.
225. Gast KB, den Heijer M, Smit JW, Widya RL, Lamb HJ, de Roos A, et al. NEO study group. Individual contributions of visceral fat and total body fat to subclinical atherosclerosis: The NEO study. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):547-554.
226. Clemente G, Mancini M, Giacco R, Tornatore A, Ragucci M, Riccardi G. Visceral adiposity and subclinical atherosclerosis in healthy young men. *Int J Food Sci Nutr*. 2015;66(4):466-70.
227. Després JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. *Circulation*. 2012;126(10):1301-13.

228. Ito H, Ohshima A, Inoue M, Ohto N, Nakasuga K, Kaji Y, Maruyama T, Nishioka K. Weight reduction decreases soluble cellular adhesion molecules in obese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002;29(5-6):399-404.
229. Salmenniemi U, Ruotsalainen E, Pihlajamäki J, Vauhkonen I, Kainulainen S, Punnonen K, et al. Multiple abnormalities in glucose and energy metabolism and coordinated changes in levels of adiponectin, cytokines, and adhesion molecules in subjects with metabolic syndrome. *Circulation*. 2004;110(25):3842-8.
230. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T, Horikami K, Hirao K, et al. High serum concentrations of soluble E-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2002;51(7):932-4.
231. Nijhuis J, van Dielen FM, Fouraschen SM, van den Broek MA, Rensen SS, Buurman WA, et al. Endothelial activation markers and their key regulators after restrictive bariatric surgery. *Obesity (Silver Spring)*. 2007;15(6):1395-9.
232. Adrielle Lima Vieira R, Nascimento de Freitas R, Volp AC. Adhesion molecules and chemokines; relation to anthropometric, body composition, biochemical and dietary variables. *Nutr Hosp*. 2014;30(2):223-36.
232. Bosanská L, Michalský D, Lacinová Z, Dostálová I, Bártlová M, Haluzíková D, et al. The influence of obesity and different fat depots on adipose tissue gene expression and protein levels of cell adhesion molecules. *Physiol Res*. 2010;59(1):79-88.
233. Savoia C, Sada L, Zezza L, Pucci L, Lauri FM, Befani A, et al. Vascular inflammation and endothelial dysfunction in experimental hypertension. *Int J Hypertens*. 2011;2011:281240. doi: 10.4061/2011/281240. Epub 2011 Sep 11.
234. Bachmayer C, Kemmer A, Ehrmann N, Hasenberg T, Lammert A, Hammes HP. Adipokines and endothelial dysfunction in obesity WHO III. *Microvasc Res*. 2013;89:129-33.
235. Gearing AJH, Pigott R, Highes J, Rees AJ, Cashman SJ. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1: pathological significance. *Ann N Y Acad Sci*. 1992;667:324-331.

236. Budnik A, Grewe M, Gyufko K, Krutman J. Analysis of the production of soluble ICAM-1 molecules by human cells. *Exp Hematol*. 1996;24:352–359.
237. Blann AD, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leucocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 1994;72:151–154.
238. Hackman A, Abe Y, Insull W, Pownall H, Smith L, Dunn K, et al. Levels of soluble cell adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation*. 1996;93:1334–1338.
239. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Davoli A, De Santis A, Campagnola M, et al. Elevated levels of soluble E-selectin in patients with IDDM and NIDDM: relation to metabolic control. *Diabetologia*. 1995;38:1122–1124.
240. Ceriello A, Falletti E, Bortolotti N, Motz E, Cavarape A, Russo A, et al. Increased circulating adhesion molecule-1 levels in type II diabetic patients: the possible role of metabolic and oxidative stress. *Metabolism*. 1996;45:448–451.
241. Pou KM, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Maurovich-Horvat P, Larson MG, et al. Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007;116(11):1234–41.
242. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J*. 2013;34:2436–43.
243. Emerging Risk Factors C, Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, Gobin R, Kaptoge S, et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010;375:2215–22.
244. Gast KB, Tjeerdema N, Stijnen T, Smit JW, Dekkers OM. Insulin resistance and risk of incident cardiovascular events in adults without diabetes: meta-analysis. *PloS ONE*. 2012;7:e52036.
245. Pontiroli AE, Pizzocri P, Koprivec D, Vedani P, Marchi M, Arcelloni C, et al. Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *Eur J Endocrinol*. 2004;150(2):195–200.

