

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
DOKTORSKE STUDIJE KLINIČKE MEDICINE



ODNOS IZMEĐU POJEDINIH MARKERA
ATEROSKLEROTSKE BOLESTI I DEBLJINE INTIMA-
MEDIJA KOMPLEKSA KAROTIDNE ARTERIJE KOD
BOLESNIKA SA METABOLIČKIM SINDROMOM

-Doktorska disertacija-

MENTOR: Prof. dr Mirjana Đerić

KANDIDAT: dr Nevena Eremić Kojić

Novi Sad, 2019. godina

**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 (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Nevena Eremić Kojić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Mirjana Đerić
Naslov rada: NR	ODNOS IZMEĐU POJEDINIH MARKERA ATEROSKLEROTSKE BOLESTI I DEBLJINE INTIMA-MEDIJA KOMPLEKSA KAROTIDNE ARTERIJE KOD BOLESNIKA SA METABOLIČKIM SINDROMOM
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2019.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Medicinski fakultet , Hajduk Veljkova 3, Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 7 / stranica 154 / slika 2 / grafikona 6 / tabela 80 referenci 358)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Patološka fiziologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	metabolički sindrom; ateroskleroza; debljina intime-medije karotidnih arterija; biomarkeri; bolest nealkoholne masne jetre; abdominalna gojaznost; insulinska rezistencija
UDK	616.13-004.6-02:616-008.9 616.379-008.64-02:616-008.9 616.39-092
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p>S obzirom na visoku prevalencu metaboličkog sindroma (10-40% u svetskoj populaciji) i na činjenicu da prisustvo metaboličkog sindroma duplira rizik od nastanka aterosklerotske bolesti kardiovaskularnog sistema jasna je potreba za identifikacijom individualnih parametara koji doprinose njenom razvoju. Metabolički sindrom je klaster faktora rizika metaboličkog porekla koji je udružen sa povećanim rizikom za nastanak aterosklerotske bolesti kardiovaskularnog sistema i dijabetes melitusa tipa 2. Insulinska rezistencija, abdominalna gojaznost, aterogena dislipidemija, hipertenzija, proinflamatorno i protrombotično stanje su faktori koji su u osnovi metaboličkog sindroma a često su i praćeni nagomilavanjem masti u jetri. Cilj rada je bio da se utvrdi odnos između markera disfunkcije hepatocita (AST, ALT, GGT), serumskog nivoa inflamatornih biomarkera (broj leukocita, elektroforeza serumskih proteina, CRP, fibrinogen, TNF-α), biomarkera endotelne disfunkcije (ADMA i homocistein), kao i nivoa serumskih adipokina (leptin i adiponektin) i debljine intima-medija kompleksa (IMT) karotidne arterije kao pokazatelja prisustva aterosklerotskog procesa. Ispitivanje je dizajnirano kao studija preseka. U ispitivanje je uključeno 58 ispitanika oba pola sa karakteristikama metaboličkom sindroma</p>

(NCEP:ATP III kriterijumi). Odabir ispitanika je vršen u Odeljenju za pravilnu ishranu i zdravstvenu bezbednost hrane, Instituta za javno zdravlje Vojvodine. Kontrolnu grupu su sačinjavale 30 klinički i biohemijski zdravih ispitanika nepušača koji su prema polnoj i dobnoj strukturi odgovarali ispitivanim grupama bolesnika. Iz ispitivanja su isključene osobe koje konzumiraju više od 20g/dan alkohola, pušači, koji imaju dijagnostikovani virusni hepatitis B ili C ili pozitivan Hbs antigen, anti-Hbs antitela i anti-HCV antitela, osobe koje imaju verifikovana oboljenja kardiovaskularnog sistema, bubrega, CNS-a, infektivna, maligna i autoimuna oboljenja kao i druga oboljenja jetre i žučnih puteva, osobe koje su pod medikamentoznom terapijom koja može uticati na nivo serumskih biomarkera endotelne disfunkcije, lipidni i lipoproteinski status, glikoregulaciju kao i menstruacioni ciklus. Sve laboratorijske analize su urađene u Centru za laboratorijsku medicinu, Kliničkog centra Vojvodine. Doppler ultrasonografski pregled karotidnih arterija i ultrazvuk abdomena i jetre je urađen u Centru za radiologiju Kliničkog centra Vojvodine.

Signifikantna pozitivna korelacija niskog stepena je utvrđena između IMT zajedničke karotidne arterije i serumskih koncentracija GGT, hsCRP i leptina kao i odnosa neutrofililimfociti. Prema prvom konstruisanom regresionom modelu u kojem je zavisna varijabla bila IMT preko 0,09 cm statistički značajan uticaj na predviđanje debljine IMT zajedničke karotidne arterije imaju hsCRP (Exp (B) 1,112 i glikemija (Exp (B) 1,973). Prema modelu neuronske mreže sa istom zavisnom varijablom najveću mogućnost predviđanja IMT imaju glikemija, AST i fibrinogen. Prema drugom konstruisanom regresionom modelu gde su zavisne varijable bile IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm i prisutnost hepatične steatoze najveću mogućnost predviđanja imaju leptin Exp (B) 1,1022 i ALT Exp (B) 1,053. Prema modelu neuronske mreže sa istom zavisnom varijablom najveću mogućnost predviđanja IMT imaju ALT, ADMA i leptin.

Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	25.09.2012.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

University of Novi Sad
Faculty
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Nevena Eremić Kojić
Mentor: MN	Prof. dr Mirjana Đerić
Title: TI	RELATIONSHIP BETWEEN INDIVIDUAL MARKERS OF ATHEROSCLEROTIC DISEASE AND CAROTID INTIMA-MEDIA THICKNESS OF CAROTID ARTERY IN THE PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2019.
Publisher: PU	
Publication place: PP	Faculty of Medicine Hajduk Veljkova Street 3 Novi Sad

Physical description: PD	Number of chapters 7 / pages 154 / images 2 / graphs 6 / tables 80 / references 358
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Pathophysiology
Subject, Key words SKW	Metabolic Syndrome; Atherosclerosis; Carotid Intima-Media Thickness; Biomarkers; Non-alcoholic Fatty Liver Disease; Obesity, Abdominal; Insulin Resistance
UC	616.13-004.6-02:616-008.9 616.379-008.64-02:616-008.9 616.39-092
Holding data: HD	Library of Faculty of Medicine Novi Sad Hajduk Veljkova Street 3 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	<p>Given the high prevalence of metabolic syndrome (10-40% in the world population) and the fact that the presence of metabolic syndrome doubles the risk of atherosclerotic disease of the cardiovascular system, there is a clear need to identify individual parameters that contribute to its development. Metabolic syndrome is a cluster of the risk factors of metabolic origin that is associated with an increased risk for the onset of atherosclerotic disease of the cardiovascular system and type 2 diabetes mellitus. Insulin resistance, abdominal obesity, atherogenic dyslipidemia, hypertension, proinflammatory and prothrombotic conditions are the factors at the base of the metabolic syndrome and are often accompanied by fat accumulation in the liver.</p> <p>The aim of this work was to determine the relation between markers of hepatic dysfunction (AST, ALT and GGT), serum levels of inflammatory biomarkers (white blood cell count, electrophoresis of serum proteins, CRP, fibrinogen, TNF-α), biomarkers of endothelial dysfunction (ADMA and homocysteine) as well as levels of serum adipokines (leptin and adiponectin) and intima-media thickness of carotid artery as indicators of atherosclerotic process in the patients with metabolic syndrome.</p>

	<p>Study was cross-sectional. It included 58 participants with metabolic syndrome (NCEP:ATP III criteria) as well as 30 clinically and biochemically healthy nonsmokers, age and gender matched controls. Participants were selected in the Department for Nutrition and Food Safety, Center of Hygiene and Human Ecology Institute of Public Health of Vojvodina. Patients that consumed alcohol more than 20g/day were excluded. Participants with positive HBsAg, anti-HBs-antibodies or anti-HCV antibodies were excluded also. Smokers were also excluded. Patients with cardiovascular diseases, renal diseases, infective, hepatic, malignant and autoimmune diseases were excluded from this study. Subjects which used drugs that could affect biomarker levels of endothelial dysfunction, lipid metabolism, glucose metabolism and menstrual cycle were also excluded. All laboratory analyzes were done in Centre for Laboratory Medicine, Clinical Centre of Vojvodina. Doppler ultrasonography of carotid arteries and ultrasound of abdomen and liver were done in Centre for Radiology, Clinical Centre of Vojvodina.</p> <p>Significant positive correlation of low degree was determined between IMT of common carotid artery and serum concentrations between GGT, hsCRP and leptin and relationship neutrophils/lymphocytes. According to the first constructed regression model where dependent variable was IMT of common carotid artery above 0.09 cm statistically significant influence on foreseeing IMT of common carotid artery have hsCRP (Exp (B) 1.112 and glycaemia (Exp (B) 1.973). According to the neuronal network with the same dependent variable greatest probability for foreseeing IMT have glycaemia, AST and fibrinogen. According to the second constructed regression model where dependent variable was IMT above 0.09 cm and present hepatic steatosis greatest probability for foreseeing IMT have leptin Exp (B) 1.1022 and ALT Exp (B) 1.053. According to the neuronal network with the same dependent variable greatest probability for foreseeing IMT have ALT, ADMA and leptin.</p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	<p>25.09.2012.</p>

Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member:

SADRŽAJ

1. UVOD

1.1. Metabolički sindrom: istorijska razmatranja	1
1.2. Metabolički sindrom: definicija	1
1.3. Prevalenca metaboličkog sindroma	5
1.4. Patogeneza metaboličkog sindroma	6
1.4.1. Insulinska rezistencija	7
1.4.2. Abdominalna gojaznost.....	9
1.4.2.1. Disfunkcionalno masno tkivo.....	11
1.4.2.2. Sekretorni profil adipocita u adipozopatiji	13
1.4.2.2.1. Leptin.....	16
1.4.2.2.2. Adiponektin	20
1.4.2.2.3. Ostali adipokini	22
1.4.3. Aterogena dislipidemija	24
1.4.4. Hipertenzija	25
1.4.5. Proinflamatorno stanje	26
1.4.5.1. C-reaktivni protein	26
1.4.5.2. Fibrinogen	28
1.4.6. Protrombotično stanje	28
1.5. Disfunkcija vaskularnog endotela i metabolički sindrom	29
1.5.1. Fiziologija vaskularnog endotela – endotel u normalnoj vaskularnoj homeostazi	29
1.5.2. Patofiziologija endotelne disfunkcije.....	30
1.5.3. Endotelna disfunkcija i metabolički sindrom	31
1.5.3.1. Asimetrični dimetil arginin	33
1.5.3.2. Homocistein	34
1.6. Nealkoholna masna bolest jetre i metabolički sindrom	35
1.7. Aterosklerotska bolest i metabolički sindrom	38
1.8. Metode za procenu obima ateroskleroze	41
1.8.1. Određivanje koronarnog arterijskog kalcijuma	41
1.8.2. Dopler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova	41

1.8.3. Brahijalni indeks članka (ankle-brachial index).....	42
1.9. Metode za procenu obima masne bolesti jetre.....	43
1.9.1. Markeri disfunkcije hepatocita	43
1.9.2. Ultrasonografija	43
1.9.3. Kompjuterizovana tomografija	44
1.9.4. Magnetno rezonantna sprektroskopija	44
2. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	45
3. MATERIJAL I METODE	46
3.1. Ispitanici	46
3.1.1. Konstrukcija i način izbora ispitanika	46
3.1.2. Protokol ispitivanja	47
3.2. Metode ispitivanja	48
3.2.1. Antropometrijski parametri	48
3.2.2. Laboratorijske analize	49
3.2.3. Doppler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova.....	53
3.2.4. Ultrasonografski pregled jetre.....	53
3.3. Osnovne statističke metode obrade podataka	57
4. REZULTATI.....	58
4.1. Opšte karakteristike ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	58
4.1.1. Demografski podaci u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	58
4.1.2. Antropometrijske karakteristike ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	58
4.1.3. Laboratorijski markeri disfunkcije hepatocita u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.....	60
4.1.4. Parametri inflamacije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.....	62
4.1.5. Parametri metabolizma lipida u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	65
4.1.6. Parametri metabolizma glukoze u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	68
4.1.7. Parametri endotelne disfunkcije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	69
4.1.8. Adipokinski profil u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.....	70
4.1.9. Ostali biohemijski parametri u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	71
4.1.10. Analiza debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi	73

4.1.11. Učestalost nealkoholne masne bolesti jetre u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.....	74
4.2. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i analiziranih parametara kod ispitanika sa metaboličkim sindromom	75
4.2.1. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i antropometrijskih pokazatelja	75
4.2.2. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i markera disfunkcije hepatocita	75
4.2.3. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i markera inflamacije.....	76
4.2.4. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ispitivanih parametara endotelne disfunkcije	77
4.2.4.1. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa unutrašnje karotidne arterije i asimetričnog dimetil arginina	78
4.2.4.2. Ispitivanje povezanosti između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i hiperhomocisteinemije	78
4.2.5. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ispitivanih adipokina	79
4.2.6. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i parametara metabolizma glukoze	79
4.2.7. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i parametara lipidskog statusa.....	80
4.2.8. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ostalih ispitivanih biohemijskih parametara	81
4.3. Modeli logističke regresije	82
4.4. Neuronske mreže	84
4.5. Opšte karakteristike ispitanika u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	87
4.5.1. Antropometrijske karakteristike ispitanika u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	87
4.5.2. Laboratorijski markeri disfunkcije hepatocita u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	89

4.5.3.	Parametri inflamacije u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre.....	91
4.5.4.	Parametri metabolizma lipida u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	94
4.5.5.	Parametri metabolizma glukoze u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	96
4.5.6.	Parametri endotelne disfunkcije u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	98
4.5.7.	Parametri adipokinskog profila u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	99
4.5.8.	Ostali ispitivani biohemijski parametri u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	100
4.5.9.	Analiza debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre	101
4.6.	Korelaciona analiza između prisutnosti i stepena nealkoholne masne bolesti jetre i analiziranih parametara.....	102
4.6.1.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i antropometrijskih pokazatelja	102
4.6.2.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera disfunkcije hepatocita.....	103
4.6.3.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera inflamacije	104
4.6.4.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera endotelne disfunkcije	105
4.6.5.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i ispitivanih adipokina	106
4.6.6.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i parametara metabolizma glukoze	106
4.6.7.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i parametara lipidskog statusa	107
4.6.8.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i ostalih ispitivanih biohemijskih parametara	107
4.6.9.	Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije ..	108
5.	DISKUSIJA.....	109

6. ZAKLJUČCI.....	124
7. LITERATURA.....	126

SKRAĆENICE

SZO - Svetska zdravstvena organizacija

HOMA - indeks insulinske rezistencije (homeostasis model assessment)

NCEP:ATP III - Nacionalni edukativni program za lečenje holesterola odraslih, panel III (the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III)

EGIR - Evropska grupa za proučavanje insulinske rezistencije (European Group for the Study of Insulin Resistance)

IDF - Međunarodna federacija za dijabetes (International Diabetes Federation)

NHANES III – Treće nacionalno ispitivanje zdravlja i ishrane (The Third National Health and Nutrition Examination Survey)

BMI - indeks telesne mase

GLUT - glukozni transporter

PI3K - fosfatidil-inozitol-3- kinaza

MAP-kinaza – mitogen aktivirajuća protein kinaza

GSK3 - glikogen-sintaza- kinaza 3

SREBP-1 - protein koji se vezuje za element regulisan sterolom (sterol regulatory element-binding protein-1)

IRS-1 - insulin-receptor-supstrat-1

NAFLD - nealkoholna masna bolest jetre (nonalcoholic fatty liver disease)

MONW – metabolički gojazni normalno uhranjeni (metabolically obese normal weight)

MHO - metabolički zdravi gojazni (metabolically healthy obese)

OS - obima struka

IGF-1 – faktor rasta sličan insulinu 1

CNS - centralni nervni sistem

CSF-3 - stimulišući faktor kolonije 3

JAK - Janus kinaza

STAT - aktivator transkripcije

SOCS3 - supresor signalizacije citokina 3 (suppressor of cytokine signaling)

PTP1B - protein tirozin fosfataze 1B (protein tyrosine phosphatase)

ARC - nucleus arcuatus

VMH - ventromedijalni hipotalamus

DMH - dorzomedijalni hipotalamus

LH – lateralni hipotalamični nukleus,
NPY - neuropeptid Y
AgRP – agouti peptid (agouti related peptide)
MCR – melanokortinski receptori
 α -MSH - alfa melanostimulirajući hormon
POMC - propriomelanokortin
TNF- α - tumor nekrotišući faktor alfa
NO - azot monoksid
PPAR γ – nuklearni receptor koji aktivira proliferaciju peroksizoma γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ)
IGF-1 - faktor rasta sličan insulinu 1
TGF β - transformišući faktor rasta β
TLR4 – receptor sličan Tollu (toll-like receptor 4)
IFN- γ – interferon γ
NF κ B - nuklearni faktor kappa B (*nuclear factor kappa beta*)
RBP - retinol vezujući protein
AMPK - AMP-aktivisana protein kinaza
VEGF - vaskularni endotelni faktor rasta
sFRP-5 - Secreted frizzled-related protein 5
PGI₂ – prostaciklin
sdLDL - male guste LDL čestice (small dense LDL-cholesterol)
sdHDL - male guste HDL čestice (small dense HDL-cholesterol)
CETP - holesterol ester transfer protein
RAAS - renin-angiotenzin-aldosteron
NOS - azot monoksid sintaza
ET-1 - endotelina-1
MCP-1 - monocitni hemoatraktantni protein 1
EDHF - endotelin hiperpolarišući faktor (endothelium-derived hyperpolarizing factor)
ICAM-1 - intracelularni adhezioni molekul-1
VCAM-1 - vaskularni ćelijski adhezioni molekul-1
PAI – inhibitor aktivatora plazminogena
PAF - faktor aktivacije trombocita
TAFI – trombinom aktivisani inhibitor fibrinolize

NLRP3 - nukleotid-vezujućeg domena 3
IL-1 Ra - IL-1 receptor antagonista
ADMA - asimetrični dimetilarginin
PRMT1 - protein arginin metiltransferaza tipa 1
PRMT2 - protein arginin metiltransferaza tipa 2
LNMA - NG monometil-L-arginin
SDMA - NG, N'G-dimetil-L-arginin (simetrični dimetil arginin)
DDAH - NG dimetil-arginin dimetilaminohidrolaza
SAM – S-adenozil metionin
SAH - S-adenozil homocistein
Hcy – homocistein
CBS - cistation β -sintetaza
AGTR 1 - angiotenzin II receptor 1
NASH - nealkoholni steatohepatitis
NAFL - nealkoholna hepatosteatoza (non alcoholic fatty liver)
AASLD - Američko udruženje za ispitivanje bolesti jetre (American Association for the Study of Liver Disease)
PKC- ϵ - protein kinaza C- ϵ
PNPLA3 - patatin like fosfolipaza domen 3 gen
TM6SF2 - gen transmembranske 6 superfamilije 2
OxLDL - oksidovani LDL
LOX-1 - receptori slični lecitinu
SR-BI - scavenger receptor klase B tipa I
ABCA1 - ATP vezjući kasetni protein 1
ABCG1 - ATP vezjući kasetni protein subklase G1
ABI - brahijalni indeks članka (ankle-brachial indeks)
IMT - debljina intima-medija kompleksa
CT - kompjuterizovana tomografija
MRS – magnetno rezonantna spektroskopija
ALT – alanin aminotransferaza
AST – aspartam aminotransferaza
GGT – gama glutamil transferaza
ALP – alkalna fosfataza
ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Apo A-I – apolipoprotein A-I

Apo B – apolipoprotein B

Zahvaljujem se dragoj mentorki, prof. dr Mirjani Đerić, na razumevanju, nesebičnoj stručnoj pomoći, beskrajnom strpljenju i razumevanju u toku izrade doktorske disertacije.

Iskrenu zahvalnost upućujem prof. dr Miri Govorčin na požrtvovanosti, ohrabrenju i velikoj pomoći u toku izrade disertacije.

Zahvaljujem se svim zaposlenima u Centru za laboratorijsku medicinu i Centru za radiologiju, Kliničkog centra Vojvodine koji su mi pomogli prilikom izrade ovog rada. Posebno se zahvaljujem *mojim* devojkama Odeljenja za specijalizovanu laboratorijsku dijagnostiku.

Zahvaljujem se svojoj porodici, suprugu i kćerkama na безусловnoj podršci i razumevanju.

Najzad, ali nikako na kraju ova disertacija je pisani trag duboke zahvalnosti mojim roditeljima i majka Ljubici.

Mojim roditeljima.....

1. UVOD

1.1. Metabolički sindrom: istorijska razmatranja

Stalni rast prevalence gojaznosti predstavlja globalan i veoma ozbiljan problem modernog vremena i načina života s obzirom da prekomerna telesna masa dovodi do narušavanja zdravlja i razvoja komplikacija. Gojaznost i metaboličke komplikacije koje je prate predmet su mnogobrojnih istraživanja koje je započeo još 1761. godine slavni italijanski patolog i kliničar Giovanni Battista Morgani kada je objavio prikaz bolesnika sa promenama koje danas opisujemo kao metabolički sindrom (1). Na nepovoljnu udruženost hipertenzije, hiperglikemije i hiperurikemije prvi je 1923. ukazao švedski lekar Kylin (2). Dvadesetak godina kasnije, 1947. Vague je ukazao na vezu između distribucije masti, adipoziteta gornjeg dela tela (androgeni tip gojaznosti) kao fenotipa koji se dovodi u korelaciju sa rizikom od nastanka dijabetesa tipa 2 i kardiovaskularnih bolesti (3). Camus je 1966. godine prvi put upotrebio naziv metabolički ili tri sindrom, ukazavši na povećani rizik od oboljevanja krvnih sudova kod bolesnika sa dijabetesom, hiperlipidemijom i gihtom(4). Dve godine kasnije, Haller i saradnici su proširili pojam metaboličkog sindroma i povezali gojaznost, dislipoproteinemiju, dijabetes tip 2, giht i povišeni krvni pritisak (5). Godine 1988. Reaven opisuje „Sindrom X“ kojim obuhvata hipertenziju, dijabetes melitus tip 2, dislipidemiju (u smislu porasta nivoa triglicerida i pada vrednosti HDL-holesterola) i insulinsku rezistenciju (6). Udruživanje četiri faktora rizika (abdominalna gojaznost, intolerancija glukoze, arterijska hipertenzija i hipertrigliceridemija) Kaplan je nazvao „smrtonosnim kvartetom“ (7). Početkom devedestih DeFronzo i Ferrannini su uzimajući u obzir da je u osnovi čitavog poremećaja insulinska rezistencija predložili naziv „Sindrom insulinske rezistencije“ (8). Osam godina kasnije (1999.) Svetska zdravstvena organizacija (SZO) je dala jasnu definiciju sindroma i promenila mu naziv u metabolički sindrom (9).

1.2. Metabolički sindrom: definicija

Metabolički sindrom predstavlja kompleksni zdravstveni poremećaj baziran na prisustvu grupa međusobno povezanih faktora koji direktno povećavaju stepen rizika za nastanak aterosklerotske kardiovaskularne bolesti i dijabetes melitusa tip 2. Prisustvo

metaboličkog sindroma duplira rizik od nastanka aterosklerotske kardiovaskularne bolesti i čak pet puta povećava rizik od nastanka dijabetes melitusa tip 2 (10).

Iako je sam „koncept“ metaboličkog sindroma u suštini bio ranije prihvaćen, sve do kraja devedesetih godina prošlog veka nije bila ustanovljena međunarodno priznata definicija. Inicijalni pokušaj postizanja saglasnosti oko postavljanja definicije uradila je SZO iznevši preporuke za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma koje su se bazirale na postojanju sledećih kriterijuma: dijabetes melitus tip 2, povišena glikemija našte, glukozna intolerancija ili insulinska rezistencija potvrđena indeksom insulinske rezistencije (homeostasis model assessment - HOMA) i postojanju dva ili više od sledećih strukturalnih elemenata sindroma: indeks telesne mase (BMI) $>30 \text{ kg/m}^2$ ili odnos struk/kuk $>0,9$ kod muškaraca ili $>0,85$ kod žena; nivo serumskih triglicerida $\geq 1,7 \text{ mmol/l}$; nivo HDL-holesterola $<0,9 \text{ mmol/l}$ kod muškaraca odnosno $<1,0 \text{ mmol/l}$ kod žena; mikroalbuminurija $>20 \mu\text{g/min}$ i krvni pritisak $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ (9). Nakon preporuka SZO, Nacionalni edukativni program za lečenje holesterola odraslih, panel III (the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III - NCEP:ATP III) i Evropska grupa za proučavanje insulinske rezistencije (European Group for the Study of Insulin Resistance - EGIR) su dali svoje definicije koje su se slagale u konstitucionalnim komponentama (glukozna intolerancija, gojaznost, hipertenzija, dislipidemija) ali su im bile različite granične vrednosti kao i metode kombinovanja individualnih komponenti. Preciznije, NCEP:ATP III kriterijumi za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma su se bazirali na postojanju 3 ili više elemenata od sledećih kriterijuma: abdominalna gojaznost: obim struka $\geq 102 \text{ cm}$ kod muškaraca odnosno $\geq 88 \text{ cm}$ kod žena; nivo serumskih triglicerida $\geq 1,7 \text{ mmol/l}$; nivo HDL-holesterola $<0,90 \text{ mmol/l}$ kod muškaraca odnosno $<1,3 \text{ mmol/l}$ kod žena; krvni pritisak $\geq 130/85 \text{ mmHg}$; glikemija našte $\geq 6,1 \text{ mmol/l}$ (11). EGIR kriterijumi za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma zasnivali su se na postojanju hiperinsulinemije našte kao i 2 ili više od sledećih kriterijuma: glikemija našte $\geq 6,1 \text{ mmol/l}$ (ali ne osobe obolele od dijabetes melitusa); krvni pritisak $\geq 140/90$ i/ili korišćenje antihipertenzivne terapije; nivo serumskih triglicerida $>2 \text{ mmol/l}$ ili nivo HDL-holesterola $<1 \text{ mmol/l}$ ili korišćenje hipolipemika, i gojaznost centralnog tipa (obim struka $>94 \text{ cm}$ kod muškaraca odnosno $>80 \text{ cm}$ kod žena) (12). Definicije SZO i EGIR se baziraju na glukoznoj intoleranciji ili insulinskoj rezistenciji za razliku NCEP:ATP III gde ovaj kriterijum nije direktno inkorporiran. *Cut-off* vrednosti kriterijuma potrebnih za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma razlikuju se u definicijama SZO i EGIR u odnosu na NCEP:ATP III. U preporuci SZO data definicija nije ni preporučena kao konačna definicija nego kao radna osnova za buduća istraživanja koja će se menjati pojavom novih podataka u vezi dijagnostičkih

kriterijuma za metabolički sindroma (9). Može se zaključiti da je definicija SZO pogodnija kao istraživačko sredstvo dok je definicija NCEP:ATP III korisnija u samoj kliničkoj praksi. Definicija NCEP:ATP III je jednostavna za primenu jer obuhvata samo procenu glikemije našte. EGIR definicija je pogodnija od SZO definicije za detekciju bolesnika sa metaboličkim sindromom, jer predstavlja modifikovnu verziju koja treba da se koristi kod osoba koje nisu obolele od dijabetesa a za procenu insulinske rezistencije vrši se merenje insulinemije našte (12).

Međunarodna federacija za dijabetes (International Diabetes Federation - IDF) je 2005. godine objavila smernice za definisanje i postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma. IDF kriterijumi za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma baziraju se na prisustvu abdominalne gojaznosti (obim struka kod različitih etničkih populacija, za Evropsku populaciju ≥ 94 cm kod muškaraca i ≥ 80 cm kod žena) i postojanju dva iz sledeće grupe kriterijuma: nivo serumskih triglicerida $\geq 1,70$ mmol/l; HDL-holesterol $< 1,00$ mmol/l kod muškaraca odnosno $< 1,30$ mmol/l kod žena; krvni pritisak $\geq 130/85$ mmHg i glikemija našte $\geq 5,6$ mmol/l i/ili prethodno dijagnostikovani dijabetes melitus tip 2 (13).

Metabolički sindrom je klaster multiplih, delimično ili potpuno izraženih metaboličkih abnormalnosti kod jedne osobe kod koje postoji povećani rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti i/ili diabetes melitusa (14).

Tabela 1. Kriterijumi za dijagnostikovanje metaboličkog sindroma

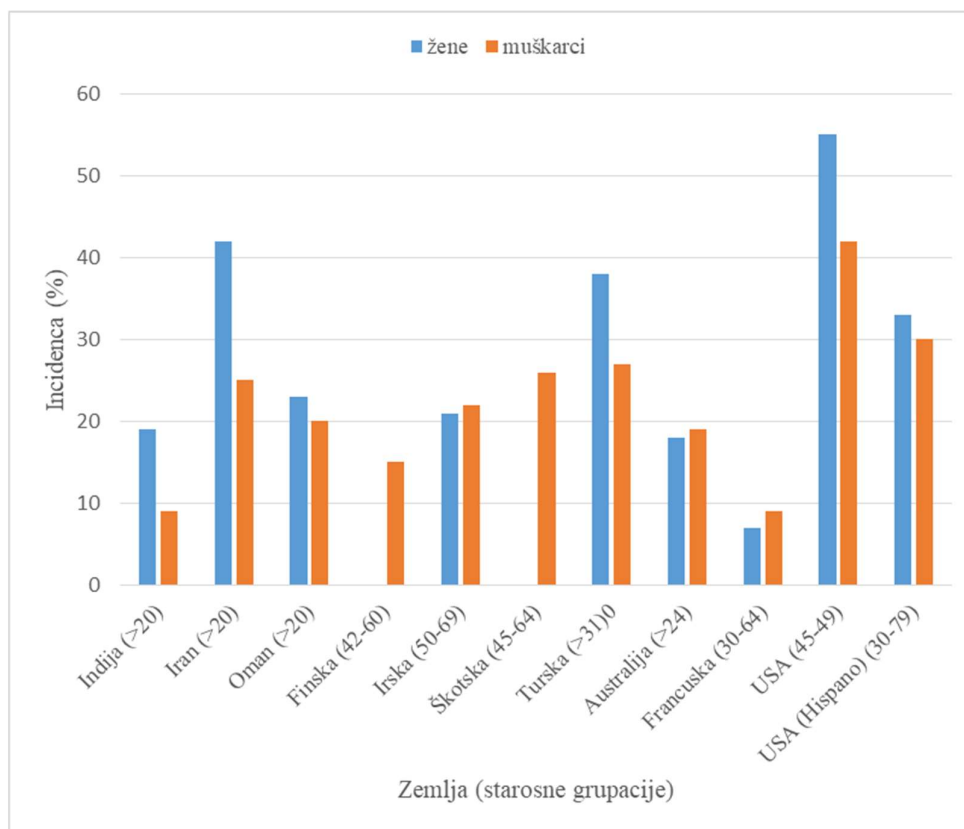
Parametri	IDF	NCEP: ATP III	SZO	EGIR
Preduslov	Abdominalna gojaznost tj. Obim struka: muškarci ≥ 94 cm žene ≥ 80 cm	————	Dijabetes melitus tip 2, povišena glikemija našte ili insulinska rezistencija izračunata kao HOMA.	Insulinska rezistencija ili hiperinsulinemija našte
Broj kriterijuma	$i \geq 2$ od sledećih	≥ 3 od sledećih	$i \geq 2$ od sledećih	$i \geq 2$ od sledećih
Glikemija	Glikemija našte $\geq 5,6$ mmol/l ili dijagnostikovan dijabetes melitus tip 2	Glikemija našte $\geq 6,1$ mmol/l ili uzimanje lekova za hiperglikemiju	————	Hiperglikemija našte 6,1-7,00 mmol/l
Stepen uhranjenosti		Abdominalna gojaznost tj. obim struka muškarci ≥ 102 cm žene ≥ 88 cm	Abdominalna gojaznost tj. odnos obima struk/kuk muškarci $> 0,90$ žene $> 0,85$ i/ili ITM > 30 kg/m ²	Obim struka muškarci ≥ 94 cm žene ≥ 80 cm
Lipidski status	Trigliceridi $\geq 1,7$ mmol/l HDL-holesterol muškarci $< 1,00$ mmol/l žene $< 1,30$ mmol/l	Trigliceridi $\geq 1,7$ mmol/l HDL-holesterol muškarci $< 1,0$ mmol/l žene $< 1,3$ mmol/l	Trigliceridi $\geq 1,7$ mmol/l HDL holesterol muškarci $< 0,9$ mmol/l žene $< 1,0$ mmol/l	Trigliceridi $\geq 2,0$ mmol/l ili HDL-holesterol $< 1,0$ mmol/l ili terapija
Arterijski pritisak	$\geq 130/85$ mmHg	$\geq 135/85$ mmHg	$> 140/90$ mmHg ili lečena hipertenzija	$> 140/90$ mmHg ili lečena hipertenzija
Ostalo	————	————	Mikroalb. ≥ 20 μ g/min	

Legenda: IDF - Međunarodna federacija za dijabetes (International Diabetes Federation); NCEP:ATP III - Nacionalni edukativni program za lečenje holesterola odraslih, panel III (the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III); SZO - Svetska zdravstvena organizacija; EGIR - Evropska grupa za proučavanje insulinske rezistencije (European Group for the Study of Insulin Resistance); HOMA - indeks insulinske rezistencije (homeostasis model assessment); mikroalb. – mikroalbuminurija

1.3. Prevalenca metaboličkog sindroma

Pravu prevalencu metaboličkog sindroma zbog razlike u postojećim definicijama teško je utvrditi. U mnogim istraživanjima prevalenca metaboličkog sindroma je procenjivana na osnovu različitih razmatranih sastavnih komponenti što opet dovodi do zaključka da postoji potreba za jednom zajedničkom definicijom.

Metabolički sindrom ima visoku prevalencu u SAD. Prema podacima Trećeg nacionalnog ispitivanja zdravlja i ishrane (The Third National Health and Nutrition Examination Survey - NHANES III), studija koja je sprovedena 1988-1994. i reprezentativna je za SAD populaciju, prevalenca sindroma menja se sa starosnom dobi, tako da se ona kreće kod muškaraca oko 20% odnosno 16% kod žena starosti do 40 godina, zatim 41% kod muškaca odnosno 37% kod žena starosti 40-59 godina, dok je taj procentat preko 50 kod pripadnika oba pola starijih od 60 godina (15). Prema podacima Cameron i sar. prevalenca metaboličkog sindroma raste sa godinama starosti što je naročito izraženo u populaciji Irana gde manje od 10% i muškaraca i žena starosti 20-29 godina ima metabolički sindrom dok učestalost raste sa godinama pa tako iznosi 38% kod muškaraca i 67% kod žena starosne grupe 60-69 godina. U francuskoj populaciji, prevalenca raste od 5-6% u populaciji od 30-39 godina starosti do 17,5% u populaciji 60-64 godina starosti (16).



Grafikon 1. Prevalenca metaboličkog sindroma prema NCEP:ATP III definiciji preuzeto i adaptirano iz Cameron i sar. (16)

U susjednoj Hrvatskoj prevalenca se kreće između 40% u Slavoniji (35% kod muškaraca i 42% kod žena) i 26% u ostrvskom delu Hrvatske (32% kod muškaraca i 24% kod žena) (17, 18).

U Srbiji ne postoje zvanični podaci o prevalenci metaboličkog sindroma ali postoje podaci o stepenu uhranjenosti populacije. Prema zvaničnim podacima iz 2013. godine prekomernu telesnu masu ima 56,3% populacije, predgojazno je 35,1% a gojazno 21,2% (19).

1.4. Patogeneza metaboličkog sindroma

Uprkos brojnim istraživanjima i napretku u sagledavanju faktora koji predisponiraju nastanku metaboličkog sindroma sam patofiziološki mehanizam nije još uvek u potpunosti razjašnjen. Metabolički sindrom je stanje hronične inflamacije niskog stepena koji je posledica kompleksnog međuodnosa između genetskih i faktora okoline. Insulinska rezistencija, abdominalna gojaznost, aterogena dislipidemija, hipertenzija, proinflamatorno i protrombotično stanje su faktori koji su u osnovi metaboličkog sindroma (9,10,11,12,13).

1.4.1. Insulinska rezistencija

Prema jednoj od najstarijih hipoteza insulinska rezistencija je osnova za nastanak metaboličkog sindroma (6).

Insulin je polipeptidni hormon koji luče β -ćelije Langerhansovih ostrvaca endokrinog pankreasa. Proinsulin nastaje iz svog prekursora preproinsulina odvajanjem signalnog peptida u endoplazmatskom retikulumu. Proinsulin se sastoji od A i B lanaca insulina i C-peptida i skladišti se u sekretornim granulama Goldžijevog aparata (20). Pod dejstvom peptidaza dolazi do cepanja proinsulina i odvajanja insulina i C-peptida iz β -ćelija Langerhansovih ostrvaca u ekvimolarnim koncentracijama (20).

Proizvodnja i sekrecija insulina je regulisana: koncentracijom hranjivih materija u cirkulaciji, prvenstveno glukoze, delovanjem mnogih hormona i aktivnošću autonomnog nervnog sistema (20). Vrlo suptilne promene u ekstraćelijskoj koncentraciji glukoze bivaju prepoznate od strane β -ćelija. Sinteza i sekrecija insulina biva prilagođena tim promenama. Glukoza se transportuje u β -ćeliju putem glukozih transportera (GLUT) koji brzo izjednačavaju ekstraćelijsku i intraćelijsku koncentraciju glukoze (21). Glukokinaza fosforiliše glukozu u β -ćelijama i ona tako fosforilisana postaje indikator ekstraćelijske koncentracije glukoze i glavni regulator sinteze i lučenja insulina (22). Regulacija sekrecije insulina je dvofazna. Prva faza je kratkotrajna i karakteriše je brz porast insulina. Druga je dugotrajna sa nižom stopom insulinske sekrecije i održava se sve dok je ekstraćelijska koncentracija glukoze visoka. Osnovni mehanizam koji povezuje metabolizam glukoze i insulinsku sekreciju je sinteza ATP koja zatvara ATP-zavisne kalijumske kanale i izaziva sledstvenu depolarizaciju membrane β -ćelije, influsom kalcijumskih jona koji podstiču egzocitozu insulina iz sekretornih granula. Takođe, pojedine aminokiseline kao što su leucin, lizin i arginin mogu stimulisati insulinsku sekreciju nezavisno od glukoze. Sekretorna funkcija β -ćelija je regulisana i koncentracijom samog insulina i drugih hormona poreklom iz drugih ćelija pankreasnih ostrvaca (glukagon, somatostatin, pankreasni polipeptid) (20).

Aktivnost ostrvaca endokrinog pankreasa je pod kontrolom autonomnog nervnog sistema. Osnovni parasimpatikusni neurotransmiter acetilholin stimuluše oslobađanje insulina i glukagona (23). Osnovni neurotransmiter simpatičkog nervnog sistema, noradrenalin, može da deluje kako inhibitorno (α_2 -receptori) tako i stimulatивно (β_2 -receptori) na funkciju β -ćelija dok na α -ćelije deluje stimulatивно aktivacijom obe vrste receptora (20). Sekrecija insulina je takođe i pod kontrolom mnogobrojnih parasimpatikusnih neuropeptida i adipokina.

Insulin deluje preko insulinskih receptora koji su eksprimovani na ciljnim tkivima (jetra, masno tkivo, skeletni mišići). Insulinski receptor je glikoprotein iz porodice tirozin-

kinaze i sastoji se od α i β subjedinice. Aktivacija insulinskog receptora dovodi do fosforilacije supstratnog proteina i prepoznavanja fostatidil-inozitol-3-kinaze (PI3K) koja pokreće kaskadnu fosforilaciju i aktivira protein kinazu B i translokaciju GLUT-4 što povećava afinitet ćelija prema glukozi i povećani transport iz krvotoka u ciljna tkiva. Aktivacijom istog signalnog puta dolazi i do aktivacije glikogen-sintaza-kinaze 3 (GSK3) i sledstvene stimulacije sinteze glikogena. Takođe, preko Forkhead box (FOX) proteina, insulin reguliše ekspresiju gena koji kodiraju jetrene enzime uključene u proces glukoneogeneze i produkcije triglicerida. Aktivacija mammalian target of rapamycin (mTOR) signalnog puta dovodi do promovisanja sinteze proteina i skladištenja aminokiselina. Takođe, insulin reguliše sintezu lipida regulacijom ekspresije proteina koji se vezuje za element regulisan sterolom (sterol regulatory element binding proteins - SREBP). Konačno, insulin reguliše ćelijsku proliferaciju i apoptozu preko PI3K signalnog puta, a rast i preživljavanje ćelija preko signalnog puta mitogen aktivirajuće protein kinaze (MAP – kinaza) (20).

Insulinska rezistencija se definiše kao smanjena osetljivost insulin zavisnog tkiva, mišićnog, masnog i jetrenog, na aktuelne koncentracije endogeno sintetisanog insulina kojima je izloženo (20).

U insulinskoj rezistenciji na nivou skeletnih mišića javljaju se brojni postreceptorski defekti kao što su: smanjena aktivnost tirozin kinaze i promenjen signalni prenos, smanjeni glukozni transport, poremećena glukozna fosforilacija i smanjena aktivnost glikogen sintaze. Poremećena sinteza glikogena predstavlja glavni put koji je odgovoran za insulinsku rezistenciju i ovaj efekat je prisutan mnogo pre manifestacija poremećaja glikemijskog statusa. Poremećaj aktivacije glikogen sintaze najčešće nastaje zbog smanjene sposobnosti insulina da vrši fosforilaciju insulin-receptor-supstrata-1 (IRS-1) dovodeći do smanjenog udruživanja p85 subjedinice PI3K sa IRS-1 i smanjene aktivnosti enzima PI3K. Povećani sadržaj masti i metabolita masnih kiselina u miocitima ima glavnu ulogu u razvoju insulinske rezistencije u skeletnim mišićima. Putem aktivacije serin/treonin kinaze i fosforilacije serina IRS-1, metaboliti masnih kiselina pogoršavaju IRS-1 fosforilaciju i dovode do defekta u insulinskoj signalizaciji kod osoba sa insulinskom rezistencijom. Kod osoba koje imaju insulinsku rezistenciju takođe postoji mitohondrijalni defekt u oksidativnoj fosforilaciji (24).

Insulinska rezistencija je vrlo česta kod osoba koje su gojazne naročito kod osoba koje imaju abdominalni tip gojaznosti (25). Intenzivna lipoliza u visceralnom masnom tkivu doprinosi oslobađanju slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju. Najosetljiviji deo puta insulinske signalizacije je inhibicija lipolize u masnom tkivu. Stoga kada se razvije insulinska rezistencija pojačani lipolitički efekat dovodi do stvaranja suviška masnih kiselina koje dalje

doprinosu pogoršanju insulinske rezistencije dodatnom dostupnošću supstrata i promenom nishodne ćelijske signalizacije i direktno je proporcionalan količini masnog tkiva (26).

Venska drenaža regije visceralnih masnih depoa odvija se direktno putem portnog krvotoka, stoga se smatra da je visceralna gojaznost odgovorna za preplavlivanje jetre slobodnim masnim kiselinama, što posledično doprinosi razvoju insulinske rezistencije na ovom nivou (26). U jetri, slobodne masne kiseline stimulišu procese glukoneogeneze i sinteze triglicerida, što dodatno doprinosi povećanju glikemije i razvoju specifične dislipidemije (26). Višak slobodnih masnih kiselina se deponuje u hepatocitima što dovodi do razvoja steatoze jetre – nealkoholne masne bolesti jetre (nonalcoholic fatty liver disease - NAFLD).

1.4.2. Abdominalna gojaznost

Gojaznost predstavlja stanje viška masnog tkiva nastalog kao rezultat pozitivnog energetskog bilansa. Iako se gojaznost definiše kao povećanje BMI $>30 \text{ kg/m}^2$ u proceni udruženog rizika je mnogo važnija raspodela masnog tkiva od samog BMI. BMI nije idealan pokazatelj povećanja masne mase jer može postojati gojaznost u normalnoj telesnoj masi tz. sarkopenična gojaznost. Ruderman i sar. (27,28) su uveli novi koncept metabolički gojaznih osoba koji su normalno uhranjeni prema BMI (metabolically obese normal weight - MONW) i metabolički zdravih (metabolically healthy obese - MHO) gojaznih osoba sa BMI $>30 \text{ kg/m}^2$. Ključni faktor razlike između MONW i MHO je prisustvo viška visceralnog masnog tkiva. Visceralno masno tkivo je intraperitonealno masno tkivo (uglavnom mezenterično i omentalno). Venska drenaža visceralnih masnih depoa se odvija direktno putem portnog krvotoka, te se smatra da je visceralna gojaznost odgovorna za preplavlivanje jetre slobodnim masnim kiselinama što doprinosi razvoju insulinske rezistencije koja između ostalog može povezati akumulaciju masnog tkiva i metaboličke bolesti (29).

Prema raspodeli depoa masnog tkiva razlikuju se dva osnovna tipa gojaznosti: centralni, androidni, abdominalni, visceralni, oblik jabuke, koga karakteriše nakupljanje masnih depoa u centralnim partijama tela, ramenom pojasu i abdomenu, i periferni, ginoidni, subkutani tip, oblik kruške koga karakteriše nakupljanje masnog tkiva potkožno, u gluteofemoralnoj regiji i retke metaboličke komplikacije.

Abdominalna gojaznost se može lako proceniti pomoću jednostavnog merenja obima struka (OS) koji se smatra boljim pokazateljem prisustva visceralnog masnog tkiva od BMI (30). Procena da li je povećanje OS nastalo zbog povećanja visceralnog ili subkutanog masnog tkiva može se uraditi sofisticiranim metodama kao što su kompjuterizovana tomografija i magnetna rezonanca (31). Subkutano masno tkivo predstavlja normalni fiziološki pufer za

preveliki unos hrane i fizičku neaktivnost. Predstavlja metaboličko „sito“ gde se višak slobodnih masnih kiselina i glicerola deponuje u trigliceridima u adipocitima (32). Kad se kapacitet za deponovanje u subkutanom masnom tkivu prevaziđe, mast počinje da se nagomilava u regijama izvan subkutanog masnog tkiva. Anatomske i fiziološke razlike između visceralnog i subkutanog masnog tkiva mogu pojasniti povećani metabolički i kardiovaskularni rizik koji je udružen sa abdominalnom gojaznošću. Glavne regije za deponovanje subkutanog masnog tkiva su femoroglutealna regija, leđa i prednji trbušni zid. Preko 80% celokupne telesne masti se nalazi u subkutanoj regiji (33,34). Abdominalno masno tkivo se nalazi u dva glavna depoa, subkutano i visceralno. Visceralno masno tkivo čini 10-20% ukupnog masnog tkiva kod muškaraca i 5-8% kod žena. Zbog svoje anatomske pozicije venska krv iz visceralnog masnog tkiva se drenira direktno u jetru putem portalne vene a kod subkutanog masnog tkiva venska drenaža se vrši kroz sistemske vene. Zbog portalne drenaže slobodne masne kiseline i adipokini iz visceralnih adipocita imaju direktan pristup jetri.

Masno tkivo se sastoji od velikog broja adipocita, drugih ne-masnih ćelija, vezivnog tkiva, vaskularnog i nervnog tkiva. Neadipocitna ćelijska komponenta sadrži inflamatorne ćelije (makrofage), imunske ćelije, preadipocite i fibroblaste. Adipociti čine glavnu ćelijsku komponentu masnog tkiva i predstavljaju glavni energetske depo. Manji adipociti predstavljaju moćna sita koja hvataju slobodne masne kiseline i trigliceride u postprandijalnom periodu. Kako adipociti rastu oni postaju disfunkcionalni. Veliki adipociti su insulin-rezistentni, hiperlipolitički i rezistentni na anti-lipopolitičke efekte insulina. Visceralno masno tkivo sarži veći broj velikih adipocita u poređenju sa subkutanom masnim tkivom (35,36). Visceralno masno tkivo je više vaskularizovano i inervisano od subkutanog masnog tkiva. Ćelije masnog tkiva imaju receptore koje aktiviraju tri vrste signala: hemijski signali u formi cirkulišućih produkata endokrinih žlezda koji dospevaju krvotokom do adipocita, hemijski signali biološki aktivnih molekula adipokina, koji se generišu lokalno u masnom tkivu i aktiviraju okolno masno tkivo parakrinim mehanizmima i nervni signali nervnih impulsa koji potiču iz CNS-a i aktiviraju specifične receptore u masnom tkivu. Postoje regionalne razlike u receptorima na masnom tkivu, njihovoj gustini, afinitetu i signalnoj transdukciji. Glikokortikoidni receptori su značajni za metaboličku regulaciju i distribuciju masnog tkiva (37). U visceralnom masnom tkivu ima ih više i gušće su raspoređeni. Androgeni receptori su gušće raspoređeni u visceralnom masnom tkivu. Estrogeni receptori imaju veći kapacitet vezivanja u subkutanom masnom tkivu. Estrogen promoviše akumulaciju subkutanog masnog tkiva u gluteofemoralnoj regiji. U odnosu na fiziološke i metaboličke razlike adipociti visceralnog masnog tkiva su više rezistentni na insulin u odnosu na subkutane. Manji adipociti su senzitivniji na dejstvo insulina

(38,39,40,41). Visceralno masno tkivo je više prijemčivo na lipolizu indukovanu kateholaminima i manje na anti-lipolitičke efekte insulina u odnosu na subkutano (42,43). Na visceralno masno tkivo više utiče insulinom posredovano preuzimanje glukoze u poređenju sa subkutanom. Mali adipociti imaju veći afinitet za preuzimanje slobodnih masnih kiselina i triglicerida. Mali insulin senzitivni adipociti deluju kao moćna sита koja apsorbuju cirkulišuće slobodne masne kiseline i trigliceride u postprandijalnom periodu do momenta kada izgube svoju protektivnu ulogu i mast počne da se akumulira u tkivima koja nisu pogodna za deponovanje masti. Subkutano masno tkivo u abdominalnom zidu ima veću mogućnost preuzimanja triglicerida i slobodnih masnih kiselina po kilogramu nego masno tkivo femoralne regije (35,44).

Akumulacija visceralnog masnog tkiva je udružena sa povećanom incidencom hiperglikemije, hiperinsulinemije, hipertrigliceridemije, glikozne intolerancije, dislipidemije i hipertenzije.

U postavljanju kliničke dijagnoze metaboličkog sindroma među ostalim karakteristikama meri se OS i samo njegovim merenjem ne može se postaviti razlika između povećanja subkutanog i visceralnog masnog tkiva.

U gojaznosti dolazi do deponovanja masti u različitim tkivima ili organima naročito u mišićima i jetri. Ova pojava se naziva ektopično masno tkivo. Visok nivo neesterifikovanih slobodnih masnih kiselina predstavlja posrednika između masnog i ektopičnog masnog tkiva (45). Prisustvo ektopičnog masnog tkiva u mišićima je udruženo sa insulinskom rezistencijom. U jetri, višak masnih kiselina može se kompletno ili parcijalno razgraditi u ketonska tela. Ostaci se reesterifikuju u trigliceride i inkorporiraju u VLDL lipoproteine koji se potom sekretuju u cirkulaciju.

U perifernom (gluteofemoralnom) tipu gojaznosti masno tkivo se pretežno deponuje u donjem delu tela. Češća učestalost ovog tipa gojaznosti se sreće kod žena. Ovaj tip gojaznosti je ređe udružen sa metaboličkim sindromom od abdominalnog. Jedan od mogućih razloga je taj da postoji manji stepen otpuštanja neesterifikovanih masnih kiselina u cirkulaciju. Prema nekim studijama gluteofemoralna gojaznost u suštini štiti od metaboličkog sindroma (45,46,47,48,49) sa nejasnim mehanizmom.

1.4.2.1. Disfunkcionalno masno tkivo

Masno tkivo je heterogeno vezivno tkivo koje se sastoji iz tri funkcionalna dela: strome, vaskularnog kompartmana i zrelih adipocita. U masnom tkivu morfološki se razlikuju mezenhimalne stem ćelije, preadipociti u različitim stadijumima razvoja, ćelije imunog sistema

(makrofazi), T regulatorne ćelije, endotelne prekursorske ćelije, fibroblasti i dr. Ciklus obnavljanja adipocita je kontinuiran. On nije značajan samo za regulaciju masne mase, već i za razvoj hipertrofije i hiperplazije masnog tkiva. Adipociti su mezehimalnog porekla i diferencijacijom adipocitnih prekursora nastaju beli, mrki i bež adipocit. Pored diferencijacije iz prekursora, mrki adipociti mogu nastati i transdiferencijacijom belih adipocita (50,51). Proces diferencijacije je stimulisan hormonima kao što su: faktor rasta sličan insulinu 1 (IGF-1), fibroblastni faktor rasta, transformišući faktor rasta β (TGF β), glikokortikoidi, aldosteron i hormoni štitaste žlezde. Kao inhibitori adipogeneze spominju se inflamatorni citokini i hormon rasta (52).

Pored hormonske stimulacije proces diferencije je i pod uticajem transkripcionih faktora C/EBP (enhancer binding proteins, C/EBP α , C/EBP β , C/EBP δ), izoforme nuklearnog receptora koji aktivira proliferaciju peroksizoma (peroxisome proliferator-activated receptor γ - PPAR γ) i SREBP-1 (53,54,55,56,57). PPAR γ je specifičan za masno tkivo i smatra se glavnim transkripcionim regulatorom adipogeneze, dok SREBP-1 kontroliše ekspresiju enzima i na taj način reguliše lipogenezu i lipidnu homeostazu (enzimska regulacija metabolizma holesterola).

Masno tkivo je aktivni endokrini i imunski organ (58,59). Prekomeran kalorijski unos dovodi do pozitivnog energetskeg bilansa i deponovanja viška energije prvenstveno povećanjem sadržaja triglicerida unutar adipocita. Nakon određenog vremena dolazi do hipertrofije i stvaranja novih adipocita. Predilekcioni kapacitet za adipocitnu hiperplaziju je genetski determinisan i na njega mogu uticati udruženi metabolički procesi (60). Ukupan broj adipocita nije determinisan samo brojem novonastalih adipocita nego i brojem apoptotičnih adipocita.