246. Szepietowska B, McNitt S, Kutylifa V, Ryan D, Corsetti J, Sparks C, et al. Insulin resistance predicts the risk for recurrent coronary events in post-infarction patients. *Cardiol J*. 2015 Mar 3. doi: 10.5603/CJ.a2015.0014.
247. Targher G, Bonadonna RC, Alberiche M, Zenere MB, Muggeo M, Bonora E. Relation between soluble adhesion molecules and insulin sensitivity in type 2 diabetic individuals: role of adipose tissue. *Diabetes Care*. 2001;24(11):1961-6.
247. Adamska A, Karczewska-Kupczewska M, Nikolajuk A, Otziomek E, Górska M, Kowalska I, et al. Relationships of serum soluble E-selectin concentration with insulin sensitivity and metabolic flexibility in lean and obese women. *Endocrine*. 2014;45(3):422-9.
248. Galgani JE, Moro C, Ravussin E. Metabolic flexibility and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295(5):1009-17.
249. Matsuda M. Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20(2):79-86.
250. Kotsis VT, Stabouli SV, Papamichael CM, Zakopoulos NA. Impact of obesity in intima media thickness of carotid arteries. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(10):1708-15.
251. Pursnani S, Diener-West M, Sharrett AR. The effect of aging on the association between coronary heart disease risk factors and carotid intima media thickness: an analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort. *Atherosclerosis*. 2014;233(2):441-6.
252. Naqvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7(10):1025-38.
253. Fathi R, Haluska B, Isbel N, Short L, Marwick TH. The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:616–623.
254. Maher V, O’Dowd M, Carey M, et al. Association of central obesity with early carotid intima-media thickening is independent of that from other risk factors. *Int J Obes (Lond)* 2009;33:136–143
255. Duivenvoorden R, de Groot E, Stroes ES, Kastelein JJ. Surrogate markers in clinical trials—challenges and opportunities. *Atherosclerosis*. 2009;206(1):8-16.

256. Baldassarre D, Hamsten A, Veglia F, et al.; IMPROVE Study Group. Measurements of carotid intima-media thickness and of interadventitia common carotid diameter improve prediction of cardiovascular events: results of the IMPROVE (Carotid Intima Media Thickness [IMK] and IMK-Progression as Predictors of Vascular Events in a High Risk European Population) study. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1489–1499.
257. Alagona P Jr, Ahmad TA. Cardiovascular Disease Risk Assessment and Prevention: Current Guidelines and Limitations. *Med Clin North Am.* 2015;99(4):711-731.
258. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, et al. Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice; European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Atherosclerosis.* 2012;223(1):1-68.
259. Berry JD, Liu K, Folsom AR, Lewis CE, Carr JJ, Polak JF, et al. Prevalence and progression of subclinical atherosclerosis in younger adults with low short-term but high lifetime estimated risk for cardiovascular disease: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study and Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation* 2009; 119:382–9.
260. Figueroa-Vega N, Moreno-Frías C, Malacara JM. Alterations in adhesion molecules, pro-inflammatory cytokines and cell-derived microparticles contribute to intima-media thickness and symptoms in postmenopausal women. *PloS One.* 2015 May 19;10(5):e0120990. doi: 10.1371/journal.pone.0120990. eCollection 2015.
261. Megias-Rangil I, Merino J, Ferré R, Plana N, Heras M, Cabré A, et al. Subclinical atherosclerosis determinants in morbid obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24(9):963-8.
262. Ciftci Dogansen S, Helvacı A1, Adas M, Deniz Onal S. The relationship between early atherosclerosis and endothelial dysfunction in type 1 diabetic patients as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and soluble CD146 levels: a cross sectional study. *Cardiovasc Diabetol.* 2013;12:153. doi: 10.1186/1475-2840-12-153.

263. Kardassis D, Schönander M, Sjöström L, Karason K. Carotid artery remodelling in relation to body fat distribution, inflammation and sustained weight loss in obesity. *J Intern Med*. 2014;275(5):534-43.
264. Saito D, Oka T, Kajiyama A, Ohnishi N, Shiraki T. Factors predicting compensatory vascular remodelling of the carotid artery affected by atherosclerosis. *Heart*. 2002;87(2):136-9.
265. Balletshofer BM, Haap M, Rittig K, Stock J, Lehn-Stefan A, Häring HU. Early carotid atherosclerosis in overweight non-diabetic individuals is associated with subclinical chronic inflammation independent of underlying insulin resistance. *Horm Metab Res* 2005;37:331–335.
266. Zhang Y, Guallar E, Qiao Y, Wasserman BA. Is carotid intima-media thickness as predictive as other noninvasive techniques for the detection of coronary artery disease? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(7):1341-5.
267. Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M et al; PROG-IMK Study Group. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMK collaborative project): a meta-analysis of individual participant data. *Lancet*. 2012;379:2053–2062.
268. Granér M, Varpula M, Kahri J, Salonen RM, Nyssönen K, Nieminen MS, et al. Association of carotid intima-media thickness with angiographic severity and extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2006;97:624–629.
269. O’Leary DH, Bots ML. Imaging of atherosclerosis: carotid intima-media thickness. *Eur Heart J*. 2010;31:1682–1689.
270. Vakkilainen J, Steiner G, Ansquer JC, Aubin F, Rattier S, Foucher C, et al. Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation* 2003;107:1733–7.
271. Prospective Studies Collaboration. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55000 vascular deaths. *Lancet* 2007;370:1829–39.

272. DiAngelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, et al. Emerging Risk Factors Collaboration. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA* 2009;302:1993 – 2000.
273. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Fulcher J, O'Connell R, Voysey M, Emberson J, Blackwell L, Mihaylova B, et al. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174,000 participants in 27 randomised trials. *Lancet*. 2015;385(9976):1397-405.
274. Ridker PM. LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *Lancet*. 2014;384(9943):607-17.
275. Gandotra P, Miller M. The role of triglycerides in cardiovascular risk. *Curr Cardiol Rep*. 2008;10(6):505-11.
276. Williams K, Sniderman AD, Sattar N, D'Agostino R, Wagenknecht LE, Haffner SM. Comparison of the association of apolipoprotein B and low-density lipoprotein cholesterol with other cardiovascular risk factors in the insulin resistance atherosclerosis study. *Circulation* 2003;108:2312–6.
277. Zheng L, Nukuma B, Brennan ML, Sun M, Goormastic M, Settle M, et al. Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *J Clin Invest*. 2004;114:529–41.
278. Van der Steeg WA, Boekholdt SM, Stein EA, El-Harchaoui K, Stroes ES, Sandhu MS, et al. Role of the apolipoprotein B-apolipoprotein A-I ratio in cardiovascular risk assessment: a case-control analysis in EPIC-Norfolk. *Ann Intern Med* 2007;146:640– 8.
279. Benn M, Nordestgaard B, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Improving prediction of ischemic cardiovascular disease in the general population using apolipoprotein B: the Copenhagen City Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:661–70.
280. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107:391–7.

281. Aronson D, Avizohar O, Levy Y, Bartha P, Jacob G, Markiewicz W. Factor analysis of risk variables associated with low-grade inflammation. *Atherosclerosis* 2008;200:206–12.
282. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1477–82.
283. Fibrinogen Studies Collaboration. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant metaanalysis. *JAMA* 2005;294:1799–809.
284. Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Additive value of immunoassay-measured fibrinogen and high-sensitivity C-reactive protein levels for predicting incident cardiovascular events. *Circulation* 2006;114:381–7.
285. Emerging Risk Factors Collaboration. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med* 2012;367:1310–20.
286. Glynn RJ, MacFadyen JG, Ridker PM. Tracking of high-sensitivity C-reactive protein after an initially elevated concentration: the JUPITER study. *Clin Chem* 2009;55:305–12.
287. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, Gaziano M, Cook NR. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: The Reynolds Risk Score for men. *Circulation* 2008;118:2243–51.
288. Wilson PWF, Pencina M, Jacques P, Selhub J, D'Agostino R, O'Donnell CJ. C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2008;1:92–7.
289. Corsetti JP, Zareba W, Moss AJ, Rainwater DL, Sparks CE. Elevated HDL is a risk factor for recurrent coronary events in a subgroup of non-diabetic postinfarction patients with hypercholesterolemia and inflammation. *Atherosclerosis* 2006;187:191–7.
290. Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, et al. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2014;371(25):2383-93.