Kod predisponiranih osoba patološko povećanje masnih ćelija može dovesti do alteracija u metabolizmu adipocita. Povećanje broja disfunkcionalnih adipocita ili poremećena adipogeneza zdravih adipocita dovodi do adipozopatije. Najznačajnije patofiziološke manifestacije adipozopatije su: disfunkcija organela u adipocitima, infiltracija imunskih ćelija u masno tkivo i polarizacija makrofaga, poremećaji u adipogenezi i odnosu „apoptoza/adipogeneza“, poremećaji u angiogenezi i remodelovanju ekstracelularnog matriksa, povećanje cirkulišućih slobodnih masnih kiselina, proinflamatorni „adipokinom“ kao i disfunkcionalna razmena informacija sa drugim organima - mozak, jetra, mišići, imunski i kardiovaskularni sistem (61). Termin adipokinom obuhvata preko 60 različitih adipokina, različitih brojnih hormona, citokina, faktora rasta i drugih humoralnih faktora.

U adipozopatiji dolazi do promena u ćelijskim organelama prvenstveno do stresa endoplazmatskog retikuluma i mitohondrijalne disfunkcije. Usled povećane lipolize dolazi do pojačanog priliva slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju koje služe kao ligandi za receptor sličan Tollu-4 (toll-like receptor 4 - TLR4) koji ima ulogu u indukciji urođenog i stečenog imunskog odgovora, putem aktivacije proteinskih kinaza. Nakon lučenja TNF- α i IL-1 dolazi do aktivacije nuklearnog faktora kappa B (nuclear factor kappa beta - NF κ B) i njegovog prelaska u jedro gde učestvuje u regulaciji ekspresije brojnih proinflamatornih gena (62). PPAR, naročito njegove izoforme β i γ su ispoljene na makrofazima i adipocitima i imaju ulogu u polarizaciji makrofaga u masnom tkivu. NF κ B inhibira dejstvo PPAR γ u adipocitima i dolazi do blokade diferencijacije preadipocita u adipocite i preusmeravanja slobodnih masnih kiselina u neadipozna tkiva (63). Kod hipertrofije masnog tkiva insuficijentna perfuzija u uvećanim masnim depoima dovodi do hipoksije i jedna je od ranih i značajnih posledica hipertrofije adipocita i može dovesti do niza promena u adipocitima, ćelijama strome i vaskularnog kompartamana.

Kod metabolički izmenjenog disfunkcionalnog masnog tkiva javljaju se krunaste strukture koje histološki predstavljaju akumulaciju makrofaga oko mrtvih adipocita u inflamiranom masnom tkivu. Različite populacije makrofaga su prisutne u adipozopatiji. Postoje dve subpopulacije makrofaga: M1 ili klasično aktivisani makrofagi i M2 ili alternativno aktivisani makrofagi. M1 makrofagi proizvode proinflamatorne citokine pod dejstvom interferona γ (IFN- γ) i proizvode IL-12 koji učestvuju u Th1 imunskom odgovoru. M1 profil obuhvata TNF- α , IL-1 β , IL-12, IL-23 citokinski profil (64). Takođe, dolazi do produkcije hemokina, slobodnih kiseoničkih radikala, azot monoksida (NO) i lizozomalnih enzima. M1 makrofagi imaju sposobnost akumulacije lipida u citoplazmi i formiranja penastih ćelija (65). M2 ili alternativno aktivisani makrofagi učestvuju u Th2 imunskom odgovoru i sekretuju antiinflamatorne citokine IL-10, IL-1, TGF β , arginazu-1 i faktore koji učestvuju u reparaciji (64).

1.4.2.2. Sekretorni profil adipocita u adipozopatiji

Masno tkivo pruža izolaciju i mehaničku potporu i predstavlja glavnu energetska rezervu za ostala tkiva. Kao endokrini organ doprinosi energetska homeostazi sekrecijom adipokina koji funkcionišu kao hormoni sa autokrinom, parakrinom i endokrinom funkcijom. Adipociti su ćelije koji deponuju višak energije u obliku slobodnih masnih kiselina i glicerola. Brojni faktori koji se sekretuju u masnom tkivu se nazivaju adipokini. Adipokini su sve biološki aktivne supstance koje sintetiše masno tkivo, a služe za kontrolu unosa hrane, potrošnju energije, deponovanje lipida, insulinsku senzitivnost, imunski i inflamatorni odgovor, koagulaciju,

fibrinolizu, angiogenezu, fertilitet, vaskularnu homeostazu, regulaciju krvnog pritiska i metabolizma kostiju. Takođe, sekretorni proizvodi masnog tkiva su značajni i u regulaciji fiziološke funkcije glikokortikoida. U masnom tkivu se luči enzim 11β -hidroksi steroid dehidrogenaza koji vrši regulaciju prevođenja kortizola (aktivna forma glikokortikoida) u neaktivni kortizon. Pored toga, masno tkivo je aktivno u sekreciji polnih hormona (estrogena i testosterona) kod žena u menopauzi. Višak masnog tkiva dovodi do disregulacije adipokinskog profila i do razvoja komorbiditeta u gojaznosti (66,67,68). Glavni adipokini su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Izvor sekrecije i funkcija adipokina modificovano prema Ouchi i sar. (69)

Adipokin	Primarni izvor	Receptor	Uloga
Leptin	Adipociti	Leptinski receptor	kontrola apetita putem CNS
Rezistin	Mononukleari	Nepoznat	Stimuliše insulinsku rezistenciju putem IL-6 i TNF- α sekrecije iz makrofaga
RBP4	Jetra, adipociti, makrofagi	Retinol, transtiretin	Učestvuje u sistemskoj insulinskoj rezistenciji
Lipokalin 2	Adipociti, makrofagi	Nepoznat	Produbljuje insulinsku rezistenciju i inflamaciju putem TNF- α sekrecije iz makrofaga
ANGTL2	Adipociti	Nepoznat	Lokalna i vaskularna inflamacija
TNF- α	Stromalna vaskularna frakcija ćelija, adipociti	TNF- α receptor	Inflamacija, antagonizam insulinske signalizacije
IL-6	Adipociti, stromalne vaskularne ćelije, jetra, mišići	IL-6 receptor	Produbljuje insulinsku rezistenciju i inflamaciju, inhibiše adipogenezu, smanjuje sekreciju adiponektina
IL-18	Stromalna vaskularna frakcija ćelija	IL-18 receptor, IL-18 vezujući protein	Inflamacija
CCL2	Adipociti, stromalna vaskularna frakcija ćelija	CCR2 receptor	Monocitno udruživanje
CXCL5	Makrofagi	CXCR2 receptor	Antagonizam insulinske signalizacije
Adiponektin	Adipociti	Adiponektinski receptori 1 i 2, T-kadherin, kalretikulin-CD91	Dovodi do insulinske senzitivacije, ima antiinflamatorni efekat
SFRP5	Adipociti	WNT 5a	Supresija pro-inflamatorne WNT signalizacije

Legenda: RBP4 - retinol vezujući protein 4; ANGTL2 –angiopoetinu sličan protein 2; TNF- α - tumor nekrotični faktor alfa; IL-6 - interleukin 6, IL-18 - interleukin 18; CCL2 - hemokinski ligand 2; CXCL5 - hemokinski ligand 5; CCR2- hemokinski ligand 2 receptor; CXCL5 - hemokinski ligand 5 receptor; CD-91- kalretikulinski adaptorni protein; CNS – centralni nervni sistem; WNT –beksrlini N signalni put

1.4.2.2.1. Leptin

Leptin (naziv potiče od grčke reči leptos - mršav) je peptidni hormon produkt Ob gena kojeg luče adipociti u proporciji sa veličinom masne mase i nutritivnim statusom. Protein leptin ima strukturu četiri paralelna α -heliksa (A,B,C,D) povezana dvema dugim ukrštenim vezama i jednom kratkom petljom tako raspoređeni da čine ulevo izuvijani spiralni paket. Humani leptin se sastoji od 167 aminokiselina i molekulske mase je 16 kDa (70). Ispitivanjem strukturne sličnosti uočeno je da protein leptin ima najveću strukturnu sličnost sa IL-6 i stimulišućim faktorom kolonije 3 (colony stimulating factor 3 - CSF-3) a u manjem stepenu i sa hormonom rasta i humanim placentarnim laktogenom (71,72). Leptin se proizvodi uglavnom u belom masnom tkivu ali može se u manjoj meri sekretovati i u mrkom masnom tkivu, placenti, fetalnom tkivu, želucu, mišićima, kosnoj srži, zubima i mozgu.

Lučenje leptina je proporcionalno veličini masne mase i nutritivnom statusu. Subkutani adipociti imaju veću mogućnost sekrecije leptina od adipocita visceralnog masnog tkiva. Vrlo složeni endokrini, neuroendokrini i parakrini signali regulišu sintezu i sekreciju leptina. Na sekreciju leptina utiče prvenstveno insulin, i u manjoj meri drugi peptidni hormoni pankreasa glukagon, amilin i pankreasni polipeptid. Insulin je glavni regulator proizvodnje leptina. Eksperimentalni podaci dobijeni u različitim studijama pokazuju da insulin stimuliše stvaranje leptina preko metabolizma glukoze. Glikokortikoidi i TNF- α stimulišu stvaranje leptina dok ga tireoidni hormoni najverovatnije smanjuju (73). Kateholamini se vezuju za β_2 i β_3 adrenoreceptore i inhibiraju sintezu leptina. Do smanjenog lučenja leptina dovode najverovatnije i androgeni, slobodne masne kiseline, hormon rasta i agonisti hormona rasta (73).

U cirkulaciji leptin je prisutan u dve frakcije: slobodna frakcija i frakcija vezana za proteine. Slobodna forma je biološki aktivan oblik leptina. Ravnoteža između slobodnog i vezanog leptina je potencijalni regulator bioraspodjelivosti leptina (74). Varijacije u adipoznosti su takođe udružene sa preraspodelom između slobodne i vezane forme leptina tako da je vezana forma predominantnija kod mršavih osoba dok je slobodna kod gojaznih (75). Jedan od transportnih proteina leptina je klasterin. Ukoliko se kompleksna molekula klasterin-leptin veže

klasterinskom jedinicom sa LDL-receptor dolazi do endocitoze i degradacije molekula leptin-klasterin (76).

Leptin deluje preko specifičnih leptinskih receptora. Postoji šest vrsta leptinskih receptora (LEP-Ra, LEP-Rb, LEP-Rc, LEP-Rd, LEP-Re i LEP-Rf) koji imaju zajednički ekstraćelijski domen od preko 800 aminokiselina, transmembranski domen od 34 aminokiseline i varijabilni intraćelijski domen koji je karakterističan za svaku izoformu receptora za leptin (77). Na taj način izoforme leptina se klasifikuju u tri klase: kratku, dugu i sekretujuću. Leptinski receptori se nalaze u centralnom nervnom sistemu (CNS-u) hipotalamusu i rombencefalonu i perifernim tkivima (β -ćelije pankreasa i mišići) (78,79). Leptinski receptor pripada grupi citokinskih receptora udruženih sa tirozin kinazama. Sami leptinski receptori nemaju aktivnost tirozin kinaze ali nakon vezivanja za leptin se dimerizuju i fosforilišu tirozinski receptor. Aktivacija tirozin kinaze iz porodice Janus kinaza (JAK) dovodi do nishodne regulacije i aktivatora transkripcije (STATs) koji se vezuju za fosfotirozine leptinskog receptora. Nakon fosforilacije dolazi do odvajanja proteina od receptora i translokacije proteina u nukleus gde imaju ulogu transkripcionih faktora. U nukleusu proteini imaju ulogu transkripcionih faktora koji aktiviraju ekspresiju supresora signalizacije citokina 3 (suppressor of cytokine signaling - SOCS3) ili protein tirozin fosfatazu 1B (protein tyrosine phosphatase 1B - PTP1B). JAK/STAT signalni put zahteva aktivaciju SOCS3 koji služi kao negativni regulator aktivnosti citokina. Drugi negativni modulator signalne transdukcije leptina je PTP1B koji reguliše signalnu transdukciju defosforilacijom JAK2. Prekomerna ekspresija PTP1B smanjuje fosforilaciju JAK2 i inhibira transkripciju leptinom indukovanog SOCS3 (77,80). Osim ova dva prethodno pomenuta signalna puta LEP-R takođe aktivira signalne kaskade PI3K i MAPK/ERK. Aktivacija svakog od ovih puteva doprinosi anoreksigenim efektima leptina, odnosno suprimiranju apetita, podsticanju gubitka telesne mase i povećanju termogeneze (77,81,82).

U energetskom balansu stvaranje energetskih zaliha je određeno unosom i potrošnjom, pod kontrolom hipotalamusa. Leptin prvenstveno deluje na hipotalamus utičući na ponašanje i metabolizam preko njegovih receptora. LEP-Rb izoforma, odgovorna za db fenotip, se nalazi na nucleus arcuatus (ARC), ventromedijalnom (VMH), dorsomedijalnom (DMH) i lateralnom hipotalamičnom nukleusu (LH), ali se ne detektuje u ostalim delovima mozga. Ove regije imaju ulogu u unosu hrane i potrošnji energije. Studije na pacovima su pokazale da oštećenje ARC, VMH i DMH dovodi do hiperfagije i gojaznosti dok lezije LH dovode do hipofagije, pa se tako VMH smatra centrom za sitost, a LH centrom za glad. Ubrzo nakon otkrića *ob* gena Stephens i sar. su pokazali da leptin reguliše unos hrane i metabolizam delom preko inhibicije sinteze i

oslobađanja neuropeptida Y (NPY) koji ima ulogu u unosu hrane i smanjuje termogenezu (83). Kasnije studije su pokazale da leptin inhibira oreksigene puteve a aktivira anoreksigene puteve. Oreksigeni neuropeptidi uključuju NPY i peptid sličan aguti proteinu (agouti related peptide – AgRP) a anoreksigeni stimulišući hormon α -melanostimulirajući hormon (alpha-melanocyte-stimulating hormone – α -MSH), produkt propriomelanokortina (propiomelanocortin – POMC) (84). Leptin utiče na transkripciju POMC čiji se produkt α -MSH oslobađa u sinapse što aktivira neurone preko vezivanja za melanokortinske receptore (MCR) i dovodi do suprimiranja apetita. Istovremeno leptin ihibiše NPY/AgRP neurone antagonizujući efekat AgRP na MCR (85,86). NPY/AgRP neuroni stimulušu oreksigene odgovore i inhibišu POMC neurone. Značaj melanokortinskog sistema se sastoji u tome da je gubitak MC-4R glavnog MCR najčešći genetski uzrok gojaznosti kod ljudi i sreće se kod 3-5% ekstremno gojaznih osoba. Leptin reguliše energetske balans moduliranjem aktivnosti neurona NPY/AgRP i neurona POMC u nukleusu ARC (85).

Leptin povezuje gojaznost i imunski odgovor (87). Regulatorni T limfociti prisutni u masnom tkivu dovode do stvaranja visokih koncentracija leptina i ekspresije leptinskih receptora (88,89,90,91). Leptin indukuje ekspresiju interferona- γ , IL-6, TNF- α u monocitima/makrofagima, T-limfocitima i NK-ćelijama. Leptin dovodi do polarizacije T-ćelija prema Th1 ćelijskom fenotipu (IL-2, TNF- α , IL-18) i dovodi do supresije proizvodnje Th2 ćelijskog tipa citokina IL-4 (92,93).

Termin leptinska rezistencija nastao je nedugo nakon otkrića hormona leptina. Rezistencija na leptin nastaje usled nemogućnosti leptina da dospe do ciljnih ćelija, smanjene ekspresije LEP-R (Ob-R) i poremećene signalizacije sa LEP-R. Mnogi faktori mogu uticati na unos hrane, neki od njih su predmet biološke regulacije, i količina hrane koja se konzumira je u suštini skup svih tih faktora kako onih koji povećavaju unos hrane sama primamljivost određene vrste hrane, naučeni izbori hrane i molekularni medijatori gladi grelin i kanabinoidi kao i relativno smanjenje nivoa leptina sa gubitkom na telesnoj masi (80). Na suprotnoj strani su drugi faktori leptin i ostali medijatori koji promovišu sitost kao što su insulin i brojni signali iz digestivnog trakta. U hiperalimentacionoj gojaznosti koja je i najzastupljenija, prekomerni unos hrane dovodi do deponovanja masti i stalnog porasta u snabdevanju energijom i eventualno će favorizovati povrat unosa hrane prema nivoima potrošnje energije stvarajući novo stabilno stanje zbog veće adipoznosti. Koncentracija cirkulišućeg leptina koji je potreban da bi se ovaj ekvilibrijum dostigao proporcionalno raste, najverovatnije raste zbog ekspanzije masne mase. Dijetom izazvana leptinska rezistencija dovodi čak i do stvaranja većeg depoa masti. Iako u ovom slučaju ćelijska leptinska rezistencija nije primarni uzrok dobitka na

telesnoj masi, ona utiče i na količinu masti i na posledičnu odbranu od povišene telesne mase. Smanjenjem unosa hrane smanjuje se jačina oreksigenih signala na taj način dozvoljavaju povišenom leptinu (nastalom sekundarno zbog povećane adipoznosti) da se smanji prema novoj ravnotežnoj vrednosti. Obim gubitka telesne mase zavisi od udruženosti ćelijske leptinske rezistencije i drugih procesa koji su indukovani tokom procesa adaptacije na gojaznost, s posledicom da normalizacija telesne mase nakon smanjivanja kalorične hrane može biti nekompletna (94).

Pojam selektivne leptinske rezistencije se u poslednje vreme često koristi da bi se objasnila njegova potencijalna posledica po gojaznost i hipertenziju. Ovaj koncept se bazira na tome da u stanju gojaznosti izostaju efekti leptina na apetit kao i na redukciju telesne mase ali su očuvani efekti leptina na simpatički nervni sistem.

Gen za leptin se naziva Ob gen i nalazi se na dugom kraku hromozoma 7, na poziciji 3.1. Unutar samog gena za leptin nadjeni su brojni genetski polimorfizmi koji su u vezi sa nastankom gojaznosti. Polimorfizam predstavlja genetsku varijantu koja je u populaciji učestalija od mutacije i zbog toga je pogodna za ispitivanje u genetskim populacionim studijama. Najispitivanija genetska varijanta jednog nukleotida u genu za leptin je G-2548A. Takođe II/I leptinski polimorfizam može biti udružen sa nivoom cirkulišućeg leptina. Gen rs17817449 je udružen sa povećanim nivoima leptina i insulina.

Koncentracija leptina pozitivno korelira sa komponentama metaboličkog sindroma nezavisno od BMI. Što je veći broj komponenti metaboličkog sindroma zastupljen, viši su leptinski nivoi (95). S obzirom da promenjeni putevi insulinske signalizacije doprinose metaboličkom pogoršanju interesantno je podvući kako je leptin usko povezan sa insulinskom rezistencijom naročito kod starijih ljudi. Zbog toga leptin može predstavljati osetljivi biomarker identifikacije različitih metaboličkih stanja.

Leptin direktno vrši supresiju kardijačne kontraktilne funkcije u ventrikularnim miocitima putem receptora endotelina-1 i NADPH oksidativnog puta. Povećava krvni pritisak i broj srčanih otkucaja i dovodi do hipertrofije miokarda (96).

Moguća veza između masnog tkiva i dislipidemije je leptin, za koji je nedavno dokazano da redukuje broj LDL-holesterolskih receptora putem stimulisanja sinteze proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) dovodeći do porasta LDL-holesterola (97,98,99).

1.4.2.2.2. Adiponektin

Adiponektin je adipokin koji je otkriven sredinom devedesetih prošlog veka. U najvećem procentu se sintetise u zrelim adipocitima dok se 50-100 puta manja količina stvara u preadipocitima (100). Pored adipocita adiponektin se u minimalnim količinama sintetise u ćelijama mukoze debelog creva, jetri, skeletnim mišićima, placenti i epitelnim ćelijama pljuvačnih žlezdi (101). Za oko 40% više nivoe imaju žene nego muškarci zbog inhibitornog delovanja androgena na njegovu sintezu (102,103,104). Kod ljudi, gen za adiponektin nalazi se na hromozomu 3q27 i sastoji se od 3 eksona i 2 introna (105). Struktura adiponektina nije homogena. Postoji globularna i longitudinalna struktura ove molekule. Zavisno od molekularne težine razlikujemo tri forme: 1) niskomolekularna forma (LMW - low molecular weight) odnosno trimere, 2) molekuli srednje težine (MMW - medium molecular weight) ili heksamere i 3) viskomolekularna forma (HMW - high molecular weight), koja sadrži 12 ili 18 monomernih molekula (106).

Postoje dve vrste receptora za adiponektin, tip 1 i tip 2. Tip 1 receptori su ubikvitarno raspoređeni ali dominantno u skeletnim mišićima i imaju veći afinitet prema globularnom obliku adiponektina. Receptori tipa 2 imaju ekspresiju prvenstveno u jetri. Oba tipa receptora se nalaze u β -ćelijama pankreasa (107), makrofagima, aterosklerotskim lezijama (107) i mozgu (109).

Adiponektin ima pozitivan uticaj na insulinsku senzitivnost jer adiponektin može da aktivira AMP-aktivisanu protein kinazu (AMPK) u skeletnim mišićima i jetri. AMPK aktivacija dovodi do povećanja oksidacije masnih kiselina i preuzimanja glukoze u skeletnoj muskulaturi i jetri kao i do inhibicije glukoneogeneze u jetri. Adiponektin deluje na aktivaciju AMPK preko aktivacije adiponektinskog receptora 1 i 2 (110). Deficijencija adiponektinskog receptora 1 dovodi do poremećenog preuzimanja glukoze i insulinske rezistencije, dok deficijencija adiponektinskog receptora 2 dovodi do smanjene signalizacije PPAR α i produbljivanja insulinske rezistencije (111). Poremećaji oba receptora dovode do pogoršanja glukozne tolerancije. U skeletnim mišićima adiponektin dovodi do povećanja intraćelijske koncentracije jonizovanog kalcijuma, kalcijum/kalmodulim zavisne protein kinaze, AMPK i sirtuina 1, dovodeći do pojačane ekspresije i aktivnosti PPAR γ koaktivatora 1 α . Ovaj put je udružen sa insulinskom senzitivnošću i ometanje ekspresije adiponektinskog receptora 1 posebno izraženog u skeletnim mišićima može dovesti do insulinske rezistencije(112).

Adiponektin je značajan regulator metabolizma lipida i njihovog serumskog nivoa. Postoji pozitivna korelacija između HDL-holesterola i adiponektina i realizuje se na više načina

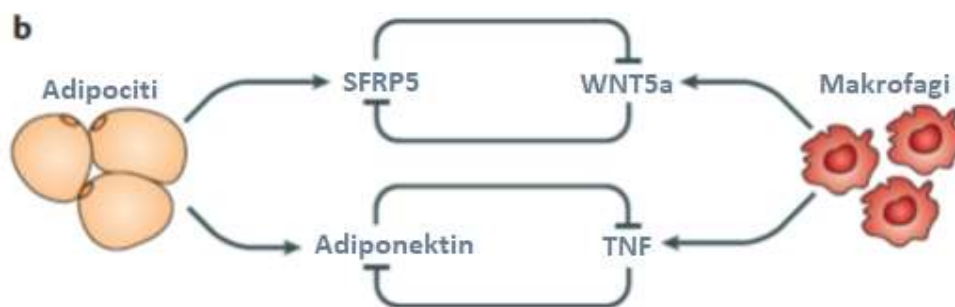
(113): stimulativni efekat adiponektina na sintezu apolipoproteina AI, preko stimulacije PPAR γ i holesterolskog transportera ABCA1 (114,115), supresija aktivnosti hepatične lipaze (116) i podsticanje aktivnosti lipoproteinske lipaze (117). Negativna korelacija između nivoa adiponektina i triglicerida potvrđena je u skoro svim studijama a slična povezanost postoji i sa VLDL-holesterolom (113) što pokazuje da je nivo adiponektina značajnije povezan sa sadržajem triglicerida nego holesterola u VLDL-holesterolu (118). Povezanost adiponektina i triglicerida posledica je pojačanog katabolizma a ne smanjene sinteze triglicerida (119). Više studija potvrđuje negativnu korelaciju između nivoa adiponektina i apolipoproteina B (120, 121).

Poređenja nivoa serumskog adiponektina i histološkog nalaza u biopsatu jetre pokazala su da postoji negativna korelacija adiponektina sa NAFLD, stepenom steatoze, inflamacije i fibroze jetre (122). Adiponektin aktivacijom AMPK inhibiše ekspresiju SREB-1c i smanjuje lipogenezu (123) a aktivacijom PPAR γ intenzivira oksidaciju masti, redukuje sintezu lipida i sprečava razvoj steatoze jetre (124).

U nekoliko studija dokazana je povezanost između nivoa adiponektina i proinflamatornih markera u različitim bolestima. Koncentracije adiponektina negativno korelišu sa CRP nivoima kod gojaznih ili dijabetičnih pacijenata i niske vrednosti adiponektina su udružene sa visokim CRP nivoima zdravih osoba (125). Postoje dokazi koji govore u prilog modulacije makrofagne funkcije i kontrole inflamacije. Adiponektin inhibiše transformaciju makrofaga u penaste ćelije i redukuje intraćelijski sadržaj holesterol estara u makrofagima vršeći supresiju klase A receptora čistača. Takođe adiponektin dovodi do smanjenja produkcije TNF- α u makrofagima (126). Adiponektin stimuliše proizvodnju antiinflamatornih citokina u humanim makrofagima (127).

Adiponektin ima i protektivan efekat na krvne sudove. Dovodi do smanjenja adhezije monocita za epitel krvnog suda, do smanjene ekspresije adhezivnih molekula i sprečavanja stvaranja penastih ćelija. Takođe, smanjuje proliferaciju glatkih mišićnih ćelija krvnog suda stimulisanu vaskularnim endotelnim faktorom rasta (VEGF) (128). Obe vrste adiponektinskih receptora se nalaze na trombocitima, a adiponektinski efekat se ispoljava na inhibiciji agregacije trombocita. Adiponektin dovodi do aktivacije NO sintetaze u endotelnim ćelijama fosforilacijom AMPK (129,130). Adiponektin takođe stimuliše migraciju i diferencijaciju endotelnih ćelija i sprečava endotelnu apoptozu aktivacijom AMPK signala (129,130,131). Neke studije su pokazale da adiponektin promoviše ekspresiju prostaglandina I₂ (PGI₂) u endotelnim ćelijama dovodeći do poboljšanja vaskularnog tonusa (132).

Slika 1. Primer intraćelijske komunikacije preuzeto i modifikovano iz Ouchi i sar (69)



1.4.2.2.3. Ostali adipokini

Rezistin je polipeptid veličine 12,5 kDa koji je otkriven nakon početka upotrebe tiazolidina u terapiji dijabetes melitusa tip 2. Tiazolidini su doveli do supresije mRNA za rezistin u 3T3-L1 adipocitima, što je jedan od mehanizama njihovog dejstva u cilju poboljšanja insulinske senzitivnosti (133). Humani rezistin cirkuliše u nekoliko različitih izoformi. Rezistin se prvenstveno stvara u adipocitima mada humani rezistin proizvode i mononukleari. Povećanu proizvodnju stimulišu imune i endotelne ćelije (134). Postojanje specifičnog receptora za rezistin je još uvek diskutabilno. TLR4 i adenil ciklaza udruženi protein 1 (CAP-1) (135,136) se smatraju funkcionalnim receptorima za humani rezistin. U skladu sa ovim dokazima, nakon vezivanja rezistina za TLR4 u glatkomišićnim ćelijama krvnih sudova aktivira se signalni put fosfatidil inozitol 3 kinaze dovodeći do vaskularne disfunkcije (137) ili interakcija sa CAP-1 aktivira cAMP/protein kinazu A (PKA) i NF- κ B i dovodi do pojačane sinteze mRNA i povećanja inflamatornih citokina u monocitima. Proinflamatorne karakteristike rezistina ne uključuju samo aktivaciju NF- κ B i aktiviranje citokina (IL-6, IL-12, TNF- α) nego i vaskularno remodelovanje (138,139). Neke studije su pokazale da u humanim endotelnim ćelijama krvnih sudova rezistin dovodi do povećane angiogeneze (140), proliferativnog kapaciteta (141) i ekspresije endotelina-1, VCAM-1, monocitnog hemotaktičkog faktora-1 kao i tkivnog faktora (142,143,144). Rezistin dovodi do sniženja NO tako što smanjuje fosforilaciju endotelne NOS, i povećanja proizvodnje ROS (144). Hepatociti su takođe mesto delovanja rezistina koji u ovim ćelijama dovodi do redukcije LDL-receptora za oko 40% kroz povećanje ekspresije PCSK9 (145) koji dovodi do povećane intraćelijske lizosomalne degradacije ovih receptora (146).

Postoje eksperimentalne studije koje su dokazale da kod ljudi povišeni nivoi rezistina su udruženi sa gojaznošću (147,148), metaboličkim sindromom (149) i koronarnom bolesti srca (150,151) i da rezistin ima ključnu ulogu u uzajamnom odnosu između insulinske rezistencije, inflamacije i ateroskleroze.

Tumor nekrotišući faktor alfa (TNF- α) je citokin kojeg proizvode adipociti i vaskularna stroma masnog tkiva. Lučenje TNF- α je veće u subkutanom masnom tkivu nego u visceralnom. TNF- α je identifikovan 1993. kao faktor koji izaziva hemoragičnu nekrozu pojedinih tumora koji indukuju aktivaciju leukocita i limfocita i pojačava ekspresiju adhezivnih molekula, adheziju neutrofila i monocita za endotel, promovira migraciju proinflammatoryh ćelija i stimuliše ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju (152). TNF- α je jedan od najznačajnijih molekula produkovanih u inflamiranom tkivu. TNF- α indukuje proizvodnju ostalih citokina kao posledica monocitne infiltracije i makrofagne diferencijacije u hipoksičnom masnom tkivu (153,154). TNF- α ispoljava svoje efekte preko dva receptora: TNF- α receptor 1 (koji se nalazi na većini ćelija) i TNF- α receptor 2 (nalazi se na hematopoetskim ćelijama) (155). TNF- α doprinosi insulinskoj rezistenciji nishodnom regulacijom u adipocitima, ekspresijom i/ili aktivacijom GLUT 4, IRS-1 (156,157,158,159). U adipocitima, TNF- α indukuje bazalnu lipolizu koja dovodi do povećane koncentracije slobodnih masnih kiselina i smanjene insulinske senzitivnosti.

TNF- α je udružen sa endotelnom disfunkcijom regulacijom proinflammatoryh i prokoagulantnih puteva. TNF- α stimuliše ekspresiju tkivnog faktora i adhezivnih molekula za leukocite, oslobađanje proinflammatoryh citokina (IL-1) ili faktora aktivacije trombocita (PAF), endotela ili matriks metaloproteinaza kao i inhibitora aktivacije plazminogena-1 (PAI-1) (160,161).

Intereukin 6 (IL-6) je adipokin kojeg u najvećoj meri proizvode T limfociti i makrofagi, ali ga stvaraju i adipociti, osteoblasti i druge ćelije. IL-6 inhibira proizvodnju adiponektina u adipocitima što može doprineti razvoju insulinske rezistencije. IL-6 inhibira aktivnost lipoproteinske lipaze u masnom tkivu (162). Porast IL-6 u adipozopatiji dovodi do porasta CRP kod gojaznih osoba (163).

Inteleukin-10 (IL-10) je citokin koji se sintetiše u monocitima i M2 makrofagima, deluje antiinflammatory, učestvuje u remodelovanju inflamacijom oštećenih tkiva i obnovi insulinskih signala koje su prethodno narušili TNF- α i IL-6 (164,165). Nizak nivo IL-10 inverzo korelira sa nivoom-HDL-holesterola, LDL-holesterola a direktno sa vrednostima triglicerida. Niski nivoi IL-10 su udruženi sa metaboličkim sindromom i dijabetes melitusom tip 2. Takođe je i udružen sa insulinskom senzitivnošću, a mehanizam dejstva nije poznat (166).

Visfatin je adipokin koji se najvećim delom stvara u visceralnom masnom tkivu i direktno deluje na insulinske receptore imitirajući efekte insulina (167). Nivo visfatina korelira sa stepenom insulinske rezistencije i ukupnim serumskim holesterolom (168).

Retinol vezujući protein-4 (RBP-4) se sintetise u masnom tkivu i osnovna mu je uloga transport vitamina A u cirkulaciji (169). Inhibiše preuzimanje glukoze od strane mišićnih ćelija i povećava glukoneogenezu u jetri. Povišene vrednosti su prisutne kod gojaznih osoba sa insulinskom rezistencijom (169).

Adipsin je adipokin koji učestvuje u aktivaciji komplekta, ubrzava resorpciju masnih kiselina, povećava sintezu triglicerida, inhibiše lipolizu i oslobađanje neesterifikovanih masnih kiselina iz adipocita i ubrzava transport glukoze u adipocite, povećanjem broja transportnih molekula i stimulacijom sekrecije insulina (170,171)

Secreted frizzled-related protein 5 (sFRP-5) je novootkriveni adipokin sa antiinflamatornim osobinama. SFRP5 je solubilni modulator koji sekvstrira WNT protein i sprečava WNT5A signalizaciju. WNT se sastoji od 19 udruženih proteina koji su signalni molekuli i imaju ulogu u inflamaciji, proliferaciji, diferencijaciji i migraciji (172-177). WNT5A je član WNT porodice i posebno mesto mu se pridaje u patogenezi ateroskleroze. WNT5A ekspresija je pojačana u humanim aterosklerotskim lezijama (178,179). WNT5A-posredovana signalizacija stimuliše endotelnu proliferaciju i vaskularnu kalcifikaciju obe udružene sa patogenezi ateroskleroze (180). SFRP5 je antiinflamatorni adipokin i endogeni inhibitor WNT5A signalizacije i ima ključnu ulogu u gojaznosti, insulinskoj rezistenciji i dijabetes melitusu (181,182,183,184). Njegov antiinflamatorni efekat se pripisuje supresiji WNT5A/JNK signalnog puta. Podaci o odnosu između WNT5A i SFRP5 kod ljudi su ograničeni i inkonzistentni kao i o ulozi SFRP5 u razvoju endotelne disfunkcije (185,186).

1.4.3. Aterogena dislipidemija

U metaboličkom sindromu zbog poremećaja u delovanju insulina javlja se karakterističan poremećaj metabolizma lipida – aterogena dislipidemija. Zbog povećanog priliva slobodnih masnih kiselina ka jetri dolazi do povećanja trigliceridima bogatih lipoproteina vrlo male gustine koji sadrže apolipoprotein B (VLDL) (187). U fiziološkim uslovima insulin inhibira izlučivanje VLDL-holesterola u sistemsku cirkulaciju (188). Međutim, u uslovima insulinske rezistencije povećani priliv masnih kiselina u jetru povećava sintezu triglicerida u jetri. Hipertrigliceridemija je odličan odraz insulinske rezistencije i važan dijagnostički kriterijum metaboličkog sindroma. Takođe, dolazi do snižavanja koncentracije HDL-holesterola dok koncentracija LDL-holesterola ostaje relativno nepromenjena ali dolazi do preraspodele čestica i one postaju manje i gušće.

Povećana zastupljenost malih gustih LDL (small dense LDL-cholesterol - sdLDL) i malih gustih HDL (small dense HDL-cholesterol - sdHDL) čestica nastaje zbog fenomena

remodelovanja ovih lipoproteina u cirkulaciji enzimima kao što su holesterol estar transfer protein (CETP) i hepatična lipaza (189,190). Lipidnu zamenu posredovanu CETP pokreće koncentracija lipoproteina bogatih trigliceridima. U prisustvu hipertrigliceridemije povećana koncentracija velikih VLDL partikula promoviše tranfer molekula triglicerida u LDL i HDL u zamenu za holesterol-estar molekule. Kao posledica toga one postaju supstrati za hepatičnu lipazu, dovodeći do smanjenja lipidnog jezgra ovih lipoproteina, formirajući na taj način sdLDL i sdHDL čestice. sdHDL čestice imaju u jezgru manje holesterol estra i postaju senzitivne na degradaciju i povećani klirens iz cirkulacije. Postoji nekoliko mehanizama koji doprinose aterogenosti sdLDL-a. sdLDL se manje efikasno vezuju za LDL receptore, koji su njegov normalan put degradacije, a samim tim se produžava njihovo ostajanje u cirkulaciji. Insulinska rezistencija pogoršava LDL klirens smanjujući sposobnost ekspresije LDL receptora. Ovaj proces favorizuje vezivanje sdLDL za arterijski zid. Konformacione promene u apolipoproteinu B čine ih podložnijim da interreaguju sa površinom endotelnih ćelija koje oblažu arterije. Ova retencija i manja veličina LDL partikula olakšava njihov ulaz u vaskularni zid. sdLDL partikule su vrlo senzitivne na hemijske modifikacije, kao što je oksidacija kada uđu u arterijski zid. Receptori postojećih makrofaga prepoznaju i preuzimaju modifikovani LDL koji postepeno pretvara makrofage u penaste ćelije koje predstavljaju ranu fazu u razvoju ateroskleroze (191).

Kombinacija visokih triglicerida, niskog HDL-holesterola i sdLDL predstavlja aterogenu lipidnu trijadu.

1.4.4. Hipertenzija

Arterijska hipertenzija je povezana sa gojaznošću i insulinskom rezistencijom koja je prisutna kod većine osoba sa metaboličkim sindromom. Postoji više mehanizama koji povezuju insulinsku rezistenciju i hipertenziju. Insulin se ponaša kao vazodilatator jer dovodi do produkcije moćnog NO iz endotelnih ćelija krvnih sudova uz sekundarno delovanje na reapsorpciju natrijuma u bubrezima (192,193). U uslovima insulinske rezistencije gubi se normalan vazodilatatorni efekat na krvne sudove dok efekat na reapsorpciju natrijuma ostaje. Ovo dovodi do poremećaja membranskog transporta jona i povećanja intraćelijske akumulacije natrijuma što dovodi do proliferacije glatkih mišićnih ćelija krvnog suda i njihove senzibilizacije na presorne efekte kateholamina i angiotenzina II. U adipocitima se kod gojaznih osoba povećano luči angiotenzinogen (194). U uslovima normalnog ćelijskog funkcionisanja sistem renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS) se aktivira padom volumena ili pritiska usled čega angiotenzin II pojačava tubularnu reapsorpciju natrijuma, povećava otpor

protoku perifernih arterija i stimuliše simpatički nervni sistem dovodeći na taj način do porasta krvnog pritiska (195). Retencija natrijuma i porast ekstraćelijske tečnosti povratnom spregom dovodi do prestanka oslobađanja renina. Iako je gojaznost povezana sa retencijom natrijuma i porastom ekstraćelijske tečnosti kod metaboličkog sindroma RAAS ostaje aktivan. Povećana proizvodnja renina može nastati usled smanjenog priliva natrijuma u maculu densu, zbog povećane reapsorpcije u Henleovoj petlji ili zbog povećane aktivnosti simpatikusa u bubrezima. Takođe, i povećano stvaranje aldosterona kod visceralne gojaznosti može biti udruženo sa nastankom hipertenzije kod pacijenata sa metaboličkim sindromom (195).

1.4.5. Proinflamatorno stanje

Korelacija između metaboličkog sindroma i inflamacije potvrđena je u mnogim istraživanjima. Inflamacija niskog stepena može biti u osnovi gojaznosti (196,197). Makrofagi se nakupljaju u višku masnog tkiva dovodeći do otpuštanja citokina koji mogu da budu okidač za sistemsku inflamaciju (198) udruženu sa porastom reaktanata akutne faze, CRP-a (199) i proinflamatornih citokina kao što su TNF- α , IL-6 i rezistin. Citokini koji se otpuštaju iz masnog tkiva indukuju insulinsku rezistenciju u skeletnim mišićima (200). Unutar aterosklerotskih lezija inflamacija niskog stepena može dovesti do rupture aterosklerotskog plaka (201). Dva najčešće korišćena pokazatelja inflamacije u rutinskoj praksi su CRP i fibrinogen.

1.4.5.1. C-reaktivni protein

CRP je protein koji pripada porodici pentraksina. Sastoji se od pet identičnih nekovalentno vezanih subjedinica organizovanih simetrično oko centralne šupljine. Svaka jedinica pentamera ima kalcijum zavisno mesto vezivanja liganada (fosfoholin) i mesto za vezivanje efektorih molekula (C1q komponenta komplementa). Ukupna molekulska masa CRP-a je oko 115 000 Da (202).

CRP je odavno poznat kao protein akutne faze koji ima važnu ulogu u prepoznavanju i aktivaciji inflamatornih procesa. Važan je aktivator klasičnog puta komplementa. Po povredi tkiva koncentracija CRP-a počinje da raste u toku 4-6h i nastavlja da se povećava eksponencijalno, udvostručujući vrednost svakih 8-9h i dostižući maksimum u toku 24-48h. Koncentracija se normalizuje tek kada se integritet tkiva obnovi. Poluvreme njegovog biološkog života iznosi 19 sati. Koncentracije CRP su u velikoj meri određene brzinom sinteze, što čini CRP jednim od proteina akutne faze koji najbrže reaguju (203).

Sinteza CRP-a stimulisana je citokinima IL-6 i TNF- α . U prisustvu jona kalcijuma CRP se vezuje za polisaharide mnogih bakterija, gljivica i nekih parazita. Vezivanje za katjonske molekule protamin, heparin i histone nezavisno je od jona kalcijuma. Ovo omogućava

uklanjanje raspadnih produkata tkiva nastalih u toku inflamacije, jer je CRP snažan aktivator klasičnog puta aktivacije komplementa i dovodi do opsonizacije i fagocitoze i uklanjanja mikroorganizama i ostataka nastalih nekrozom i apoptozom (204).

Novija saznanja ukazuju na to da se CRP ne sintetise samo u jetri nego i u različitim tipovima ćelija u plaku, u ćelijama glatkih mišića i makrofagima (205-208). U humanom adipoznom tkivu dokazano je prisustvo iRNK za sintezu CRP, a i sama svojstva adipokina govore tome u prilog. Adiponektin dovodi do značajnog smanjenja količine iRNK za sintezu CRP dok leptin povećava sintezu CRP-a u endotelnim ćelijama inkubiranim sa IL-1 i IL-6 (209,210).

U aterosklerotskom procesu CRP utiče na endotelne ćelije, monocite/makrofage, preuzimanje oksidovanog LDL-holesterola i ćelije glatkih mišića krvnih sudova. Svoje proaterogene efekte ispoljava u svim fazama aterogeneze od endotelne disfunkcije, preko inicijalnog formiranja i razvoja plaka, do njegove rupture. Na mononuklearima, neutrofilima i endotelnim ćelijama aorte su identifikovani receptori za CRP. Glavni receptor za CRP na leukocitima je Fc γ receptor II (CD32). Na endotelnim ćelijama CRP ostvaruje svoje efekte vezivanjem za CD32 i CD64 dovodeći do povećane ekspresije adhezivnih molekula i smanjene ekspresije NOS (205). Na nivou endotelnih ćelija CRP inhibira transkripciju iRNK za sintezu endotelne NOS, takođe inhibira sintezu NO i PGI₂, a stimuliše proizvodnju vazokonstiktora endotelina-1 (ET-1) i IL-6. U endotelnim ćelijama CRP, takođe, aktivira NF- κ B i produkciju proinflamatornih citokina IL-6 i IL-8 kao i ekspresiju adhezivnih molekula (intracelularnog adhezionog molekula-1 - ICAM-1, vaskularnog ćelijskog adhezionog molekula-1 - VCAM-1 i E-selektina). CRP stimuliše ekspresiju monocitnog hemoatraktantnog proteina 1 (MCP-1) u endotelnim ćelijama koji je neophodan za transmigraciju monocita u zid arterije čime počinje formiranje plaka. U zidu CRP stimuliše diferencijaciju monocita u makrofage i njihovu proliferaciju, olakšava preuzimanje oksidovanog LDL-holesterola od strane makrofaga i oslobađanje slobodnih kiseoničnih radikala. U makrofagima CRP stimuliše aktivnost matriks metaloproteinaza koji razgrađuju kolagen i destabilizuju plak (211).

1.4.5.2. Fibrinogen

Fibrinogen je cirkulišući glikoprotein molekulske težine 134kDa, koji predstavlja prvi faktor koagulacije. Fibrinogen pored uloge u stvaranju fibrina ima i ulogu u regulaciji adhezije, hemotakse i proliferacije ćelija, vazokonstrikcije na mestima oštećenja krvnog suda, stimulacije agregacije trombocita i povećavanja viskoznosti krvi. Fibrinogen je takođe reaktant akutne faze

pod stimulacijom IL-6. Njegova sinteza u jetri se povećava 4 puta kao odgovor na inflamatorne ili infektivne stimulse (212).

U toku poslednje decenije brojne studije su pokazale da su povišene koncentracije fibrinogena povezane sa razvojem ili prisustvom subkliničke aterosklerotske bolesti (213,214,215). Iako je odnos između fibrinogena i komponenti metaboličkog sindroma slabiji nego kod ostalih hemotaktičkih faktora kao što su PAI-1 i faktor VII, povišeni nivoi fibrinogena se mogu objasniti proinflamatornim stanjem abdominalne gojaznosti i sintezom i sekrecijom IL-6 i drugih proinflamatornih citokina.

Iako danas postoji dovoljno dokaza da je fibrinogen nezavisni marker rizika za pojavu koronarne bolesti srca njegovo određivanje u svrhu procene kardiovaskularnog rizika još uvek nije preporučeno zbog heterogenosti svih metoda koje se koriste za njegovo određivanje i nepostojanja adekvatne standardizacije. Takođe, nisu definisane ni strategije za terapiju kod povišenih vrednosti fibrinogena (215).

1.4.6. Protrombotično stanje

Patogeneza protrombotičnog stanja u metaboličkom sindromu je multifaktorijalna zbog bliskog odnosa između glavnih komponenti insulinske rezistencije, abdominalne gojaznosti, aterogene dislipidemije, inflamacije i hipertenzije i rane pojave endotelne disfunkcije. Poremećaji hemostaznog sistema u metaboličkom sindromu uključuju povećanje nivoa faktora VIII, Fon Vilebrandovog faktora, tkivnog faktora, faktora VII i fibrinogena. Poremećaj uključuje i pojačanu reaktivnost trombocita i manji antitrombocitni odgovor na aspirin. Fon Vilebrandov faktor i faktor VIII cirkulišu kao kompleks i imaju ulogu u adheziji trombocita i formiranju ugruška i predstavljaju reaktante akutne faze. Mehanizam koji bi mogao da poveže povišene nivoe kompleksa Fon Vilebrandov faktor/faktor VIII sa komponentama metaboličkog sindroma su prisutna endotelna disfunkcija i proinflamatorni milje. U proinflamatornom miljeu TGF- β stimuliše sintezu tkivnog faktora. Leptin utiče na ekspresiju tkivnog faktora u mononuklearnim ćelijama. Povećani broj cirkulišućih mikropartikula koje imaju tkivni faktor se javlja kod osoba sa metaboličkim sindromom. Faktor VII se može vezati sa lipoproteinima bogatim trigliceridima i njegovi plazmatski nivoi su u korelaciji sa hilomikronima i VLDL-holesterolom. Poremećaj katabolizma ovih lipoproteina može produžiti poluvreme života faktora VII i povećati njegove plazmatske koncentracije.

U metaboličkom sindromu postoji i smanjena fibrinoliza zbog povišenih nivoa PAI-1. PAI-1 sintetišu adipociti mehanizmom koji je regulisan insulinom, glukokortikoidima, angiotenzinom II i citokinima. TNF- α i TGF- β imaju uticaj na prekomernu sekreciju PAI-I iz

masnog tkiva. U hepatocitima povišeni nivoi cirkulišućih slobodnih masnih kiselina i VLDL-holesterola stimulišu stvaranje PAI-1 u hepatocitima. Insulin reguliše ekspresiju gena trombinom aktivisanog inhibitora fibrinolize (TAFI) u hepatocitima i proinflamatorni citokini povećavaju njegovo stvaranje (216,217,218,219,220,221)

Kod osoba sa abdominalnom gojaznošću i insulinskom rezistencijom dolazi do povećanja koncentracija P-selektina, markera aktivacije trombocita. Prevalenca aktivisanih trombocita je udružena sa povećanjem drugih protrombotskih proteina CD40 liganda koji je deo TNF- α porodice. CD40 ligand aktivira inflamatorni odgovor u vaskularnom zidu i indukuje proizvodnju ROS i ekspresiju VCAM-1, ICAM-1 i E-selektina (222).

1.5. Disfunkcija vaskularnog endotela i metabolički sindrom

Endotel ne predstavlja samo inertni omotač unutrašnjosti krvnog suda nego i kompleksni organ koji ispoljava intenzivnu autokrinu, parakrinu i endokrinu funkciju i predstavlja prvu liniju odbrane u aterosklerotskom procesu. Zdrav endotel ima stratešku ulogu zbog svoje lokalizacije između cirkulišuće krvi i vaskularnog zida i zbog toga može da odgovori na širok opseg stimulusa koji regulišu vaskularni tonus, protok krvi, proliferaciju glatkomišićnog sloja, ćelijsku adheziju, rezistenciju trombocita i vaskularne inflamatorne procese (223).

1.5.1. Fiziologija vaskularnog endotela – endotel u normalnoj vaskularnoj homeostazi

U bazalnim fiziološkim uslovima očuvanje integriteta endotelnih ćelija je od velikog značaja za očuvanje vaskularne homeostaze. Endotel nije inertna barijera. On omogućava komunikaciju između cirkulišuće krvi i glatkomišićnog sloja zida krvnog suda. Takođe, utiče i na regulaciju protoka krvi kroz organe vazokonstrukcijom i vazodilatacijom, promenama glatkomišićnog sloja, proinflamatornim i antiinflamatornim promenama i održavanjem protoka krvi kao i zaustavljanjem krvarenja (224).

Endotel igra presudnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska i optimalnog protoka krvi kontinuiranom modulacijom između vazodilatacije i vazokonstrukcije, sintezom vazodilatatora, NO, PGI₂ i ET-1 i endotelin hiperpolarizujućeg faktora (endothelium-derived hyperpolarizing factor – EDHF) (224,225). Vaskularni tonus je najčešće u vazodilatatornom stanju, a autoregulacija se odvija pod dejstvom hemodinamskih sila, pulsativne sile i sile trenja, koje delujući mehanički na zid krvnog suda stimulišu endotelnu NOS i sintezu NO (226). NO difunduje u glatkomišićni sloj gde aktivira ciklični gvanozin monofosfat što dovodi do

smanjenja intraćelijskog kalcijuma i do vazodilatacije (227). NO takođe stabilise inhibitornu subjedinicu NF- κ B, održava proinflamatorne transkripcione faktore u inaktivnom stanju i stoga inhibira ekspresiju leukocitnih adhezionih molekula i stvaranje hemokina i proinflamatornih citokina (226). PGI₂ ispoljava vazodilatatorno, antiagregaciono i citoprotektivno dejstvo (228). Fiziološka inhibicija proliferacije i migracije glatkomišićnih ćelija je pod uticajem inhibitora faktora rasta poput NO, PGI₂, trombospondina, TGF- β i INF- γ , održavanja balansa jona kalcijuma (kontrakcija i proliferacija glatkomišićnih ćelija) i cAMP (vazorelaksacija i inhibicija proliferacije). U fiziološkim uslovima adhezioni molekuli koji kontrolišu migraciju leukocita nisu ispoljeni ili su ispoljeni sasvim malo. Takođe intaktan edotel inhibiše adheziju trombocita i doprinosi fiziološkom procesu održavanja ravnoteže koagulacije i fibrinolize (229).

1.5.2. Patofiziologija endotelne disfunkcije

Karakteristika endotelne disfunkcije je smanjena bioraspoloživost NO što dovodi do remećenja endotel zavisne vazodilatacije. Pod dejstvom različitih noksi (mehaničkih, hemijskih, bioloških, imunih i metaboličkih) dolazi do endotelne aktivacije. Endotelna aktivacija dovodi do sinteze proinflamatornih citokina i adhezionih molekula kao što su E-selektin, ICAM-1 i VCAM-1. Endotel postaje protrombogen zbog smanjene ekspresije molekula kao što su trombomodulin, heparan sulfat, NO, PGI₂ kao i povećane sinteze Fon Vilebradnovog faktora, PAI-1, tkivnog faktora i PAF. Proinflamatorni citokini i hemokini pojačavaju reakciju akutne faze i privlače monocite na mesto povrede. Aktivacija NF- κ B stimuliše fenotipsku endotelnu modifikaciju koja ima pet osnovnih karakteristika: ekspresija leukocitnih adhezivnih molekula, produkcija citokina, promena oblika i permeabiliteta endotela, protrombotske promene i ushodna regulacija sopstvenih antigena (230). Interakcije leukocita i endotelnih ćelija, kao i njihova ekstravazacija u subendotelni prostor predstavljaju uslov za nastanak i razvoj aterosklerotskih promena. Brojni faktori u osnovi metaboličkog sindroma kao što su gojaznost, hiperinsulinemija, insulinska rezistencija, hiperglikemija, hipertenzija i dislipidemija su odgovorni za nastanak endotelne disfunkcije.

1.5.3. Endotelna disfunkcija i metabolički sindrom

Gojaznost naročito abdominalna koja je u osnovi metaboličkog sindroma predstavlja oboljenje u kome su objedinjeni faktori rizika za disfunkciju vaskularnog endotela. Masno tkivo je dinamičan i metabolički aktivan endokrini organ.

Nakupljanje masnog tkiva može dovesti do morfoloških i funkcionalnih promena u masnom tkivu, koji se nazivaju adipozopatijama. Jedna od važnih posledica adipozopatije je fenotipska konverzija vaskularnog endotela. Morfološke promene u masnom tkivu: adipocitna hipertrofija i disfunkcija organela (mitohondrija i endoplazmatskog retikuluma), poremećena angiogeneza i hipoksija, insuficijentna adipogeneza i disbalans između apoptoze i adipogeneze mogu dovesti do aktivacije brojnih imunskih mehanizama. Inicijacija imunskog odgovora može biti indukovana metaboličkim stresorima (glukozom, slobodnim masnim kiselinama, palmitatom, holesterolskim kristalima i ceramidima) kao mogućim induktorima imunskog odgovora (231).

Molekularni mehanizmi odgovorni za inflamaciju posredovnu metaboličkim stresorima su veoma složeni. U urođenom imunskom odgovoru dolazi do aktivacije inflamazoma. Ovaj kompleks proteina citosola, mononuklearnih fagocita, dendritskih ćelija proteolitički uz pomoć kaspaze-1 razlaže neaktivni prekursor pro-IL-1 β i pretvara ga u aktivni IL-1 β . Različiti metabolički stresori bivaju prepoznati od strane nukleotid-vezujućeg domena (NLRP3). Njegova aktivacija je udružena sa stresorima oštećenja koji mogu biti ekstraćelijski ATP, hijaluron, kristali mokraćne kiseline kao i slobodni kiseonični radikali i kalijum. Takođe i slobodne masne kiseline mogu biti metabolički stresori s obzirom da služe kao TLR4 (232).