291. McAuley PA, Chen H, Lee DC, Artero EG, Bluemke DA, Burke GL. Physical activity, measures of obesity, and cardiometabolic risk: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Phys Act Health*. 2014;11(4):831-7.
292. Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Genetic, epidemiologic and clinical data strongly suggest that fasting or non-fasting triglycerides are independent cardiovascular risk factors. *Curr Med Res Opin*. 2015;31(3):435-8.
293. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014 Aug 16;384(9943):626-35.
294. Kassner U, Schlabs T, Rosada A, Steinhagen-Thiessen E. Lipoprotein(a)—An independent causal risk factor for cardiovascular disease and current therapeutic options. *Atheroscler Suppl*. 2015;18:263-7.
295. Schmitz G, Orsó E. Lipoprotein(a) hyperlipidemia as cardiovascular risk factor: pathophysiological aspects. *Clin Res Cardiol Suppl*. 2015;10:21-5.
296. Danik JS, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein (a), measured with an assay independent of apolipoprotein (a) isoform size, and risk of future cardiovascular events among initially healthy women. *JAMA* 2006;296:1363–70.
298. Pingmuangkaew P, Tangvarasittichai O, Tangvarasittichai S. Association of Elevated Serum Uric Acid with the Components of Metabolic Syndrome and Oxidative Stress in Abdominal Obesity Subjects. *Indian J Clin Biochem*. 2015;30(3):286-92.
300. Mehta T, Nuccio E, McFann K, Madero M, Sarnak MJ, Jalal D. Association of Uric Acid With Vascular Stiffness in the Framingham Heart Study. *Am J Hypertens*. 2015;28(7):877-83.
301. Babio N, Martínez-González MA, Estruch R, Wärnberg J, Recondo J, Ortega-Calvo M, et al. Associations between serum uric acid concentrations and metabolic syndrome and its components in the PREDIMED study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2015;25(2):173-80.
302. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004;27(6):1487-95.
303. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. An increase in insulin sensitivity and basal beta-cell function in diabetic subjects treated with pioglitazone in a placebo-controlled randomized study. *Diabet Med*. 2004;21(6):568-76.

304. Abdul-Ghani MA, Matsuda M, Balas B, DeFronzo RA. Muscle and liver insulin resistance indexes derived from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* .2007;30: 89–94.
305. Van den Oord SC, Sijbrands EJ, ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van der Steen AF, Schinkel AF. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2013;228(1):1-11.

Prilog 1

Parametar	X	SD	Me	95%CI za Me
Starost (godine)	36,013	4,47	36	35,000 – 38,000
ITM (kg/m ²)	32,976	9,63	34	29,731 – 37,021
OS (cm)	112,158	25,37	116,650	98,000 – 129,000
OS/TV	0,640	0,15	0,650	0,549 – 0,710
FAT (%)	34,204	12,49	36,7	30,473 – 42,623
FAT T (%)	32,841	12,23	36	31,454 – 39,500
Glukoza našte (mmol/L)	4,828	0,72	4,725	4,600 – 4,938
Insulin našte (mU/mL)	14,106	10,034	11	8,588 – 14,600
Glukoza 2h (mmol/L)	5,281	1,510	5,130	4,688 – 5,400
Insulin 2h (mU/mL)	33,539	28,59	22,950	20,977 – 27,723
HOMA-IR	3,144	2,491	2,265	1,805 – 2,991
HOMA1-%B	242,128	185,7	170,750	139,57 – 260
ISI	0,084	0,034	0,1	0,080 – 0,100
Fibrinogen (g/L)	3,245	0,941	2,99	2,727 – 3,420
hsCRP (mg/L)	4,050	3,32	3,265	1,977 – 5,212
Leukociti	6,785	1,64	6,735	6,400 – 7,180
Odnos neutrofili/limfociti	1,812	0,84	1,44	1,357 – 1,791
Trombociti	255,688	47,64	253	235 – 269,577
sE-selektin (ng/mL)	33,059	10,66	33,47	28,486 – 36,165
sICAM-1 (ng/mL)	254,704	80,11	242,08	207,26 – 264,8
SKP (mmHg)	121,063	9,95	120	120– 120
DKP (mmHg)	79,188	5,059	80	80 – 80
Mokraćna kiselina (μmol/L)	339,180	100,49	348,5	293,885 – 366,231
Urea (mmol/L)	4,96	1,28	4,9	4,08 - 5,26
Kreatinin (μmol/L)	72,43	14,32	70,5	67,08 - 77,78
GGT (U/L)	16,88	10,6	15	9,85 - 17,29
ALT (mJ/mL)	26,829	15,22	23	20,000 – 28,000
AST (mJ/mL)	23,171	8,12	21	19,462 – 23,000
ALT/AST	1,133	0,53	1,06	0,886 – 1,198
TSH (mIU/L)	2,87	0,26	2,56	1,96-3,24
Homocistein (μmol/L)	10,181	2,17	9,99	9,598 - 10,403
apoAI (g/L)	1,305	0,21	1,28	1,237 - 1,372
ApoB (g/L)	0,892	0,22	0,865	0,779 - 0,931
apoB/AI	0,711	0,22	0,665	0,619 - 0,730
HbA1c (mmol/mol)	33,21	2,56	32,91	30,59 – 39,68
HDL-H (mmol/L)	1,269	0,32	1,26	1,159 - 1,390
LDL-H (mmol/L)	3,259	0,81	3,14	2,763 - 3,474