Makrofagi masnog tkiva su klasično aktivisani makrofagi tip M1 i alternativno aktivisani makrofagi tip M2. U metaboličkoj homeostazi M2 fenotip je predominantno prisutan u visceralnom masnom tkivu. U disfunkcionalnom masnom tkivu makrofazi menjaju svoju polarizaciju. Makrofagi aktivisani interferonom- γ , Th1 ćelijama i TLR ligandima stvaraju ovaj proinflamatorni fenotip M1. Profil citokina u M1 fenotipu uključuje TNF- α , IL-1 β , IL-12 i IL-23. Alternativno aktivisani makrofagi M2 fenotip bivaju aktivisani Th2 citokinima i proizvode anti-inflamatorne citokine IL-10, IL-1 receptor antagoniste (IL-1 Ra), TGF- β i ostale faktore koji vrše reparaciju oštećenog tkiva (233). Pomeranje prema M1 fenotipu makrofaga i lokalna produkcija hemokina dalje promoviše sistemski inflamatorni odgovor i endotelnu disfunkciju u gojaznosti. Ostali mehanizmi koji su u povratnoj vezi endotelne disfunkcije i metaboličkog sindroma su insulinska rezistencija, dislipidemija i arterijska hipertenzija.

U uslovima insulinske rezistencije i posledične hiperinsulinemije dolazi do smanjene aktivacije fosfatidilinozitol-3 kinaze, a potom pojačane aktivacije mitogen aktivirane protein kinaze koji regulišu rast, mitogenezu i diferencijaciju i insulinom stimulisanu sekreciju ET-1 (26). Usled smanjene aktivacije fosfatidilinozitol-3 kinaze smanjuje se stvaranje NO i ushodne regulacije PAI-1, ekspresije adhezivnih molekula VCAM-1 i E-selektina i stvaranja

vazokonstriktornog, proliferativnog, proaterogenog i protrombogenog fenotipa endotelne ćelije.

U homeostazi endotelne ćelije učestvuje i RAAS. Pojačana aktivnost RAAS koja se javlja u metaboličkom sindromu ima pored negativnog uticaja na insulinom posredovano iskorištavanje glukoze u mišićima i na porast aktivnosti simpatikusa, proliferaciju glatkomišićnih ćelija i nastanak arterijske hipertenzije (195).

Dislipidemija ima takođe važnu ulogu u patofiziološkom mehanizmu nastanka endotelne disfunkcije. U metaboličkom sindromu zbog smanjene insulinske senzitivnosti dolazi do povećane sinteze slobodnih masnih kiselina, triglicerida i VLDL lipoproteina. Veliki afinitet lipoproteinske lipaze za hidrolizu hilomikrona doprinosi sporijem katabolizmu i akumulaciji VLDL remnanta u krvi i postprandijalnoj lipemiji. Hipertrigliceridemija pojačava aktivnost CETP koji vrši izmenu triglicerida sa česticama bogatih trigliceridima na LDL i HDL čestice, koje potom daju svoje holesterol-estre u čestice bogate trigliceridima posledično stvarajući supstrat za hepatičnu lipazu. Na taj način se stvaraju sdLDL i sdHDL. sdHDL gube svoju funkcionalnost i brzo se otklanjaju iz cirkulacije, naročito protektivna HDL2 frakcija (234). sdLDL imaju manji afinitet za LDL receptore, predominantno se uklanjaju putem receptora čistača na makrofagima, lakše prolaze u subendotel, bivaju oksidovane i dovode do stvaranja penastih ćelija. Takođe, u uslovima hiperglikemije dolazi do glikacije LDL čestica što pored ometanja uklanjanja iz cirkulacije putem LDL receptora smanjuje preuzimanje L-arginina i NO sintezu. Oksidovani LDL vezuje NO, smanjuje aktivnost NOS i interferira sa L-arginin/NO metaboličkim putem dovodeći do endotelne vazokonstrikcije. Oksidovani LDL u reakciji sa endotelom dovodi do stvaranja lizofosfatidil-holina i formiranja superoksida i daljeg vezivanja NO i smanjivanja vazodilatacije.

S obzirom da je disfunkcija vaskularnog endotela znak generalizovane vaskulopatije, u proceni endotelne funkcije biomarkeri imaju veliki značaj. U ispitivanju disfunkcije vaskularnog endotela primenjuju se pojedini cirkulišući biomarkeri koji su pokazatelji biologije NO: asimetrični dimetilarginin (ADMA), inflamatorni citokini (IL-6, IL-18, TNF α , CRP), hemokini (IL-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/antikoagulantni biomarkeri (Fon Vilebrandov faktor, tkivni faktor, PAI-1, odnosno trombomodulin), endotelni kaveolin-1, cirkulišuće endotelne ćelije kao i markeri endotelnog oštećenja i reparacije (endotelne progenitorne ćelije, endotelne mikropartikule - odbačeni delovi plazmatske membrane nakon oštećenja, aktivacije ili apoptoze endotelne ćelije) (235,236).

1.5.3.1. Asimetrični dimetil arginin

Dimetilarginini su proizvod degradacije metiliranih proteina (237). Metil grupe nastaju iz S-adenozilmetionina pod dejstvom enzima protein arginin metiltransferaze tipa 1 i 2 (PRMT1, PRMT2). PRMT-1 katališe formiranje NG monometil-L-arginina (LNMA) i NG,NG-dimetil-L-arginin (ADMA) dok PRMT-2 metiliše proteine da bi se oslobodio NG, N^G-dimetil-L-arginin (simetrični dimetil arginin-SDMA) i LNMAA. Asimetrično metilirane argininske rezidue (LNMA i ADMA) su kompetitivni inhibitori NO sintetaze. Endogena eliminacija ADMA i SDMA se vrši putem bubrega stoga se njihove koncentracije povećavaju u bubrežnoj insuficijenciji. Specifičan put koji je uključen u metabolizam ADMA je put hidrolitičke degradacije u citrulin i dimetilamin katalisan enzimom NG dimetilarginin dimetilaminohidrolaze (DDAH) (238). DDAH je pronađen u bubrezima, pankreasu, jetri, mozgu i aorti i takođe u neutrofilima i makrofagima (239). Inhibicija DDAH prouzrokuje postepenu vazokonstrikciju. Postoje dva oblika DDAH: DDAH-1 i DDAH-2. DDAH-1 se predominantno nalazi u tkivima koje imaju neuronalnu NO sintazu, a DDAH-2 se predominantno nalazi u tkivima koje imaju endotelnu izoformu NOS (240). Povišena glikemija, oksidisani LDL i povišene koncentracije homocisteina su udružene sa sniženim nivoima DDAH (241). Potencijalni mehanizam interakcije između homocisteina i ADMA je povezanost ADMA sa reakcijama transfere metilnih grupa. ADMA nastaje proteolizom proteina koji sadrže metilirane argininske rezidue uz pomoć PRMT. Smatra se da povećana metilacija SAM zavisnih proteina može dovesti do povećanog stvaranja ADMA i generisanja homocisteina. Drugi mogući mehanizam povećanja ADMA u hiperhomocisteinemiji uključuje smanjenu bubrežnu ekskreciju i smanjenu aktivnost DDAH koji metaboliše ADMA u citrulin. Homocistein inhibiše DDAH aktivnost direktno ili indirektno indukovanjem oksidativnog stresa i povećanja ADMA. Takođe, homocistein može povećati nivo ADMA indukovanje stresa endoplazmatskog retikuluma, dovodeći do povećane proteolize proteina koji sadrže metilirane argininske rezidue. Akumulacija ADMA u endotelnim ćelijama može dovesti do inhibicije azot oksid sintaze, dovodeći do smanjenje produkcije NO i endotelne disfunkcije (242).

U eksperimentalnim životinjskim modelima povećana ekspresija DDAH smanjuje nivo ADMA i povećava NO nivo (242) i promovise reparaciju endotela nakon oštećenja. Povećana ekspresija DDAH-1 i DDAH-2 ima slične fenotipske promene dok selektivna inhibicija individualnih izoformi dovodi do različitih bioloških efekata (243). Inhibicija DDAH-1 rezultuje u povišenim cirkulišućim nivoima ADMA ali ne i u promenama u endotel-posredovanoj vazodilataciji. Inhibicija DDAH-2 dovodi do signifikatne endotel posredovane

vazodilatacije ali bez posledica u porastu cirkulišućih ADMA nivoa. Ovo dovodi do zaključka da je DDAH-2 najizraženija izoforma u endotelu dok je DDAH-1 eksprimiran u bubrezima i jetri (244).

ADMA je endogeni kompetitivni inhibitor NO sintaze. Povećanje nivoa ADMA može biti jedan od uzroka endotelne disfunkcije. Veza između nivoa ADMA i faktora rizika za progresiju vaskularnih bolesti se još uvek istražuje. Brojni faktori rizika, gojaznost, hipertenzija, hiperholesterolemija, pušenje, dijabetes melitus mogu da pogoršaju endotelnu disfunkciju putem inhibicije L-arginin/NO puta. U svim ovim stanjima ADMA nivoi su bili viši kod ispitanika u odnosu na kontrolnu grupu.

1.5.3.2. Homocistein

Homocistein (Hcy) nastaje demetilacijom esencijalne aminokiseline metionina putem dva intermedijera S-adenozil metionina (SAM) i S-adenozilhomocisteina (SAH) potencijalnog inhibitora transmetilacije. SAM je donor u preko 115 različitih ćelijskih reakcija u kojima učestvuje metiltransferaza (245). SAM prelazi u SAH transferom metil grupa. Hcy može da koristi adozin normalan sastojak svih ćelijskih tečnosti, da bi formirao SAH, potentni inhibitor ćelijske metilacije dovodeći do ćelijske hipometilacije. Intraćelijski odnos SAM/SAH može da bude prediktor kapaciteta ćelijske metilacije. SAH se potom konvertuje u homocistein koji dalje biva metabolisan putem dva alternativna puta: transulfuracije ili remetilacije. Homocistein transulfuracijom prelazi u cistation a potom i u cistein. Reakcija zavisi od cistation β -sintaze (CBS), vitaminima B6 u jetri i bubrezima. Remetilacija može biti folat zavisna i folat nezavisna. Kada se ćelijski kapacitet metabolisanja Hcy prevaziđe, amino kiseline prelaze u ekstraćelijski kompartman da bi se postigao ekvilibrijum u cirkulaciji. Hcy je prisutan u različitim formama. Oko 70-80% je vezan za proteine.

Uticaj prisustva metaboličkog sindroma na metabolizam homocisteina se još uvek istražuje. Kod pacova dokazano je da visoko kalorična ishrana dovodi skoro do 50% povećanja nivoa Hcy. Hepatična CBS je bila snižena i negativno je korelirala sa nivoima insulina i homocisteina. Podaci na ljudima su bili oprečni. U Framinghamskoj studiji izdanka koja je uključivala 2011 osoba bez dijabetes melitusa nivoi Hcy su bili viši kod ispitanika sa hiperinsulinemijom u odnosu na one sa normoinsulinemijom, dok je bilo i onih koje nisu pokazale ovaj odnos. Postoji nekoliko faktora koji utiču na ovo. Ako insulin dovodi do redukcije aktivnosti hepatične CBS dolazi do povećanja insulinske rezistencije i hiperinsulinemije. Ako je insulinska rezistencija ograničena samo na perifernu rezistenciju dok je hepatična intaktna, hiperinsulinemija pogoršava metabolizam Hcy u jetri, a ako je prisutna

hepatična insulinska rezistencija inhibitorni efekat insulina na hepatičnu CBS je pogoršan i metabolizam Hcy može čak biti i ubrzan. Insulin ima anaboličan efekat na metabolizam proteina i može smanjiti intraćelijsku koncentraciju metionina koji je bioraspoloživ za Hcy. Alimentarni unos metionina, vitamina B6 i B12 može dovesti do hiperfagije i gojaznosti i uticati na nivo Hcy. Bubrezi su glavni organi uključeni u metabolizam Hcy. Gojaznost i metabolički sindrom su često udruženi sa glomerularnom hiperfiltracijom koja može povećati renalni klirens Hcy a s druge strane gojaznost i metabolički sindrom mogu pogoršati renalnu funkciju čak i u odsustvu ostalih faktora rizika kao što su dijabetes ili hipertenzija. Nivo Hcy zavisi od činjenice da li pacijent sa metaboličkim sindromom ima dijabetes ili ne. Kod pacijenata sa dijabetesom bez nefropatije nivoi Hcy su sniženi, a kada se razvije nefropatija su povišeni. Leptin koji je značajno povišen kod gojaznih osoba nema efekat na nivo ukupnog Hcy ali povećava nivo homocistein-tiolaktona, cikličnog estera Hcy koji ima ulogu u nastanku komplikacija hiperhomocisteinemije. Efekat leptina je udružen sa inhibicijom paraoksonaze 1 koja vrši hidrolizu homocistein-tiolaktona u Hcy (245).

U poslednje dve decenije biomedicinska istraživanja su aktivno istraživala patofiziološke mehanizme povezanosti hiperhomocisteinemije i endotelne disfunkcije. Potencijalni mehanizmi koji mogu povezati hiperhomocisteinemiju i endotelnu disfunkciju su: inhibicija NO, regulacija prostanonda, supresija EDHF, aktivacija angiotenzin II receptora 1 (AGTR 1), indukcija ET-1 i oksidativni stres (245).

1.6. Nealkoholna masna bolest jetre i metabolički sindrom

Jetra je centralni organ u kontroli metabolizma masti i ugljenih hidrata, kao i centralni organ portnog krvotoka. Abdominalna gojaznost i insulinska rezistencija koje su u osnovi metaboličkog sindroma često su praćeni nagomilavanjem masti u jetri i nastankom NAFLD. Nealkoholna hepatosteatoza (non alcoholic fatty liver - NAFL) predstavlja najraniji stadijum bolesti koji preko nealkoholnog steatohepatitisa (non-alcoholic steato-hepatitis - NASH) može dovesti do nastanka ciroze i karcinoma jetre (246, 247). NAFLD prema definiciji Američkog udruženja za ispitivanje bolesti jetre (American Association for the Study of Liver Disease - AASLD) predstavlja prisustvo hepatične steatoze dijagnostikovane imidžing metodama ili histološki (prisustvo steatoze u više od 5% hepatocita) u odsustvu poznatih uzroka hepatične akumulacije masti (virusnog hepatitisa, steatogenih lekova, naslednih poremećaja, autoimunih bolesti i konzumiranja alkohola) (248).

Patogeneza NAFLD protiče kroz fazu nagomilavanja masti u jetri i fazu inflamacije. Kod gojaznosti naročito visceralne javlja se inflamacija i infiltracija sa makrofagima masnog tkiva. Makrofagi, adipociti, preadipociti i endotelne ćelije unutar masnog tkiva proizvode brojne adipokine koji imaju ili pro- ili antiinflamatorne efekte. Proinflamatorni, protrombotski i profibrogeni faktori predominiraju u insulinskoj rezistenciji. Ključni metabolički efekat je relativno povećana aktivnost hormon senzitivne lipaze koja dovodi do porasta u lipolizi i oslobađanja slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju (249). Povećani priliv slobodnih masnih kiselina u jetru indukuje njihovu pojačanu β -oksidaciju i deponovanje lipida u hepatocitima što vremenom dovodi do oštećenja mitohodrija i stresa endoplazmatskog retikuluma i lipotoksičnosti i nekroze hepatocita (250). Hepatična steatoza dovodi do povećane signalizacije NF- κ B u jetri (250) koja potom indukuje proizvodnju lokalnih i sistemskih inflamatornih medijatora kao što su TNF- α i IL-6 i aktivacije Kupfferovih ćelija. Proinflamatorni adipokini indukuju aktivaciju hepatičnih stelatnih ćelija koje dovode po proizvodnje kolagenog matriksa i razvoja jetrene fibroze. Povišen nivo slobodnih masnih kiselina u gojaznosti potiče i iz promenjenog intestinalnog mikrobioma (povišenog nivoa Firmicutes i sniženog Bacteroides species) i dovodi do sinteze i akumulacije triglicerida i nakupljanja putem osovine „creva-jetra“ toksičnih nivoa slobodnih masnih kiselina, slobodnog holesterola i drugih lipidnih metabolita uzrokujući disfunkciju mitohondrija, stres endoplazmatskog retikuluma i hepatičnu inflamaciju (251).

Postoji mnogo literaturnih podataka koji podržavaju ideju da postoji dvosmerni (uzajamni) odnos između NAFLD i komponenti metaboličkog sindroma sa insulinskom rezistencijom kao centralnim patofiziološkim procesom koji je zajednički za oba stanja. U literaturi još uvek ne postoji jasan konsenzus u vezi odnosa između NAFLD i metaboličkog sindroma tj. postavlja se pitanje šta je starije: ”koka ili jaje” (252).

Postoje dokazi koji govore u prilog da je NAFLD prvi korak u razvoju metaboličkog sindroma, a ne samo njegova hepatična manifestacija. Predpostavlja se da je hepatična lipidna akumulacija uzrok i faktor koji doprinosi razvoju insulinske rezistencije, a da protein kinaza C- ϵ (PKC- ϵ) može imati ulogu u tom odnosu. Eksperimentalna studija Samuela i sar. je istraživala odnos između aktivirane PKC- ϵ , NAFLD i insulinske rezistencije. Na pacovima kojima je hepatična steatoza indukovana hranom bogatom mastima i hepatična insulinska rezistencija dokazana hiperinsulinemijskim-euglikemijskim klampom, PKC- ϵ je bila aktivirana dok ostale izoforme PKC nisu. Istraživači su tada smanjili ekspresiju PKC- ϵ i na taj način zaštitili pacove od steatozom indukovane insulinske rezistencije. Hepatični sadržaj diacilglicerola i triacilglicerola se nije promenio sugerišući da je hepatična lipidna akumulacija preduslov za

insulinsku rezistenciju. Ovaj odnos je takođe istraživan kod ljudi. Sadržaj diacilglicerola dobijen biopsijom jetre je bio najjači prediktor insulinske rezistencije. Ustanovljeno je da je hepatični diacilglicerol visoko povezan sa aktivacijom PKC- ϵ . Stoga povećanje sadržaja hepatičnog diacilglicerola dovodi do aktivacije PKC- ϵ , translokacije PKC- ϵ u ćelijskoj membrani i inhibicije hepatične insulinske signalizacije i stvaranja i održavanja insulinske rezistencije (253).

Pored literaturnih dokaza koji govore u prilog tome da NAFLD može biti predispozicija za razvijanje ili pogoršanje insulinske rezistencije i metaboličkog sindroma, postoje dokazi koji govore u prilog tome da insulinska rezistencija može doprineti progresivnom oštećenju jetre.

Od posebnog interesa je uloga koju ima PAI-1. PAI-1 je član inhibitora serin proteaze koji ima glavnu ulogu u fibrinolitičkom sistemu. U tkivima kod kojih postoji visok stepen fibroze, koncentracije PAI-1 su povišene dovodeći do inhibicije tkivne proteolitičke aktivnosti, smanjenog stepena degradacije kolagena i povišene tkivne fibrogeneze. Povišeni PAI-1 nivoi su udruženi sa gojaznošću, insulinskom rezistencijom, tipom 2 dijabetesa i dislipidemijom. Koncentracije PAI-1 merene u subkutanom masnom tkivu osoba koje imaju metabolički sindrom su više nego u kontrolnoj grupi. Takođe je primećeno da u humanoj hepatocitnoj ćelijskoj liniji TNF- α može indukovati ekspresiju PAI-1 dovodeći do povećanja hepatične fibroze i ateroskleroze kod osoba sa insulinskom rezistencijom. Takođe postoje literaturni dokazi o ulozi PAI-1 u inicijaciji i pogoršavanju hepatične fibroze (254).

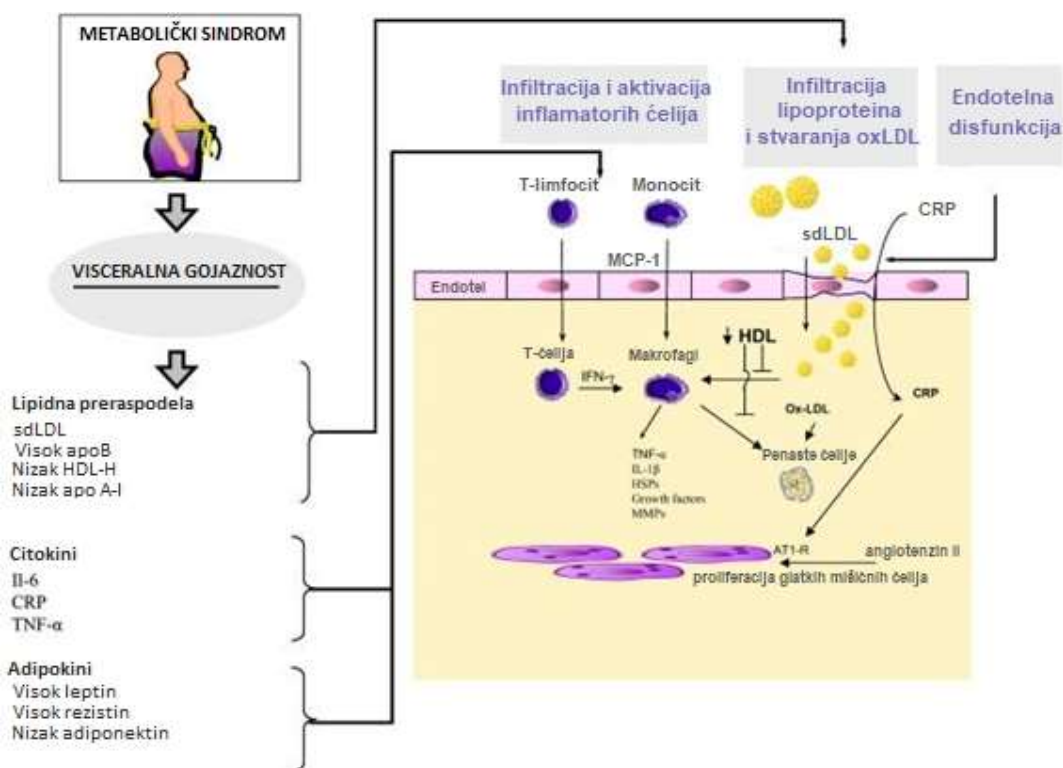
Smatra se da inflamatorni citokini iz masnog tkiva mogu imati ulogu u hepatičnoj fibrozi i inflamaciji. Masno tkivo nije metabolički inertan nego kompleksan organ koji može postati aktivan kod gojaznih insulin rezistentnih osoba dovodeći do proizvodnje različitih proinflamatornih citokina. Ovi citokini su: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, C3-komponenta komplementa, TNF- α , PAI-1, adiponektin, leptin, rezistin, apelin i visfatin. Postoje dokazi da ovi medijatori mogu imati ulogu u progresiji iz NAFL u NASH i mogu stimulisati diferencijaciju stelatnih ćelija u jetri u ćelije koje liče na miofibroblaste. Takođe poremećaj balansa između proinflamatornih i antiinflamatornih medijatora može dovesti do promena u crevnom mikrobiomu i ovo može dovesti do progresije hepatične steatoze u NASH. Neke studije su dokazale i da se kod pacijenata sa većim stepenom insulinske rezistencije može javiti apoptoza hepatocita verifikovana u isečcima jetrenih bioptata kod morbidno gojaznih individua i smatra se da mogu biti posredovani inflamatornim citokinima. Sve ove studije su potvrdile uzročne veze između insulinske rezistencije u visceralnoj gojaznosti usled adipozopatije i hepatičnog oštećenja (255).

Uprkos jasnoj uzorčno posledičnoj (dvosmernoj) vezi između NAFLD i metaboličkog sindroma postoje neke situacije u kojima se čini da ovo nije tačno. U poslednje vreme interes se bazira na patin like fosfolipaza domen 3 (PNPLA3) genu koji kodira protein adiponutrin. Tačna uloga adiponutrina još uvek nije jasna. Prepoznato je međutim da je to membranski protein koji se eskprimira u jetrenom i masnom tkivu i ima lipogenu i lipolitičku aktivnost. Postoje dokazi da je lociran u lipidnoj kapljici u hepatocitu i da može imati ulogu u hidrolizi triglicerida. Slično je otkriveno i kod varijacije gena transmembranske 6 superfamilije 2 (TM6SF2). TM6SF2 ima ključnu ulogu u regulaciji hepatičnog metabolizma masti i sekreciji lipoproteina bogatih trigliceridima. Prisutnost varijacije ovog gena je udružena sa podložnošću da se razvije NAFLD nezavisno od varijacije PLPA3 gena (256,257).

1.7. Aterosklerotska bolest i metabolički sindrom

Ateroskleroza je proces koji dovodi do zadebljanja arterijske intime usled formiranja kašaste kolekcije bogate lipidima, kolagenom i različitim tipovima ćelija u subendotelnom prostoru. Pokretač primarnog patološkog događaja u aterogenezi je još uvek nepoznat, mada se zna da inflamacija ima ulogu u svim njenim stadijumima (endotelna disfunkcija, masna pruga tranzitorna lezija, fibrozni plak i komplikovana lezija). Savremeno poimanje ateroskleroze definiše kao progresivnu, polifaktorsku, difuznu, multiorgansku, hroničnu zapaljensku bolest kod koje postoji poremećaj vaskulnog, imunskog i metaboličkog sistema (258).

Slika 2: Abdominalna gojaznost u metaboličkom sidromu kao proaterogeni faktor preuzeto i modificirano iz Mathieu i sar. (259)



Iako morfološki neprepoznatljiva inicijalna lezija ateroskleroze je endotelna disfunkcija, nakon čega nastaju masne pruge. Njihovo formiranje počinje na morfološki intaktnom endotelu i najverovatnije je rezultat fokalne akumulacije lipoproteina i leukocita. Ulazak lipoproteina u intimu naročito LDL čestica je visok kada je i serumska koncentracija povišena, kod hipertenzije i endotelne disfunkcije. Dolazi do interakcije LDL partikula sa konstituentima arterijskog ekstraćelijskog matriksa. Specifično mesto u sekvenci apolipoproteina B dovodi do interreagovanja sa proteoglikanima. Biglikani su bitni za zadržavanje apo B partikula u arterijskoj intimi. Ekscesivna proizvodnja proteoglikana je značajna u patogenezi ateroskleroze. Promenjena funkcija glatkog mišića kao reakcija na biomehanički stimulus može biti pogodno polje za nastanak ateroskleroze. Različite frakcije drugačije reaguju sa ekstraćelijskim matriksom. U metaboličkom sindromu dolazi do promene LDL fenotipa i dominacije sdLDL. Na retenciju LDL čestica može uticati još enzima. Lipoproteinska lipaza može dovesti do povezivanja LDL za ekstraćelijski matriks neenzimskim mehanizmom. Makrofagi mogu da vrše sintezu lipoproteinske lipaze u arterijskom zidu. Iako

mikrovaskularna endotelna lipaza pomaže u smanjenju ateroskleroze lokalna lipoproteinska lipaza u intimi može čak dovesti do progresije ateroskleroze. Sekretorna fosfolipaza unutar ateroma može da remoduljuje LDL tako da pojačava njihovo vezivanje za proteoglikane. Intima je mesto gde ne deluju antioksidansi. Produženo vreme boravka LDL u intimi pogoduje oksidativnoj modifikaciji LDL partikula (260) i stvaranju hidroperoksida, lizofosfolipida, oksisterola i aldehidnih produkata razgradnje masnih kiselina i fosfolipida, a modifikacija apolipoproteina obuhvata prekide u njihovoj peptidnoj strukturi i cepanje nekih aminokiselinskih rezidua. Oksidovani fosfolipidi proizvode biološki aktivne vrste koje mogu izazvati imuni odgovor okolnog vaskularnog zida i akumulaciju leukocita. OxLDL ispoljavaju izraženu aterogenost zbog vezivanja za brojne receptore čistače na makrofagima. Prisustvo receptora sličnih lecitinu (LOX-1) i vezivanje oxLDL ima kritičnu ulogu razvoju ateroskleroze.

U metaboličkom sindromu pored promena u sastavu LDL čestica dolazi i do promene HDL fenotipa. HDL čestice su heterogena grupa čestica koje imaju različite antiaterogene karakteristike. HDL čestice su odgovorne za efluks holesterola iz makrofaga različitim putevima: ABCA1 posreduje transfer holesterola do nascentnih HDL partikula, ABCG1 transportuje holesterol do zrelih HDL partikula. SR-BI u jetri posreduje u preuzimanju holesterola sa periferije (261). Različite studije su dokazale da HDL ima antioksidativnu i antiinflamatornu ulogu. HDL u metaboličkom sindromu ima izmenjen sastav i jezgro bogato trigliceridima kao i smanjen sadržaj holesterola i estera. Udružen je sa smanjenjem antioksidativne uloge i porastom oksidativnog stresa (262).

U abdominalnom tipu gojaznosti povišene su vrednosti proinflammatoryh citokina naročito CRP-a zbog metaboličke aktivnosti adipocita i proizvodnje IL-6. CRP indukuje ekspresiju VCAM-1 i ICAM-1. U proinflammatorym miljeu se stvara i TNF- α koji je proizvod aktiviranih makrofaga, NK ćelija i glatkomišićnih ćelija krvnih sudova, fibroblasta i adipocita. Ovo pomeranje prema Th1 citokinskom odgovoru je uslovljeno i promenom adipokinskog fenotipa u metaboličkom sindromu (porast leptina i rezistina, a pad adiponektina) (262).

Ako zakažu mehanizmi uklanjanja lipida masna pruga progredira u fibromasnu leziju (aterom) bogata u fibroznim glatkim mišićnim ćelijama i ekstracelularnom matriksu. Za razliku od masnih pruga koje sačinjavaju penaste ćelije prepunjene lipidima, aterom karakteriše postojanje ateromskog jezgra koje čini kaša nastala od raspadnutih penastih ćelija i oslobođenog holesterola i fibrozne kape sačinjene od kolagena glatkih mišićnih ćelija (261). Slabljenje fibrozne kape uslovljava apoptoza makrofaga i glatkih mišićnih ćelija u prisustvu velike količine oxLDL, velika količina izlučenih matriks metaloproteinaza i proteolitičkih enzima iz makrofaga i mastocita koji razgrađuju ekstraćelijski matriks. Visoki

stepen inflamacije narušava integritet endotela i intime, a povećanje prokoagulantnih faktora (fibrinogen, vWF, TF, PAI-1) olakšavaju nastanak tromboze. Rupturom fibroznog omotača, oslobađa se trombogeno lipidno jezgro (263). Pojačana trombocitna aktivacija i agregacija na mestu rupture kao i ekspresija tkivnog faktora, PAI-1, smanjenje trombomodulina, aktivisanog proteina C, antitrombina III, tPA dovodi do hiperkoagubilne sredine. Oštećene endotelne ćelija i trombociti iz cirkulacije dovode do stvaranja tromba i rupture plaka (264)

1.8. Metode za procenu obima ateroskleroze

Iako se većina aterosklerotskih događaja može objasniti i njihov rizik proceniti putem tradicionalnih faktora rizika postoji značajna varijacija u proceni obima aterosklerotskog procesa. Ovakva činjenica govori u prilog razvoja neinvazivnih tehnika za procenu obima ateroskleroze. Najčešće korišćene metode za procenu obima ateroskleroze su: određivanje koronarnog arterijskog kalcijuma, Doppler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova, brahijalni indeks članka (ankle-brachial index - ABI) i ehokardiografija.

1.8.1. Određivanje koronarnog arterijskog kalcijuma

Kalcifikacije su znak kasnog stadijuma subkliničke koronarne ateroskleroze. Postoje dve tehnike kompjuterizovane tomografije (emisiona i multislajsna) koje omogućavaju neinvazivnu procenu sa detekcijom i kvantifikacijom koronarno deponovanog kalcijuma u zidu arterija. Aterosklerotski izmenjene koronarne arterije ne moraju uvek biti kalcifikovane. Obim kalcifikacije korelira sa širinom procesa. Koronarni arterijski kalcijum nije samo indikator nestabilnosti plaka. Različite studije daju približno iste rezultate bodovanja koronarnog kalcijuma. Većina studija odnosi se na emisionu tomografiju, zbog manje radijacione doze i dostupnosti. Agatston skor je skor za kvantifikaciju koronarnog kalcijuma. Povećani rizik predstavlja povišenje ≥ 75 tog percentila za godine starosti, pol i rasu. Vrednost koronarnog kalcijum skora ima veoma visoku negativnu prediktivnu vrednost. U proceni rizika za kardiovaskularne bolesti vrednost koronarnog kalcijuma ima najbolju primenu zajedno sa konvencionalnim faktorima rizika. Glavne mane ove metode su cena pregleda i izlaganje zračenju (265).

1.8.2. Doppler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova

Neke populacione studije su pokazale da postoji korelacija između stepena ateroskleroze određene u jednoj arteriji i u ostalim arterijama. Stoga rana detekcija arterijske

bolesti u naizgled zdravih osoba se vrši na perifernim arterijama naročito karotidama. Procena rizika korišćenjem Doppler ultrasonografskog pregleda karotidnih arterija fokusira se na merenju debljine intima-medija kompleksa (IMT) i određivanju prisustva i karakteristika plaka. Merenjem IMT dobija se egzaktno merenje hipertrofije/hiperplazije glatko mišićnog sloja. Povećanje debljine IMT preko 0,09 cm se smatra patološkim. Debljina IMT kompleksa je nezavistan faktor za predviđanje kardiovaskularnih bolesti ali se smatra da ima bolju moć predviđanja kod žena nego kod muškaraca. Nedostatak metoda standardizacije i definisanja merenja IMT je razlog njegove velike varijabilnosti i niske intraindividualne reproducibilnosti. Skorašnje meta-analize nisu uspele da dokažu da IMT uz Framinghamski bodovni sistem ima bolju mogućnost predviđanja budućih koronarnih događaja čak i u grupi pacijenata sa umerenim rizikom. Stoga se sistemska upotreba IMT dobijenog Doppler ultrasonografskim pregledom karotidnih arterija ne preporučuje. Plak se definiše kao prisustvo fokalnog zadebljanja koje je najmanje 50% veće od okolnog područja sa $IMT \geq 1,5$ mm koji prominira u arteriju. Karakteristike plaka su njihov broj, veličina, nepravilnost i ehodenzitet. U mnogim studijama je naglašeno je da merenje ima veću vrednost u predviđanju kardiovaskularnih događaja ako uključuje i regiju plaka i opis njegovih karakteristika nego samo IMT (265).

1.8.3. Brahijalni indeks članka (ankle-brachial index)

Brahijalni indeks članka (ankle-brachial index- ABI) predstavlja odnos pritiska na nivou arterija u predelu nožnog zgloba (a. tibialis anterior i a. tibialis posterior) i brahijalnog pritiska. Meri se na klasičan način pomoću manžetne koja se naduvava oko potkolenice do suprasistolnih vrednosti, a kao detektor protoka služi Doppler ultrazvučni instrument. ABI je najjednostavniji pokazatelj prisutnosti i stepena obliterirajućih promena arterija donjih ekstremiteta. Ovim merenjem uspešno se ocenjuje stepen progresije bolesti i uspešnost lečenja. ABI je reproducibilan i lako izvodljiv test u detekovanju asimptomatske aterosklerotske bolesti. Poteškoće pri određivanju vrednosti sistolnih pritisaka i njihova interpretacija mogu postojati kod slabog signala, multisegmentne bolesti i nekompresibilnosti arterija kod dijabetičara. ABI 0,9 ukazuje da je prisutna $\geq 50\%$ stenoza između aorte i distalnih arterija nogu. Zbog njene visoke senzitivnosti i specifičnosti smatra se pouzdanim markerom periferne arterijske bolesti (265).

1.9. Metode za procenu obima masne bolesti jeste

Za procenu prisutva i stepena NAFLD koriste se različite metode od seroloških markera, vizualizacionih metoda do biopsije jetre kao zlatnog standarda.

1.9.1. Markeri disfunkcije hepatocita

Alanin aminotransferaza (ALT) i aspartat aminotransferaza (AST) su biohemijski markeri hepatocelularnog oštećenja. Tokom hepatocelularnog oštećenja ovi enzimi izlaze u sistemsku cirkulaciju. ALT se nalazi u citosolu a AST i u citosolu i u mitohondrijama hepatocita. AST se može naći i u drugim tkivima, kao što su skeletni i kardijačni mišić i eritrociti. Pacijenti sa NAFLD imaju normalne ili blago povećane AST i ALT nivoe. Odnos AST/ALT se može koristiti prilikom interpretacije uzroka elevacije aminotransferaza. Kod NAFLD AST/ALT je manji od 1. Kod skoro 80% pacijenata sa hepatosteatozom nalazi jetrenih biomarkera su normalni. Povećanje transaminaza je retko i najčešće je to povećanje do 4 puta. Interesantno je da stepen povećanja ne korelira sa stepenom steatoze ili fibroze jetre.

Gama glutamil transferaza (GGT) je visoko senzitivna, ali nespecifičan marker oštećenja jetre. GGT se nalazi u epitelnim ćelijama membrana različitih tkiva. U jetri prvenstveno u epitelnim ćelijama bilijarnog tkiva. Povišeni GGT i prisustvo AST/ALT > 2 govori u prilog alkoholne bolesti jetre. Simultani porast alkalne fosfataze (ALP) i GGT potvrđuje povišenje jetrenog ALP. ALP je nespecifičan marker oštećenja jetre koji se takođe nalazi u kostima, intestinumu i placenti. ALP je koristan za detekciju intrahepatične i ekstrahepatične bilijarne opstrukcije ali manje senzitivna od GGT. GGT i ALP takođe mogu biti povišeni u NAFLD. Nijedan od ovih markera nije specifičan za postavljanje dijagnoze NAFLD (248).

1.9.2. Ultrasonografija

Ultrasonografska imidžing dijagnostika predstavlja najčešće korišćenu metodu u postavljanju dijagnoze hepaticne steatoze. Ultrazvučna dijagnostika je najčešća tehnika korišćena u kliničkoj praksi za detekciju masne infiltracije jetre zbog svoje jednostavnosti, niske cene, neinvazivnosti i dostupnosti. Ipak, egzaktna procena stepena steatoze nije moguća sa trenutnom tehnologijom. Glavni princip koji je u osnovi ultrasonografske detekcije steatoze je u stepenu ehogenosti koja direktno zavisi od sastava tkiva. Jetra sa hepaticnom steatozom je hiperehogena („svetla jetra“) u poređenju sa ehogenošću ostalih organa kao što su bubrezi ili slezina. „Kvantifikacija“ zavisi od iskustva operatera. Ultrasonografska evaluacija steatoze se ne poklapa u potpunosti sa zlatnim standardnom histološkim nalazom biopsata jetre. Zbog

pokušaja da kvantifikuje stepen steatoze nekoliko bodovnih sistema je predloženo ali konsenzus još uvek nije postignut. Jedan od takvih semi-kvantitativnih bodovnih sistema je i Hamaguchi bodovni sistem.

Ultrazvučna dijagnostika hepatične steatoze ima svoje prednosti i nedostatke. U nedostatke spadaju subjektivnost, operatera, nepreciznost kvantifikacije procesa, slaba mogućnost praćenja razvoja procesa kao i slabo slaganje između operatera, kao i tehnički problemi koji se javljaju kod morbidno gojaznih pacijenata. Senzitivnost u poređenju sa biopsijom jetre je između 60 i 94%, a specifičnost između 84 i 95% (271).

1.9.3. Kompjuterizovana tomografija

Kompjuterizovana tomografija je takođe korišćena metoda za evaluaciju NAFLD merenjem tkivne gustine u funkciji radiografske atenuacije. Depoi masnog tkiva dovode do smanjenja tkivne atenuacije, pa su masni depoi manje gusti i bivaju tamniji nego tkivo koje nema masti. Atenuacija i gustina na CT snimcima se može objektivno izmeriti Hounsfieldovom skalom. CT slike su korišćene za kvalitativnu evaluaciju i slezina je korišćena kao referentni organ za poređenje. Odnos atenuacije slezina/jetra može se koristiti za evaluaciju steatoze. Studije koje su poredile CT sa biopsijom jetre su dokazale da vrednost atenuacije i odnos atenuacije slezina/jetra na CT nalazu koreliraju sa histološkim nalazom. Glavni nedostaci CT-a su izlaganje pacijenata jonizujućem zračenju, što čini i praćenje progresije NAFLD nepraktičnim (248).

1.9.4. Magnetno rezonantna sprektroskopija

Za razliku od magnetne rezonance koja omogućava identifikaciju steatoze unutar celog tkiva magnetno rezonantna sprektroskopija (MRS) olakšava pregled rezonantnih frekvencija svih vodonikovih jezgra unutar regije tkiva koja je od interesa. Dobijene vrednosti intrahepatične masti su vrlo reproducibilne i koreliraju dobro sa histološkim nalazima biopsije jetre. Zbog nedostupnosti i visoke cene pregleda koristi se samo u istraživačke svrhe (248).

2. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Kod bolesnika sa metaboličkim sindromom postoji pozitivna korelacija između nivoa markera disfunkcije hepatocita (AST, ALT i GGT) i debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije
2. Kod bolesnika sa metaboličkim sindromom postoji pozitivna korelacija između serumskih nivoa inflamatornih biomarkera (CRP, fibrinogen i TNF- α) i debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije
3. Kod bolesnika sa metaboličkim sindromom postoji pozitivna korelacija između serumskih nivoa biomarkera endotelne disfunkcije (ADMA i homocistein) i debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije
4. Kod bolesnika sa metaboličkim sindromom postoji pozitivna korelacija između serumskog nivoa leptina i negativna između serumskog nivoa adiponektina i debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije

Ciljevi istraživanja su da se:

1. uporede serumski nivoi markera disfunkcije hepatocita (AST, ALT, GGT) i debljina intima-medija kompleksa karotidne arterije
2. uporede serumski nivoi inflamatornih biomarkera (broj leukocita, elektroforeza serumskih proteina, CRP, fibrinogen, TNF- α) i debljinu intima-medija kompleksa karotidne arterije
3. ispituju odnosi između serumskih nivoa biomarkera endotelne disfunkcije (ADMA i homocistein) i debljina intima-medija kompleksa karotidne arterije
4. ispituju odnosi serumskih nivoa adipokina (leptin i adiponektin) i debljina intima-medija kompleksa karotidne arterije

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Ispitanici

U ispitivanje je uključeno 58 ispitanika oba pola, starosti od 18 do 55 godina sa karakteristikama metaboličkog sindroma. Odabir ispitanika je vršen u Odeljenju za pravilnu ishranu i zdravstvenu bezbednost hrane, Instituta za javno zdravlje Vojvodine u periodu avgust 2015 do avgust 2017. Kontrolnu grupu je činilo 30 klinički i biohemijski zdravih ispitanika, nepušača koji su prema polnoj i dobnoj strukturi odgovarali ispitivanim grupama bolesnika.

3.1.1. Konstrukcija i način izbora ispitanika

Uslovi za uključivanje u studiju

- da su ispitanici oba pola, životne dobi od 18 – 55 godine, ispitanice žene u generativnom periodu
- da imaju prisutan metabolički sindrom prema NCEP:ATP III. Za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma prema ovim kriterijumima potrebno je da ispitanik ima prisutna 3 kriterijuma od sledećih: abdominalna gojaznost (obim struka kod ispitanika muškaraca ≥ 102 cm, kod žena ≥ 88 cm), hipertrigliceridemija $\geq 1,70$ mmol/l, nizak nivo HDL-holesterola $\leq 1,0$ mmol/l kod muškaraca i $\leq 1,3$ mmol/l kod žena, hipertenzija sa krvnim pritiskom preko 135/85 mmHg (ili uzimanje antihipertenzivne terapije) i povišena glikemija našte $\geq 6,1$ mmol/l
- da ne konzumiraju više od 20g/dan alkohola
- da nemaju dijagnostikovan virusni hepatitis B ili C
- da nemaju pozitivan Hbs antigen, anti-Hbs antitela i anti-HCV antitela
- da ispitanici u poslednja tri meseca nemaju promena u dosadašnjem nivou fizičke aktivnosti, telesnoj masi i ishrani,
- da su nepušači
- da ne postoje verifikovana oboljenja kardiovaskularnog sistema, bubrega, centralnog nervnog sistema, infektivna, maligna i autoimuna oboljenja kao ni druga oboljenja jetre i žučnih puteva
- da nisu pod medikamentnom terapijom koja može uticati na nivo serumskih biomarkera endotelne disfunkcije, lipidni i lipoproteinski status, glikoregulaciju, kao ni na menstruacioni ciklus (hipolipidemijski, oralna kontraceptivna sredstva, hormonska supstitucionarna terapija, određeni antihipertenzivi, kortikosteroidi, imunosupresivi, retinoidi, antiinflamatorni lekovi, antioksidansi i drugi medikamenti)

- da postoji tehnička mogućnost izvođenja ultrazvučnog pregleda (saradnja ispitanika).

Uslovi za kontrolnu grupu

- da su metabolički zdravi ispitanici oba pola, životne dobi od 18 – 55 godine, ispitanice žene u generativnom periodu
- da su nepušači
- da ne konzumiraju više od 20g/dan alkohola
- da nemaju dijagnostikovan virusni hepatitis B ili C
- da nemaju pozitivan Hbs antigen, anti-Hbs antitela i anti-HCV antitela
- da ispitanici u poslednja tri meseca nemaju promena u dosadašnjem nivou fizičke aktivnosti, telesnoj masi i ishrani,
- da nisu pod medikamentnom terapijom koja može uticati na nivo serumskih biomarkera endotelne disfunkcije, lipidni i lipoproteinski status, glikoregulaciju, kao ni na menstruacioni ciklus (hipolipidemijski, oralna kontraceptivna sredstva, hormonska supstitucionarna terapija, određeni antihipertenzivi, kortikosteroidi, imunosupresivi, retinoidi, antiinflamatorni lekovi, antioksidansi i drugi medikamenti)

3.1.2. Protokol ispitivanja

Svi ispitanici koji su odgovarali uslovima za uključivanje u ispitivanje su anketirani o životnim navikama (fizička aktivnost, pušenje, ishrana i uzimanje suplemenata) a takođe su uzeti podaci o porodičnoj i ličnoj anamezi. Detaljna anketa o eventualnom prosečnom dnevnom konzumiranju alkohola uzeta je kroz anketu o sedmodnevnoj konzumaciji alkohola. Za izračunavanje prosečne dnevne doze uzimanja alkohola i isključivanje ispitanika koji konzumiraju više od 20 g/dan etanola korišćena je formula: $D (g) = F \times Vol (ml) \times 0,8 \text{ g/ml}$, gde su: D - grami etanola u piću; F- frakcija etanola (% v/v); Vol – zapremina popijenog pića; 0,8 g/ml – specifična težina etanola.

Svatom ispitaniku je pre samog uključivanja u ispitivanje detaljno objašnjen cilj istraživanja, proces dijagnostičke obrade i njegovo učešće u njemu. Saglasnost za učešće u studiji ispitanici su overili svojim potpisom nakon pročitano g teksta infomisanog pristanka.

Nakon adekvatne pripreme u vidu dvanaestočasovnog prekonoćnog gladovanja u jutarnjim časovima od 7-8 h svim ispitanicima je izvršeno uzimanje uzoraka venske krvi iz kubitalne vene u Centru za laboratorijsku medicinu Kliničkog centra Vojvodine. Krv je uzorkovana našte, nakon polučasovnog mirovanja, u sedećem položaju sa posebnom pažnjom

da se izazove što kraća venska staza. Uzorkovanje je vršeno u pet plastičnih vakuum epruveta. Jedan uzorak je sakupljan u vakuum epruvetu sa antikoagulansom K2EDTA, drugi u epruvetu sa 0,11 M tri-Na-citratom kao antikoagulansom, treći u vakuum epruvetu sa Li-heparinom, četvrti i peti uzorak krvi uzorkovan je u vakuum epruvetu bez antikoagulansa sa serum separator gelom i aktivatorom koagulacije. Serum je izdvajan iz epruvete bez antikoagulansa centrifugiranjem na 1000 g (2500 rpm) u trajanju od 15 minuta na sobnoj temperaturi. Alikvoti seruma (za analite leptin, adiponektin, TNF- α i ADMA) u količini od najmanje 500 mikrolitara zapremine, zamrzavani su odmah nakon izdvajanja i čuvani na -80°C . Svi ostali uzorci su analizirani u roku od 3h od momenta uzorkovanja. Sve laboratorijske analize su izvedene u Centru za laboratorijsku medicinu, Kliničkog centra Vojvodine.

Nakon venepunkcije ispitanici su sprovedeni u Centar za radiologiju, Kliničkog centra Vojvodine gde im je u toku istog dana urađen Doppler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova i ultrasonografski pregled gornjeg abdomena.

3.2. Metode ispitivanja

3.2.1. Antropometrijski parametri

Svakom od ispitanika je izmerena telesna masa, telesna visina, obim struka i obim kuka. Za merenje telesne visine (TV) korišćen je antropometar po Martinu, s preciznošću od 0,1 cm. Merenje je vršeno bez obuće, u stojećem stavu, sastavljenih peta i odmaknutih prstiju, s položajem glave tako da je frankfurtska ravan (linija koja povezuje tragus ušne školjke i spoljašnji ušni ugao) horizontalna. Dobijene vrednosti su izražene u centrimetrima (cm). Za merenje telesne mase (TM) korišćena je medicinska decimalna vaga sa pokretnim tegovima, sa preciznošću od 0,1 kg a vrednosti su izražene u kilogramima (kg). Obim struka je meren pomoću centimetarske trake sa preciznošću od 0,1 cm postavljenjem ispitanika u stojeći stav, a merenje je vršeno na sredini između najniže tačke luka rebra i najviše tačke prednje bedrene kosti a vrednosti su izražene u centimetrima (cm). Obim kuka je meren na mestu najvećeg obima kukova a vrednosti su izražene u centimetrima (cm).

Iz ovih antropometrijskih parametara izračunavani su sledeći antropometrijski indeksi: BMI i odnos obim struk/kuk - *waist-to-hip ratio* (OS/OK). BMI je odnos telesne mase i kvadrata telesne visine izražene u metrima. Za procenu uhranjenosti korišćeni su kriterijumi SZO, odnosno nacionalnog vodiča za gojaznost (266).

Abdominalna gojaznost je definisana prema NCEP:ATP III preporukama (OS \geq 102 cm muškarci, OS \geq 88 cm žene).

Za merenje krvnog pritiska korišćen je sfingomanometar po Riva-Rocci-ju. Merenja su vršena u sedećem stavu, posle 10-15 minuta mirovanja. Dobijene vrednosti izražene su u milimetrima živinog stuba (mmHg).

3.2.2. Laboratorijske analize

U cilju procene parametara disfunkcije hepatocita urađene su sledeće laboratorijske analize: 1. serumske koncentracije AST, ALT i GGT određivane su kinetičkim UV testom na automatskom biohemijском analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Izračunat je odnos AST/ALT. Referentne vrednosti za AST, ALT i GGT iznose 5-37 U/l, 5-40 U/l i 1-55 U/l; 2. serumska koncentracija alkalne-fosfataze (ALP) je određivana kinetičkim metodom sa par-nitrofenil fosfatom na automatskom biohemijском analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentne vrednosti za ALP iznose 30-115 U/L. 3. serumske koncentracije ukupnog i direktnog bilirubina su određivane diazo reakcijom na automatskom biohemijском analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentne vrednosti za ukupni bilirubin su bile do 17 $\mu\text{mol/l}$ a za direktni do 3,42 $\mu\text{mol/l}$. 4. serumske koncentracije feritina su određivane imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom biohemijском analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentne vrednosti su za muškarce 20-300 $\mu\text{g/l}$ a za žene 10-120 $\mu\text{g/l}$

Identifikacija prethodnog prisustva najčešćih virusnih izazivača oštećenja jetre izvršeno je određivanjem HBs antigena, anti-HBs antitela i anti-HCV antitela enzyme-linked fluorescence assay (EFLA) metodom na aparatu mini Vidas reagensima proizvođača bioMerieux, Marcy-l'Etoile, France.

U cilju procene parametara inflamacije urađene su sledeće laboratorijske analize: 1. iz kompletne krvne slike (KKS) određivane na hematološkom automatskom analizatoru CELL-DYN Sapphire, Abbott Laboratories, USA, metodom protočne citometrije, uz korišćenje komercijalnih setova iste firme, korišćeni su parametri ukupan broj leukocita, neutrofila, limfocita i izračunat odnos neutrofililimfociti; 2. koncentracija hsCRP određivana je iz uzorka seruma lateks pojačanom imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom biohemijском analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentni interval je 0-5 mg/l; 3. određivanje koncentracije fibrinogena u citratnoj plazmi je vršeno koagulacionom metodom po Klausu

(Claus), na koagulometru SIEMENS BCxp, Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Nemačka uz korišćenje Multifibren*U komercijalnog seta istog proizvođača, u referentnom opsegu 1,86-4,86 g/l. 4. elektroforeza serumskih proteina na gel podlozi na poluautomatskom analizatoru Hydrasis, Sebia, River Court, UK. Zbog potreba elektroforeze prethodno je odrađena koncentracija ukupnih proteina biuretskom metodom na biohemijskom analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentni interval 60-80 g/l. Referentne vrednosti frakcija serumskih proteina su: albumini 36-56 g/l; α_1 -globulinu 1,8-4,8 g/l; α_2 -globulini 3,0-6,4 g/l; beta-globulini 3,6-9,6 g/l i gama-globulini 6,6-14,4 g/l. 5. serumska koncentracija TNF- α je određivana ELISA tehnikom, proizvođača R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA. Princip testa je „sendvič“ ELISA imunoesej tehnika. Čašice mikrotitarskih pločica su obložene čvrsto vezanim monoklonalnim antitelima specifičnim za TNF- α . Nakon što se uzorci i standardi dodaju u ove čašice, prisutan TNF- α se vezuje za antitela. Nakon toga se ispiranjem otklanjaju sva nevezana antitela a dodavanjem konjugata dodaju se druga monoklonalna antitela specifična za drugu antigenu determinantu TNF- α vezanu za enzim peroksidazu i na taj način se fomira „sendvič“ preko dve različite antigene determinante vezane za dve vrste monoklonalnih antitela. Nakon ovog sledi ispiranje i dodaje se novi reagens koji sadrži stabilizovani hromogen (tetrametilbenzidin) kao supstrat za pomenutu peroksidazu u prisustvu vodonik peroksida. Formira se plava boja koja se potom stopira sa jakim kiselinom a intenzitet stvorene žute boje koji se očitava na 450 nm je direktno proporcionalan koncentraciji TNF- α u uzorku.