Lp(a) (g/L)	0,195	0,19	0,110	0,080 - 0,160
Trigliceridi (mmol/L)	1,310	0,83	1,090	0,930 - 1,351
TG/HDL	1,234	1,07	0,890	0,750 - 1,050

Prilog 2

Komunaliteti

	Initial	Extraction
FAT (%)	1.000	.874
ITM (kg/m ²)	1.000	.902
OS (cm)	1.000	.895
OS/TV	1.000	.871
FAT T (%)	1.000	.878
Glukoza našte (mmol/L)	1.000	.601
Glukoza 2h (mmol/L)	1.000	.713
Insulin našte (mU/mL)	1.000	.908
Insulin 2h (mU/mL)	1.000	.641
HOMA-IR	1.000	.890
HOMA1-%B	1.000	.751
ISI	1.000	.966
HbA1c	1.000	.740
sICAM-1 (ng/mL)	1.000	.689
sE-selektin (ng/mL)	1.000	.747
Homocistein (μmol/l)	1.000	.347
Mokraćna kiselina (μmol/l)	1.000	.773
ALT/AST	1.000	.489
hsCRP (mg/L)	1.000	.600
TG/HDL-H	1.000	.641
Odnos neutrofili/limfociti	1.000	.448
apoB/AI	1.000	.759
Lp(a) (g/L)	1.000	.582
Trombociti	1.000	.200
LDL - H (mmol/L)	1.000	.734
Fibrinogen (g/L)	1.000	.626
SKP (mmHg)	1.000	.438
DKP (mmHg)	1.000	.221

Ekstrakcija faktora

Faktor	Pre ekstrakcije			Posle ekstrakcije			Promax rotacija
	faktora			faktora			ukupno
	<i>eigenvalue</i>	% varijacije	kumulativni %	<i>eigenvalue</i>	% varijacije	kumulativni %	
1	11.238	38.753	38.753	11.238	38.753	38.753	8.837
2	3.046	10.503	49.256	3.046	10.503	49.256	7.208
3	2.617	9.025	58.281	2.617	9.025	58.281	6.006
4	1.854	6.393	64.674	1.854	6.393	64.674	3.998
5	1.462	5.041	69.715	1.462	5.041	69.715	4.028
6	1.218	4.201	73.916				
7	1.059	3.653	77.569				
8	1.034	3.566	81.135				
9	.824	2.841	83.976				
10	.699	2.411	86.387				
11	.669	2.306	88.693				
12	.557	1.922	90.615				
13	.494	1.702	92.317				
14	.409	1.411	93.728				
15	.336	1.157	94.885				
16	.316	1.091	95.977				
17	.244	.842	96.819				
18	.232	.801	97.620				
19	.207	.712	98.332				
20	.131	.453	98.785				
21	.104	.359	99.143				
22	.081	.279	99.422				
23	.060	.208	99.631				
24	.039	.134	99.765				
25	.030	.105	99.869				
26	.021	.073	99.942				
27	.012	.041	99.983				
28	.004	.012	99.996				
29	.001	.004	100.000				