U cilju procene metabolizma lipida parametri lipidskog statusa određivani su na automatskom analizatoru ARCHITECT ci4100, Abbott Laboratories, USA, uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Holesterol i trigliceridi su određivani standardnom enzimskom metodom. HDL-holesterol je određivan direktnom metodom takođe uz korišćenje reagenasa firme Abbott (SAD). Vrednosti LDL-holesterola (Friedewald i saradnici) su dobijene računskim putem (267). Kod ispitanika kod kojih su vrednosti triglicerida bile iznad 4,5 mmol/l LDL-holesterol je određivan direktnom metodom takođe uz korišćenje reagenasa firme Abbott (SAD). Referentne vrednosti za lipidski status su vrednosti date prema preporukama nacionalnog Vodiča za dijagnostifikovanje i lečenje lipidskih poremećaja (268).

Tabela broj 3. Referentne vrednosti za parametre lipidskog statusa

Parametri	Poželjne	Granično rizične	Visoko rizične
Ukupni holesterol (mmol/l)	<5,20	5,20-6,19	≥6,20
Trigliceridi (mmol/l)	<1,70	1,70-2,29	≥2,30
HDL-holesterol (mmol/l)	≥1,60	1,00-1,60	≤1,00
LDL-holesterol (mmol/l)	<3,40	3,40-4,10	≥4,10

Apolipoprotein A-I (apo A-I) i B (apo B) su određivani imunoturbidimetrijskom metodom uz korišćenje reagenasa firme Abbott (SAD) na aparatu Architect ci4100. Referentne vrednosti iznose za žene: 1,20-2,23 g/L (apo A-I) i 0,50-1,00 g/L (apo B), odnosno za muškarce: 1,20-1,86 g/L (apo A-I) i 0,50-1,00 g/L (apo B). Izračunat je i odnos ApoB/A-I.

Lp(a) lipoprotein je takođe određivan imunoturbidimetrijskom metodom uz korišćenje reagenasa firme Quantia (SAD) na aparatu Architect ci4100. Referentne vrednosti: do 0,30 g/l.

U cilju procene metabolizma ugljenih hidrata koncentracija glukoze u serumu je određivana Glucose Hexokinase II metodom (standarni enzimski UV test) na biohemijskom analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentni interval: 3,9-6,1 mmol/l. Koncentracija insulina određivana je imunometrijski elektrohemioluminescentnom metodom (Electrochemiluminescent Imunnoassay - ECLIA) na automatizovanom analizatoru Elecsys 2010 uz korišćenje komercijalnih setova COBAS, Roche Diagnostics, USA. Referentni interval: 3,0-25,0 mIU/l. Na osnovu izmerenih koncentracija glukoze i insulina izračunat je indeks za procenu insulinske rezistencije pomoću sledećeg matematičkog modela - model homestaze: $HOMA-IR = \frac{glukoza \text{ (mmol/l)} \times insulin \text{ (mIU/l)}}{22,5}$. Za procenu sekretorne sposobnosti izračunava se sekretorni indeks oslobađanja insulina - $HOMA-\%B = \frac{(20 \times insulinemija \text{ (mIU/l)})}{(glikemija \text{ (mmol/l)} - 3,5)} \% (269)$.

U cilju laboratorijske dijagnostike parametara endotelne disfunkcije određivani su sledeći parametri: 1. koncentracija ukupnog homocisteina određivana je jednostepenim imunotestom za kvantitativno određivanje homocisteina, koristeći CMIA metodu sa fleksibilnim protokolima za testove (Chemiflex), na automatizovanom analizatoru ARCHITECT ci4100, Abbott Laboratories, USA, komercijalnim testovima istog proizvođača. Referentni interval je 5,0–12,0 $\mu\text{mol/l}$; 2. ADMA je određivana kompetitivnom ELISA metodom proizvođača ImmunDiagnostik, Bensheim, Germany. Esej se bazira na metodi kompetitivne ELISA. Priprema uzoraka uključuje ekstrakciju ADMA. Nakon toga tretirani

uzorci i ADMA-antiserum se inkubiraju u mikrotitarskim čašicama obloženim ADMA-derivatom sa obeleživačem. Tokom inkubacionog perioda ADMA iz uzorka se takmiči sa ADMA-derivatom sa obeleživačem sa čašica za vezivanje sa ADMA-antiserumom. ADMA iz seruma pomera antitela iz veze sa ADMA-derivatom sa obeleživačem. Stoga je koncentracija antitela vezanih sa obeleživačem inverzno proporcionalna koncentraciji ADMA u uzorku. Tokom druge inkubacije peroksidazom - konjugovana antitela se dodaju u svaku mikrotitarsku čašicu da bi se detektovala anti-ADMA antitela. Nakon ispiranja nevezanih komponenti tetrametilbenzidin se dodaje kao supstrat za peroksidazu. Enzimska reakcija se stopira dodavanjem kiseline kao stop solucije. Boja se menja iz plave u žutu i apsorbancija se meri fotometrijski na 450 nm. Intenzitet žute boje je inverzno proporcionalan koncentraciji ADMA u uzorku.

U cilju laboratorijske dijagnostike adipokina određene su: 1. koncentracija leptina u serumu ELISA metodom proizvođača R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA. Mikrotitarske čašice su obložene specifičnim visoko afinitetnim leptinskim antitelima. Nakon pipetiranja uzoraka u čašice prisutan leptin se vezuje za imobilizovana antitela na zidovima čašica. Nakon ispiranja nevezanih supstanci dodaje se konjugat koji sadrži druga monoklonalna antitela specifična za drugu antigenu determinantu leptina vezana za enzim peroksidazu. Leptin koji je prisutan vezuje se za ova antitela i formira se "sendvič" u kojem je leptin preko dve različite antigene determinante vezan za dve vrste monoklonalnih antitela. Nakon ovog sledi ispiranje i dodaje se novi reagens koji sadrži stabilizovani hromogen (tetrametilbenzidin) kao supstrat za pomenutu peroksidazu u prisustvu vodonik peroksida. Formira se plava boja koja se potom stopira sa jakim kiselinom a intenzitet stvorene žute boje je direktno proporcionalan koncentraciji leptina u uzorku izmeren na 450 nm. 2. koncentracija adiponektina u serumu ELISA metodom proizvođača R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA. Mikrotitarske čašice su obložene specifičnim visoko afinitetnim adiponektinskim antitelima. Nakon pipetiranja uzoraka u čašice prisutan adiponektin se vezuje za imobilizovana antitela na zidovima čašica. Nakon ispiranja nevezanih supstanci dodaje se konjugat koji sadrži druga monoklonalna antitela specifična za drugu antigenu determinantu adiponektina vezanu za enzim peroksidazu. Adiponektin koji je prisutan se vezuje se za ova antitela i formira se "sendvič" u kojem je adiponektin preko dve različite antigene determinante vezan za dve vrste monoklonalnih antitela. Nakon ovog sledi ispiranje i dodaje se novi reagens koji sadrži stabilizovani hromogen (tetrametilbenzidin) kao supstrat za pomenutu peroksidazu u prisustvu vodonik peroksida. Formira se plava boja koja se potom stopira sa jakim kiselinom a intenzitet stvorene žute boje

je direktno proporcionalan koncentraciji adiponektina u uzorku izmeren na 450 nm. Izračunavan je i odnos leptin/adiponektin.

U cilju procene bubrežne funkcije serumske koncentracije uree, kreatinina i mokraćne kiseline određivane su kinetičkim UV testom, na automatskom biohemijskom analizatoru ADVIA® 1800 Chemistry, Siemens Healthcare Diagnostics, Nemačka komercijalnim setovima istog proizvođača. Referentne vrednosti za ureu su 2,5-7,5 mmol/l, za kreatinin muškarci 30-127 $\mu\text{mol/l}$, žene 30-98 $\mu\text{mol/l}$; za mokraćnu kiselinu za muškarce 208-428 $\mu\text{mol/l}$ a za žene 154-357 $\mu\text{mol/l}$.

3.2.3. Doppler ultrasonografski pregled karotidnih krvnih sudova

U Centru za radiologiju Kliničkog centra Vojvodine ispitanicima kao i kontrolnoj grupi takođe je urađen i ultrazvučni pregled dupleks skeniranje karotidnih arterija i IMT prema preporukama Manhajmskog konsenzusa iz 2004, revidiranog 2011. godine (270). Pregled karotidnih arterija je rađen pomoću kolor dupleks ultrazvučnog aparata, GE healthcare LOGIQ7, GE Yokogawa Medical Systems Ltd, Tokyo sa linearnom sondom jačine 11 HZ.

Pomoću softverskog programa, uzdužnim snimanjem izmerena je debljina intimo-medijalnog kompleksa zajedničke i unutrašnje karotidne arterije, 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 IMT karotidnih arterija urađena 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 IMT. Ultrasonografska merenja su izvedena od strane dva lekara, koji nisu bili upoznati sa kliničkim podacima ispitanika.

Reproducibilnost merenja IMT je posmatrana u podgrupi od 20 ispitanika, kojima su merenja izvedena unutar sat vremena od strane dva lekara. Koeficijent varijacije (intraobserver i interobserver) za merenja je iznosio 3,5 % i 3,8 %.

3.2.4. Ultrasonografski pregled jetre

U Centru za radiologiju Kliničkog centra Vojvodine ispitanicima kao i kontrolnoj grupi je urađen ultrazvučni pregled jetre. U proceni steatoze jetre korišćena je standardna metoda upoređivanja parenhima bubrega i jetre prema kriterijumima NHANES III – Procedura za ultrazvučnu dijagnostiku hepatične steatoze - standardizovani algoritam za određivanje

sveobuhvatnog primarnog nalaza u ultrazvučnoj evaluaciji (Hepatic Steatosis Ultrasound Images Assessment Procedures Manual – Standardized Algorithm for Determining of the Overall Primary Finding from the Ultrasound Evaluation) (271). Ultrazvučni pregled abdomena i jetre je urađen korišćenjem aparata GE healthcare LOGIQ7, GE Yokogawa Medical Systems Ltd, Tokyo sa konveksnom sondom jačine 4 HZ.

Ultrasonografska merenja su izvedena od strane dva lekara, koji nisu bili upoznati sa kliničkim podacima ispitanika. Reproducibilnost merenja je posmatrana u podgrupi od 20 ispitanika, kojima su merenja izvedena unutar sat vremena od strane dva lekara. Koeficijent varijacije (intraobserver i interobserver) za merenja je iznosio 5,5 % i 4,8 %.

Tabela broj 4. Standardizovani algoritam za određivanje sveobuhvatnog primarnog nalaza hepatične steatoze ultrazvučnom evaluacijom

Parametri	Numerički skoring i osnovni kriterijumi				
A. Prisustvo kontrasta jetra /bubreg	0 – bez kontrasta	1– prisutan kontrast			Nepoznato
B. Svetloća parenhima	0 - Normalan	1 - blago povećana svetloća	2 –umereno povećana svetloća	3 - jako povećana svetloća	Nepoznato
C. Prisustvo atenuacije dubokih slojeva	0 - dijafragma svetla i jasna		1 - dijafragma zamućena ili se ne vidi		Nepoznato
D. Svetloća zidova krvnih sudova kroz parenhim	0 - krvni sudovi prisutni		1 - krvni sudovi odsutni		Nepoznato
E. Definicija zidova žučne kese	0 - jasni zidovi	1 - zamućeni zidovi	2 - izbrisani zidovi		Nepoznato

Na osnovu numeričkog skoring sistema ispitanicima je određivano da li imaju hepatičnu steatozu i oni sa prisutnom hepatičnom steatozom su grupisani u tri grupe (stepen 1, stepen 2 i stepen 3 hepatične steatoze).

Tabela broj 5. Interpretacija nalaza dobijenog ultrazvučnim pregledom jetre korišćenjem standardizovanog algoritma za određivanje sveobuhvatnog primarnog nalaza hepatične steatoze.

A. Kontrast jetra/bubreg	B. Svetloća parenhima	C,D,E	Konačan nalaz
0	0	C+D+E=0	Normalan
0	0	C+D+E=1	Normalan
0	0	C+D+E \geq 2	Stepen 1 steatoze
0	0	ŽK nedostaje, skor 0	Normalan
0	0	ŽK nedostaje, skor 1	Normalan
0	0	ŽK nedostaje, skor 2	Stepen 1 steatoze
0	0	ADS nedostaje, skor 0	Normalan
0	0	ADS nedostaje, skor 1	Normalan
0	0	ADS nedostaje, skor \geq 2	Stepen 1 steatoze
0	0	ŽK, ADS nedostaje, prisutni KS	Normalan
0	0	ŽK, ADS, KS nedostaju	Stepen 1 steatoze
1	1	C+D+E=0	Normalan
1	1	C+D+E=1	Stepen 1 steatoze
1	1	C+D+E \geq 2	Stepen 2 steatoze
1	1	ŽK nedostaje, skor 0	Normalan
1	1	ŽK skor 1	Stepen 1 steatoze
1	1	ŽK skor 2	Stepen 2 steatoze
1	1	ADS nedostaje, skor 0	Stepen 1 steatoze
1	1	ADS nedostaje, skor 1	Stepen 1 steatoze
1	1	ADS nedostaje, skor \geq 2	Stepen 2 steatoze
1	1	ŽK, ADS nedostaje, prisutni KS	Stepen 1 steatoze
1	1	ŽK, ADS, KS nedostaju	Stepen 2 steatoze
1	2	C+D+E=0	Stepen 1 steatoze
1	2	C+D+E=1	Stepen 2 steatoze
1	2	C+D+E \geq 2	Stepen 3 steatoze
1	2	ŽK nedostaje, skor 0	Stepen 1 steatoze
1	2	ŽK skor 1	Stepen 2 steatoze
1	2	ŽK nedostaje, skor 2	Stepen 3 steatoze
1	2	ADS nedostaje, skor 0	Stepen 2 steatoze
1	2	ADS nedostaje, skor 1	Stepen 2 steatoze
1	2	ADS nedostaje, skor \geq 2	Stepen 3 steatoze
1	2	ŽK, ADS nedostaju, prisutni KS	Stepen 2 steatoze
1	2	ŽK, ADS, KS nedostaju	Stepen 3 steatoze

1	3	C+D+E=0	Stepen 2 steatoze
1	3	C+D+E=1	Stepen 3 steatoze
1	3	C+D+E \geq 2	Stepen 3 steatoze
1	3	ŽK nedostaje, skor 0	Stepen 2 steatoze
1	3	ŽK nedostaje, skor 1	Stepen 2 steatoze
1	3	ŽK nedostaje, skor 2	Stepen 3 steatoze
1	3	ADS nedostaje, skor 0	Stepen 2 steatoze
1	3	ADS nedostaje, skor 1	Stepen 2 steatoze
1	3	ADS nedostaje, skor \geq 2	Stepen 3 steatoze
1	3	ŽK, ADS nedostaje, prisutni KS	Stepen 2 steatoze
1	3	ŽK, ADS, KS nedostaju	Stepen 3 steatoze

Legenda: ŽK- žučna kesica, ADS - atenuacija dubokih slojeva, KS - krvni sudovi, C - prisustvo atenuacije dubokih slojeva, D - svetloća zidova krvnih sudova kroz parenhim, E - definicija zidova žučne kese

3.3. Osnovne statističke metode obrade podataka

Prikupljeni podaci su prikazani na standardni deskriptivni način: apsolutni i relativni brojevi za kategorijalne varijable, srednje vrednosti sa standardnom devijacijom za numeričke varijable sa normalnom raspodelom, odnosno sa medijanom. Kolmogorov-Smirnov test upotrebljen je kako bi se utvrdilo da li raspodele varijabli prate normalnu raspodelu.

Poredjenje razlika između nezavisnih uzoraka je vršeno odgovarajućim parametarskim i neparametarskim testovima u zavisnosti raspodele zavisne varijable. Od parametarskih testova korišćen je Studentov t test dok je od neparametarskih korišćen Mann-Whitney U test. Za ispitivanje razlika između zavisnih uzoraka korišćen je neparametarski Kruskal-Wallis test. Za ispitivanje povezanosti dve kategorijalne varijable korišćen je χ^2 – test nezavisnosti.

Korelacionom analizom (Pearson-ov koeficijent linearne korelacije odnosno Spearman-ov koeficijent korelacije ranga) su ispitane zavisnosti prikupljenih parametara. U cilju identifikacije parametara koji utiču na ishod binarne varijable (varijable koje imaju samo dva ishoda) urađena je binarna logistička regresiona analiza kao i neuronske mreže. Rezultati logističke regresije predstavljeni su ocenjenim koeficijentima (B), standardnim greškama ocena (S.E.), značajnošću (Sig.) i odnosom šansi (Exp(B)). Rezultati neuronskih mreža vizuelno su predstavljeni pomoću ROC krive i analizom normalizovane važnosti (značaja) svake od prediktorskih varijabli. Važnost prediktivne varijable je mera koliko će se predviđene vrednosti modela neuronske vrednosti menjati u zavisnosti od promene u vrednostima neuronske mreže. Normalizovana vrednost se dobija kada se važnost svake varijable podeli sa najvećom važnošću i izrazi u procentima.

Svi testovi sprovedeni su na nivou statističke značajnosti 0,05.

Za statističku obradu podataka korišćen je program SPSS, verzija 20.0 (SPSS, Chicago, IL, 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 58 osoba kod kojih je ustanovljen metabolički sindrom, 29 žena i 29 muškaraca. U ispitivanoj grupi medijana godina života je bila 42 godine. Najmlađi ispitanik je imao 29, a najstariji 53 godine.

Kontrolnu grupu činilo je 30 zdravih ispitanika, 15 žena i 15 muškaraca. U kontrolnoj grupi medijana godina života je iznosila 39 godina. Najmlađi ispitanik je imao 31, a najstariji 50 godina.

Tabela 6. prikazuje da Mann-Whitney testom nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike između ispitivane i kontrolne grupe u odnosu na godine života ($p=0,167$). Analizom polne strukture nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitivane i kontrolne grupe ($0,767$).

Tabela 6. Demografske karakteristike ispitanika s metaboličkim sindromom ($n=58$) u odnosu na ispitanike u kontrolnoj grupi ($n=30$)

	Ispitivana grupa $n=58$	Kontrolna grupa $n=30$	p
Godine života	$42 \pm 6,39$	$40,6 \pm 6,17$	0,167 *
Pol (n) muški/ženski	29/29	15/15	0,767 **

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

4.1.2. Antropometrijske karakteristike ispitanika u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Antropometrijski parametri ispitanika u ispitivanoj grupi prikazani su u tabeli 7. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 7. Antropometrijski podaci ispitanika (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
TM (kg)	99,45	17,07	65,00	164,00	99,45	0,091
TV (cm)	173,58	9,40	151,00	190,00	173,00	0,020
BMI (kg/m ²)	33,07	5,51	25,39	55,43	32,18	0,200
OS (cm)	108,38	10,38	90,00	144,00	107,00	0,200
OK (cm)	115,07	9,77	101,00	160,00	114,00	0,052
OS/OK	0,94	0,07	0,79	1,06	0,94	0,169
Sistolni TA (mmHg)	128,88	9,51	100,00	150,00	130,00	0,002
Dijastolni TA (mmHg)	82,98	6,18	65,00	100,00	80,00	0,000

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, $p>0,05$ – varijable prate normalnu distribuciju, $p<0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi parametri BMI, OS, OK, OS/OK imaju normalnu distribuciju.

Antropometrijski parametri ispitanika u kontrolnoj grupi prikazani su u tabeli 8. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 8. Antropometrijski podaci kontrolne grupe (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
TM (kg)	72,47	13,12	51,00	98,00	72,00	0,200
TV (cm)	175,23	7,87	157,00	188,00	175,00	0,135
BMI (kg/m ²)	23,47	3,07	17,51	29,73	23,15	0,200
OS (cm)	84,50	11,29	65,00	103,00	84,00	0,200
OK (cm)	99,90	8,17	86,00	116,00	101,00	0,149
OS/OK	0,84	0,08	0,71	1,00	0,83	0,200
Sistolni TA (mmHg)	115,50	10,45	100,00	140,00	117,50	0,033
Dijastolni TA (mmHg)	74,50	8,34	60,00	90,00	80,00	0,000

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, $p>0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p<0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi svi parametri osim sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska imaju normalnu distribuciju.

U tabeli 9. su prikazani rezultati poređenja antropometrijskih parametara između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti TM ($99,45 \pm 17,07$ vs. $72,47 \pm 13,12$ kg), BMI ($33,07 \pm 5,51$ vs. $23,47 \pm 3,08$ kg/m²), OS ($108,38 \pm 10,38$ vs. $84,50 \pm 11,29$ cm), OK ($115,07 \pm 9,77$ vs. $99,90 \pm 8,17$ cm), sistolnog TA ($128,88 \pm 9,51$ vs. $115,50 \pm 10,45$ mmHg) i dijastolnog TA ($82,98 \pm 6,18$ vs. $74,5 \pm 8,34$ mmHg) ispitanika u ispitivanoj grupi u odnosu na ispitanike u kontrolnoj grupi.

Tabela 9. Testiranje razlike antropometrijskih parametara između ispitivane (n=58) i kontrolne grupe (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
TM (kg)	$99,45 \pm 17,07$	$72,47 \pm 13,12$	0,000 ² *
TV (cm)	$173,58 \pm 9,40$	$175,23 \pm 7,87$	0,438 **
BMI (kg/m ²)	$33,07 \pm 5,51$	$23,47 \pm 3,08$	0,000 ² *
OS (cm)	$108,38 \pm 10,38$	$84,50 \pm 11,29$	0,000 ² *
OK (cm)	$115,07 \pm 9,77$	$99,90 \pm 8,17$	0,000 ² *
OS/OK	$0,943 \pm 0,07$	$0,8447 \pm 0,08$	0,000 ² *
Sistolni TA (mmHg)	$128,88 \pm 9,51$	$115,50 \pm 10,45$	0,000 ² **
Dijastolni TA (mmHg)	$82,98 \pm 6,18$	$74,5 \pm 8,34$	0,000 ² **

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p < 0,05, ² – p < 0,001

4.1.3. Laboratorijski markeri disfunkcije hepatocita u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Markeri disfunkcije hepatocita u grupi ispitanika prikazani su u tabeli 10. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 10. Laboratorijski markeri oštećenja jetre u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
ALP (U/L)	92,20	53,84	14,00	248,00	69,00	0,000
AST (U/L)	24,48	7,10	15,00	48,00	23,00	0,000
ALT (U/L)	30,67	14,39	12,00	83,00	26,00	0,004
AST/ALT (U/L)	0,92	0,46	0,43	3,20	0,86	0,000
GGT (U/L)	33,77	18,90	7,00	83,00	30,50	0,168
Ukupni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	11,93	4,95	4,00	29,00	11,00	0,013
Direktni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	3,53	1,47	1,60	7,60	3,25	0,000
Feritin ($\mu\text{g/l}$)	139,40	127,80	4,40	497,50	102,60	0,001

Legenda: ALP - alkalna fosfataza, AST - aspartat-amino-tranferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT - gama-glutamil-transferaza, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika normalnu distribuciju ima jedino parametar GGT.

Markeri disfunkcije hepatocita u kontrolnoj grupi prikazani su u Tabeli 11. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost ispitivanih parametara.

Tabela 11 . Laboratorijski markeri oštećenja jetre u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
ALP (U/L)	101,50	37,70	44,00	176,00	94,50	0,200
AST (U/L)	20,97	4,10	15,00	34,00	20,50	0,032
ALT (U/L)	20,66	10,58	6,00	55,00	17,50	0,000
AST/ALT	1,16	0,40	0,56	2,66	1,17	0,200
GGT (U/L)	15,50	7,09	7,00	32,00	13,50	0,011
Ukupni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	13,87	5,92	5,00	28,00	14,00	0,200
Direktni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	4,00	1,62	1,40	8,00	3,85	0,168
Feritin ($\mu\text{g/l}$)	89,50	74,10	3,00	248,70	62,10	0,008

Legenda: ALP - alkalna fosfataza, AST - aspartat-amino-tranferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT - gama-glutamil-transferaza, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi ALP i odnos AST/ALT prate normalnu distribuciju.

Tabela 12. Testiranje razlike markera disfunkcije hepatocita u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
ALP (U/L)	92,20 ± 53,84	101,50 ± 37,70	0,079 **
AST (U/L)	24,48 ± 7,10	20,97 ± 4,10	0,009 ¹ **
ALT (U/L)	30,67 ± 14,39	20,66 ± 10,58	0,000 ² **
AST/ALT	0,92 ± 0,46	1,16 ± 0,40	0,001 ² **
GGT (U/L)	33,77±18,90	15,50 ± 7,09	0,000 ² **
Ukupni bilirubin (μmol/l)	11,93 ± 4,95	13,87 ± 5,92	0,122 **
Direktni bilirubin (μmol/l)	3,53 ± 1,47	4,00 ± 1,62	0,128 **
Feritin (μg/l)	139,40 ± 127,80	89,50 ± 74,10	0,153 **

Legenda: ALP - alkalna fosfataza, AST - aspartat-amino-transferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT - gama-glutamil-transferaza, * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p< 0,05 ² – p<0,001

U tabeli 12. su prikazani rezultati poređenja markera disfunkcije hepatocita između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti AST (24,48 ± 7,10 vs 20,97 ± 4,10 U/L), ALT (30,67 ± 14,39 vs 20,66 ± 10,58 U/L) i GGT (33,77 ± 18,90 vs 15,5 ± 7,09 U/L) kod ispitivane grupe u odnosu na kontrolnu grupu.

4.1.4. Parametri inflamacije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Parametri inflamacije u ispitivanoj grupi su prikazani u tabeli 13. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 13. Parametri inflamacije u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leukociti (n)	7,27	2,10	4,20	13,00	6,83	0,046
Neutrofili (n)	3,86	1,37	1,62	3,37	8,06	0,001
Limfociti (n)	2,66	0,89	0,54	5,83	2,59	0,000
Neutrofili/limfociti	1,55	0,68	0,64	4,96	1,43	0,002
hsCRP (mg/l)	4,27	5,06	0,10	32,80	2,70	0,000
Fibrinogen (g/l)	3,32	0,78	1,51	4,94	3,43	0,200
TNF- α (pg/ml)	5,41	6,31	0,02	4,03	31,49	0,000
Ukupni proteini (g/l)	74,50	0,54	63,00	84,00	75,00	0,000
Albumini	65,14	3,58	57,70	73,70	65,20	0,060
α_1 -globulini	2,10	0,36	1,10	3,00	2,10	0,000
α_2 -globulini	8,84	1,28	2,30	10,80	9,00	0,040
β_1 -globulini	6,85	0,80	5,50	9,20	6,80	0,078
β_2 -globulini	4,04	0,79	2,60	6,70	4,00	0,200
γ -globulini	13,01	0,33	7,50	18,80	12,85	0,200

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotičući faktor alfa, p>0,05 - varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi jedino parametri fibrinogen, β_2 -globulini i γ -globulini imaju normalnu distribuciju.

Parametri inflamacije u kontrolnoj grupi prikazani su u tabeli 14. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 14. Parametri inflamacije u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leukociti (n)	6,13	1,73	3,60	11,70	5,75	0,200
Neutrofili (n)	3,18	0,94	1,83	4,99	3,00	0,200
Limfociti (n)	2,39	0,84	1,14	5,48	2,34	0,008
Neutrofili/limfociti (n)	1,38	0,36	0,79	2,11	1,26	0,033
hsCRP (mg/l)	1,14	2,72	0,10	15,20	0,45	0,000
Fibrinogen (g/l)	2,65	0,48	2,04	3,87	2,45	0,000
TNF- α (pg/ml)	2,82	2,27	0,02	8,34	1,95	0,004
Albumini (g/l)	67,97	2,49	61,70	72,00	67,85	0,200
α_1 -globulini (g/l)	1,96	0,33	1,20	2,80	1,90	0,490
α_2 -globulini (g/l)	8,28	0,81	6,70	10,10	8,10	0,121
β_1 -globulini (g/l)	5,98	0,55	5,00	6,90	5,90	0,200
β_2 -globulini (g/l)	3,14	0,53	2,20	4,90	3,10	0,055
γ -globulini (g/l)	12,65	0,36	7,20	18,00	12,65	0,200

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotični faktor alfa, p>0,05 - varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi parametri leukociti, neutrofili, ukupni proteini, albumini, α_1 -globulini, α_2 -globulini, β_1 -globulini i γ -globulini su imali normalnu distribuciju.

U tabeli 15. su prikazani rezultati poređenja markera inflamacije između ispitanice i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti leukocita ($7,27 \pm 2,10$ vs $6,13 \pm 1,73$), neutrofila ($3,86 \pm 1,38$ vs $3,18 \pm 0,94$), hsCRP ($4,27 \pm 5,06$ vs $1,14 \pm 2,72$ mg/l), fibrinogena ($3,32 \pm 0,78$ vs $2,65 \pm 0,48$ g/l), α_2 -globulina ($8,84 \pm 1,28$ vs $8,28 \pm 0,81$ g/l), β_1 -globulina ($6,85 \pm 0,80$ vs $5,98 \pm 0,55$ g/l) i β_2 -globulina ($4,04 \pm 0,79$ vs $3,14 \pm 0,53$ g/l) u ispitanjoj u odnosu na kontrolnu grupu. Vrednosti albumina ($65,14 \pm 3,58$ vs $67,97 \pm 2,49$ g/l) su signifikantno niže u ispitanjoj u odnosu na kontrolnu grupu.

Tabela 15. Testiranje razlike markera inflamacije u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
Leukociti (n)	7,27 ± 2,10	6,13 ± 1,73	0,015 ¹ **
Neutrofili (n)	3,86 ± 1,38	3,18 ± 0,94	0,031 ¹ **
Limfociti (n)	2,66 ± 0,89	2,39 ± 0,84	0,073 **
Neutrofili/limfociti (n)	1,55 ± 0,68	1,38 ± 0,36	0,324 **
hsCRP (mg/l)	4,27 ± 5,06	1,14 ± 2,72	0,000 ² **
Fibrinogen (g/l)	3,32 ± 0,78	2,65 ± 0,48	0,000 ² **
TNF- α (pg/ml)	5,41 ± 6,31	2,82 ± 2,27	0,066 **
Albumini (g/l)	65,14 ± 3,58	67,97 ± 2,49	0,000 ² *
α_1 -globulini (g/l)	2,10 ± 0,36	1,96 ± 0,33	0,106 **
α_2 -globulini (g/l)	8,84 ± 1,28	8,28 ± 0,81	0,002 ² **
β_1 -globulini (g/l)	6,85 ± 0,80	5,98 ± 0,55	0,000 ² *
β_2 -globulini (g/l)	4,04 ± 0,79	3,14 ± 0,53	0,000 ² *
γ -globulini (g/l)	13,01 ± 0,33	12,65 ± 0,36	0,494 *

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotišući faktor alfa,

* - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p<0,05, ² – p<0,001

4.1.5. Parametri metabolizma lipida u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Parametri metabolizma lipida u ispitivanoj grupi prikazani su u tabeli 16. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 16. Parametri metabolizma lipida u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Uk.holesterol (mmol/l)	5,68	1,06	3,81	8,61	5,56	0,200
Trigliceridi (mmo/l)	1,91	0,88	0,70	4,33	1,70	0,047
LDL-holesterol (mmol/l)	3,59	0,99	1,45	5,79	3,52	0,200
HDL-holesterol (mmol/l)	1,22	0,35	0,70	2,99	1,15	0,000
Trigliceridi/HDL-holesterol	1,77	1,18	0,25	6,19	1,47	0,000
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	4,46	1,03	2,05	6,80	4,34	0,200
Apo A-I (g/l)	1,39	0,22	1,06	1,36	2,32	0,090
Apo B (g/l)	1,14	0,26	0,58	2,02	1,12	0,055
Apo B/A-I	0,84	0,23	0,37	1,68	0,81	0,200
Lp(a) (g/l)	0,24	0,27	0,01	1,07	0,12	0,000

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo – apolipoproteina, Lp(a) - lipoprotein Lp(a), p>0,05 – varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi parametri ukupni holesterol, LDL-holesterol, non-HDL-holesterol, apo A-I, apo-B i odnos apo B/A-I prate normalnu distribuciju.

Parametri metabolizma lipida u kontrolnoj grupi prikazani su u tabeli 17. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 17. Parametri metabolizma lipida u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Uk. holesterol (mmol/l)	4,94	0,85	3,61	6,65	4,92	0,200
Trigliceridi (mmo/l)	1,08	0,43	0,48	2,66	0,99	0,063
LDL-holesterol (mmol/l)	3,04	0,69	1,98	4,64	3,00	0,200
HDL-holesterol (mmol/l)	1,41	0,38	0,80	2,33	1,37	0,126
Trigliceridi/HDL-holesterol	0,85	0,48	0,27	2,37	0,75	0,017
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	3,53	0,76	2,47	5,09	3,47	0,200
Apo A-I (g/l)	1,37	0,24	0,99	1,90	1,40	0,200
Apo B (g/l)	0,92	0,15	0,67	1,30	0,92	0,200
Apo B/A-I	0,69	0,17	0,45	1,13	0,68	0,200
Lp(a) (g/l)	0,15	0,24	0,02	0,99	0,07	0,000

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo – apolipoprotein, Lp(a) – lipoprotein Lp(a), $p > 0,05$ – varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi parametri ukupni holesterol, LDL-holesterol, HDL-holesterol, non-HDL-holesterol, apo A-I, apo B kao i odnos apo B/A-I prate normalnu distribuciju.

U tabeli 18. su prikazani rezultati poređenja parametara lipidskog statusa između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti ukupnog holesterola ($5,68 \pm 1,06$ vs $4,94 \pm 0,85$ mmol/l), triglicerida ($1,91 \pm 0,88$ vs $1,08 \pm 0,43$ mmol/l), LDL-holesterola ($3,59 \pm 0,99$ vs $3,04 \pm 0,69$ mmol/l) i non-HDL-holesterola ($4,46 \pm 1,03$ vs $3,53 \pm 0,76$ mmol/l) kao i odnosa trigliceridi/HDL-holesterol ($1,76 \pm 1,18$ vs $0,85 \pm 0,48$). Vrednosti apo B ($1,14 \pm 0,26$ vs $0,92 \pm 0,15$ g/l) kao i odnosa apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ($0,84 \pm 0,23$ vs $0,69 \pm 0,17$) i Lp(a) lipoproteina ($0,24 \pm 0,27$ vs $0,15 \pm 0,24$ g/l) su bile signifikanto više u odnosu na kontrolnu grupu. Vrednosti HDL-holesterola su bile signifikanto niže u ispitivnoj grupi ($1,22 \pm 0,35$ vs $1,41 \pm 0,38$ mmol/l) dok među vrednostima apolipoproteina A-I nije bilo razlike.

Tabela 18. Testiranje razlika između parametara lipidskog statusa u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
Uk. holesterol (mmol/l)	$5,68 \pm 1,06$	$4,94 \pm 0,85$	$0,001^2$ *
Trigliceridi (mmo/l)	$1,91 \pm 0,88$	$1,08 \pm 0,43$	$0,000^2$ **
LDL-holesterol (mmol/l)	$3,59 \pm 0,99$	$3,04 \pm 0,69$	$0,004^2$ *
HDL-holesterol (mmol/l)	$1,22 \pm 0,35$	$1,41 \pm 0,38$	$0,021^1$ **
Trigliceridi/HDL-holesterol	$1,76 \pm 1,18$	$0,85 \pm 0,48$	$0,000^2$ **
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	$4,46 \pm 1,03$	$3,53 \pm 0,76$	$0,000^2$ *
Apo A-I (g/l)	$1,39 \pm 0,22$	$1,37 \pm 0,24$	$0,812$ **
Apo B (g/l)	$1,14 \pm 0,26$	$0,92 \pm 0,15$	$0,000^2$ *
Apo B/A-I	$0,84 \pm 0,23$	$0,69 \pm 0,17$	$0,003^1$ *
Lp(a) (g/l)	$0,24 \pm 0,27$	$0,15 \pm 0,24$	$0,026^1$ **

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo - apolipoprotein, Lp(a)- lipoprotein Lp(a), *- T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.1.6. Parametri metabolizma glukoze u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Parametri metabolizma glukoze u ispitivanoj grupi prikazani su u tabeli 19. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 19. Parametri metabolizma glukoze u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Glukoza (mmol/l)	5,62	0,97	4,50	11,00	5,40	0,000
Insulin (mI/l)	16,51	8,99	2,90	48,80	14,60	0,023
HOMA-IR	4,18	2,54	0,66	13,80	3,57	0,001
HOMA-%B (%)	169,76	94,53	36,25	488,00	140,73	0,006

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi parametri metabolizma glukoze ne prate normalnu distribuciju.

Parametri metabolizma glukoze u kontrolnoj grupi prikazani su u tabeli 20. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 20. Parametri metabolizma glukoze u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Glukoza (mmol/l)	4,98	0,34	4,40	5,70	4,95	0,200
Insulin (mI/l)	8,06	3,05	4,00	7,65	17,00	0,090
HOMA-IR	1,79	0,71	0,80	4,00	1,71	0,124
HOMA-%B (%)	112,07	41,65	41,82	188,89	99,17	0,053

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi svi ispitivani parametri metabolizma glukoze prate normalnu distribuciju.

U tabeli 21. su prikazani rezultati poređenja parametara metabolizma glukoze između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti glukoze ($5,62 \pm 0,97$ vs $4,98 \pm 0,34$ mmol/l), insulina ($16,51 \pm 8,99$ vs $8,06 \pm 3,05$ mI/l) kao i modela

homeostaze glukoze HOMA-IR ($4,18 \pm 2,54$ vs $1,79 \pm 0,71$) i HOMA-%B ($169,76 \pm 94,53$ vs $112,07 \pm 41,65$ %).

Tabela 21. Testiranje razlike između parametara metabolizma glukoze u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
Glukoza (mmol/l)	$5,62 \pm 0,97$	$4,98 \pm 0,34$	0,000 ² **
Insulin (mI/l)	$16,51 \pm 8,99$	$8,06 \pm 3,05$	0,000 ² **
HOMA-IR	$4,18 \pm 2,54$	$1,79 \pm 0,71$	0,000 ² **
HOMA-%B (%)	$169,76 \pm 94,53$	$112,07 \pm 41,65$	0,006 ¹ **

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.1.7. Parametri endotelne disfunkcije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Parametri endotelne disfunkcije u ispitivanoj grupi prikazani su u tabeli 22. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 22. Parametri endotelne disfunkcije u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	10,53	2,77	5,80	16,40	10,30	0,200
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0,66	0,22	0,37	2,05	0,64	0,000

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi parametar homocistein ima normalnu distribuciju.

Parametri endotelne disfunkcije u kontrolnoj grupi prikazani su u tabeli 23. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 23. Parametri endotelne disfunkcije u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	10,63	2,46	5,80	15,70	10,60	0,200
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0,55	0,08	0,40	0,72	0,54	0,200

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi parametar homocistein ima normalnu distribuciju.

U tabeli 24. su prikazani rezultati poređenja parametara endotelne disfunkcije između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti ADMA ($0,66 \pm 0,22$ vs $0,55 \pm 0,08$ $\mu\text{mol/l}$).

Tabela 24. Testiranje razlike između parametara endotelne disfunkcije u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm \text{SD}$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm \text{SD}$	p
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	$10,53 \pm 2,77$	$10,63 \pm 2,46$	0,871 *
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	$0,66 \pm 0,22$	$0,55 \pm 0,08$	$0,000^2$ **

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.1.8. Adipokinski profil u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Nivo adipokina u ispitivanoj grupi prikazan je u tabeli 25. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 25. Adipokinski profil u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leptin (ng/ml)	35,70	37,01	1,22	176,53	20,58	0,000
Adiponektin ($\mu\text{g/ml}$)	7,00	4,39	1,51	19,85	5,93	0,003

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi parametri ne prate normalnu distribuciju.

Nivo adipokina u kontrolnoj grupi prikazan je u tabeli 26. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 26. Adipokinski profil u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leptin (pg/ml)	11,99	10,49	1,52	38,56	10,19	0,160
Adiponektin (ng/ml)	10,64	8,00	2,82	30,63	7,31	0,000

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi vrednosti leptina imaju normalnu distribuciju.

U tabeli 27. su prikazani rezultati poređenja parametara ispitivanih adipokina u ispitivanoj i kontrolnoj grupi. U ispitivanoj grupi prisutne su signifikantno više vrednosti leptina ($35,70 \pm 37,00$ vs $11,99 \pm 10,49$ pg/ml), a signifikantno niže vrednosti adiponektina ($7,00 \pm 4,39$ vs $10,64 \pm 8,00$ ng/ml).

Tabela 27. Testiranje razlike između ispitivanih parametara adipokinskog profila u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
Leptin (pg/ml)	$35,70 \pm 37,00$	$11,99 \pm 10,49$	$0,000^2$ **
Adiponektin (ng/ml)	$7,00 \pm 4,39$	$10,64 \pm 8,00$	$0,032^1$ **

Legenda: * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.1.9. Ostali biohemijski parametri u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Ostalih ispitivani biohemijski parametri u ispitivanoj grupi prikazani su u tabeli 28. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 28. Ostali biohemijski parametri u ispitivanoj grupi (n=58)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	4,95	1,06	2,40	7,30	5,00	0,200
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	80,45	14,21	55,00	108,00	80,50	0,060
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	352,20	87,00	196,00	559,00	340,00	0,200

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi parametri urea, kreatinin i mokraćna kiselina prate normalnu distribuciju.

Ostalih ispitivani biohemijski parametara u kontrolnoj grupi prikazani su u tabeli 29. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 29. Ostali biohemijski parametri u kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	5,04	1,38	3,00	8,20	3,00	0,200
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	82,16	16,65	52,00	112,00	79,00	0,195
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	288,50	73,90	160,00	459,00	280,00	0,200

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U kontrolnoj grupi svi parametri prate normalnu distribuciju.

U tabeli 30. su prikazani rezultati poređenja ostalih biohemijskih parametara između ispitivane i kontrolne grupe. Utvrđeno je postojanje statistički značajno više vrednosti samo mokraćne kiseline ($352,2 \pm 87,0$ vs $288,5 \pm 73,9$ $\mu\text{mol/l}$) u odnosu na kontrolnu grupu. Ostali ispitivani parametri se nisu razlikovali.

Tabela 30. Testiranje razlike između ostalih biohemijskih parametara u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	4,95 \pm 1,06	5,04 \pm 1,38	0,735 *
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	80,45 \pm 14,21	82,16 \pm 16,65	0,967 *
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	352,20 \pm 87,00	288,50 \pm 73,90	0,001 ² *

Legenda: *-T-test nezavisnih uzoraka, **- Mann-Whitney test, ¹ – p< 0,05, ² – p<0,001

4.1.10. Analiza debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

U tabeli 31. su prikazani rezultati parametara debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u ispitivanoj i kontrolnoj grupi. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 31. Analiza debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u ispitivanoj grupi (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

IMT (μm)	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Metabolički sindrom	814,65	117,73	650,00	1200,00	800,00	0,152
Kontrolna grupa	706,66	80,65	550,00	850,00	700,00	0,000

Legenda: p>0,05 – varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi IMT prati normalnu distribuciju dok u kontrolnoj IMT ne prate normalnu distribuciju.

U tabeli 32. je prikazano testiranje razlike debljine intima medija kompleksa zajedničke karotidne arterije između ispitivane i kontrolne grupe, signifikatno više vrednosti su prisutne u ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu (814,65 \pm 117,73 vs 706,66 \pm 80,65 μm).

Tabela 32. Testiranje razlike između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u ispitivanoj (n=58) i kontrolnoj grupi (n=30)

Parametar	Ispitivana grupa $\bar{X} \pm SD$	Kontrolna grupa $\bar{X} \pm SD$	p
IMT (μm)	814,65 \pm 117,73	706,66 \pm 80,65	0,001 ² **

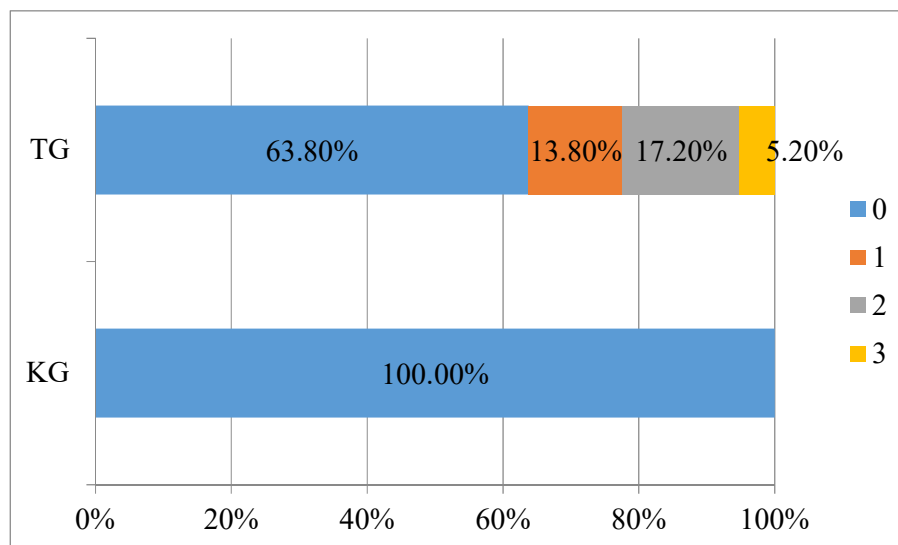
Legenda: * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p< 0,05, ² – p<0,001

U grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom njih 17/58 (23,37%) je imalo IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm.

4.1.11. Učestalost nealkoholne masne bolesti jetre u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

Kod ispitanika sa metaboličkim sindromom njih 37 (63,80%) nije imalo hepaticnu steatozu, a od preostalih 21 osobe njih 8 (13,79%) je imalo stepen 1 hepaticne steatoze, njih 10 (17,24%) stepen 2 hepaticne steatoze i njih 3 (5,17%) stepen 3 hepaticne steatoze (grafikon 2).

Grafikon 2. Učestalost NAFLD u grupi ispitanika i u kontrolnoj grupi utvrđena ultrazvučnim pregledom



Legenda: TG - grupa ispitanika, KG - kontrolna grupa, ultrazvučni pregled: 0 - nije prisutna hepaticna steatoza, 1 - stepen 1 hepaticne steatoze, 2 - stepen 2 hepaticne steatoze, 3 - stepen 3 hepaticne steatoze

4.2. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i analiziranih parametara kod ispitanika sa metaboličkim sindromom

4.2.1. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i antropometrijskih pokazatelja

Statistički značajna povezanost umerene jačine je utvrđena između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i vrednosti TM ($r=0,445$, $p=0,000$), BMI ($r=0,467$, $p=0,000$), OS ($r=0,466$, $p=0,000$) i OK ($r=0,342$, $p=0,403$). Statistički značajna povezanost umerene jačine uočena je i između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i sistolnog ($r=0,331$, $p=0,002$) i dijastolnog ($r=0,317$, $p=0,003$) krvnog pritiska (tabela 34.).

Tabela 34. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i antropometrijskih pokazatelja

Antropometrijski pokazatelji	IMT (cm)	
	r	p
TM (kg)	0,445	0,000 ²
TV (cm)	-0,022	0,839
BMI (kg/m ²)	0,467	0,000 ²
OS (cm)	0,466	0,000 ²
OK (cm)	0,403	0,000 ²
OS/OK	0,342	0,001 ¹
Sistolni TA (mmHg)	0,331	0,002 ¹
Dijastolni TA (mmHg)	0,317	0,003 ¹

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.2.2. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i markera disfunkcije hepatocita

Statistički značajna povezanost slabe jačine je utvrđena jedino između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i GGT ($r=0,165$, $p=0,032$) (tabela 35).

Tabela 35: Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i markera disfunkcije hepatocita

Markeri disfunkcije hepatocita	IMT (cm)	
	r	p
ALP (U/L)	-0,058	0,591
AST (U/L)	0,073	0,355
ALT (U/L)	0,077	0,320
AST/ALT (U/L)	-0,141	0,189
GGT (U/L)	0,165	0,032 ¹
Ukupni bilirubin (μmol/l)	-0,147	0,173
Direktni bilirubin (μmol/l)	-0,124	0,249
Feritin (μg/l)	0,049	0,647

Legenda: AST - aspartat-amino-transferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT -gama-glutamil-transferaza, ALP – alkalna fosfataza, IMT - debljina intima-medija kompleksa,¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.2.3. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i markera inflamacije

Statistički značajna povezanost slabe jačine utvrđena je između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i hsCRP ($r=0,263$ $p=0,001$) kao i odnosa neutrofililimfociti ($r=0,187$, $p=0,014$) (Tabela 36). Takođe je bila prisutna i povezanost slabe jačine između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i $\alpha 2$ -globulina ($r=0,248$, $p=0,0201$), $\beta 1$ -globulina ($r=0,249$, $p=0,0191$) i $\beta 2$ -globulina ($r=0,223$, $p=0,0371$).

Tabela 36: Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i markera inflamacije

Markeri inflamacije	IMT (cm)	
	r	p
Leukociti (n)	0,178	0,096
Neutrofili (n)	0,204	0,057
Limfociti (n)	0,003	0,978
Neutrofili/limfociti	0,187	0,014 ¹
hsCRP (mg/l)	0,263	0,001 ¹
Fibrinogen (g/l)	0,142	0,062
TNF- α (ng/ml)	0,081	0,296
Ukupni proteini (g/l)	0,011	0,921
Albumini	-0,096	0,373
α_1 -globulini	-0,060	0,578
α_2 -globulini	0,248	0,020 ¹
β_1 -globulini	0,249	0,019 ¹
β_2 -globulini	0,223	0,037 ¹
γ -globulini	0,132	0,220

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotišući faktor alfa, IMT - debljina intima-medija kompleksa, ¹ – p<0,05, ²– p<0,001

4.2.4. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ispitivanih parametara endotelne disfunkcije

Između ispitivanih parametara endotelne disfunkcije i debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije nije prisutna signifikantna korelacija.

Tabela 37. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ispitivanih markera endotelne disfunkcije

Markeri endotelne disfunkcije	IMT (cm)	
	r	p
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	0,026	0,732
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0,101	0,188

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, IMT - debljina intima-medija kompleksa,¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.2.4.1. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa unutrašnje karotidne arterije i asimetričnog dimetil arginina

Statistički značajna povezanost slabe jačine je utvrđena je između debljine IMT kompleksa unutrašnje karotidne arterije i nivoa ADMA ($r=0,218$, $p=0,0004$) (Tabela 38).

Tabela 38: Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa unutrašnje karotidne arterije i ADMA

	IIMT (cm)	
	r	p
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0,218	0,004 ¹

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, IIMT- debljina intima-medija kompleksa unutrašnje karotidne arterija, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.2.4.2. Ispitivanje povezanosti između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i hiperhomocisteinemije

Prisutnost signifikantno viših vrednosti debljine IMT zajedničke karotidne arterije u grupi sa hiperhomocisteinemijom ($>12 \mu\text{mol/l}$) u odnosu na grupu sa normohomocisteinemijom ($\leq 12 \mu\text{mol/l}$) je prikazana u tabeli 39.

Tabela 39: Testiranje razlike između debljine IMT kompleksa zajedničke karotidne arterije kod ispitanika sa hiperhomocisteinemijom ($>12 \mu\text{mol/l}$) i normohomocisteinemijom ($\leq 12 \mu\text{mol/l}$)

	IMT (cm)	Prevalenca (%)	t-test	95% CI interval
Hiperhomocisteinemija ($>12 \mu\text{mol/l}$)	0,082	30,68 %	T=2,035	Donji CI 0,011688
Normohomocisteinemija ($\leq 12 \mu\text{mol/l}$)	0,076	69,32 %	p=0,048	Gornji CI 0,000048

Legenda: CI-interval poverenja

4.2.5. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ispitivanih adipokina

Statistički značajna povezanost slabe jačine utvrđena je između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i leptina ($r=0,171$, $p=0,0025$).

Tabela 40: Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ispitivanih adipokina

Adipokini	IMT (cm)	
	r	p
Leptin (pg/ml)	0,171	0,025 ¹
Adiponektin (ng/ml)	0,015	0,847
Leptin/adiponektin	0,135	0,209

Legenda: ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.2.6. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i parametara metabolizma glukoze

Statistički značajna povezanost umerene jačine je utvrđena između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i glikemije ($r=0,306$, $p=0,000$). Statistički značajna povezanost slabe jačine je prisutna između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i insulinemije ($r=0,239$, $p=0,025$) kao i HOMA-IR ($r=0,270$, $p=0,000$) (Tabela 41).

Tabela 41: Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije i parametara metabolizma glukoze

Parametri metabolizma glukoze	IMT (cm)	
	r	p
Glukoza (mmol/l)	0,306	0,000 ²
Insulin (mI/l)	0,239	0,025 ¹
HOMA-IR	0,270	0,000 ²
HOMA-B	0,066	0,539

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.2.7. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i parametara lipidskog statusa

Statistički značajna povezanost slabe jačine utvrđena je između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i ukupnog holesterola ($r=0,205$ $p=0,049$), non-HDL-holesterola ($r=0,219$ $p=0,040$) i apolipoproteina B ($r=0,213$ $p=0,043$) (Tabela 42).

Tabela 42. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa karotidne arterije i parametara lipidskog statusa

Parametri metabolizma lipida	IMT (cm)	
	r	p
Uk. holesterol (mmol/l)	0,205	0,049 ¹
Trigliceridi (mmo/l)	0,179	0,095
LDL-holesterol (mmol/l)	0,170	0,114
HDL-holesterol (mmol/l)	-0,033	0,762
Trigliceridi/HDL-holesterol	0,127	0,238
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	0,219	0,040 ¹
Apo A-I (g/l)	0,111	0,305
Apo B (g/l)	0,213	0,043 ¹
Apo B/A-I (g/l)	0,099	0,357
Lp(a) (g/l)	0,167	0,119

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo – apolipoprotein, Lp(a) - lipoprotein Lp(a), ¹ – p<0,05, ² – p<0,001

4.2.8. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ostalih ispitivanih biohemijskih parametara

Statistički značajne povezanosti između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ostalih ispitivanih biohemijskih parametara nije bilo (tabela 43).

Tabela 43. Korelaciona analiza između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije i ostalih ispitivanih biohemijskih parametara

Ostali biohemijski markeri	IMT (μm)	
	r	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	0,132	0,219
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	0,034	0,751
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	0,168	0,117

Legenda: ¹ – p< 0,05, ² – p<0,001

4.3. Modeli logističke regresije

U cilju određivanja statistički značajnih determinanti debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije primenjeni su modeli logističke regresije. Metod korišćen za selekciju varijabli je *Forward Stepwise Conditional*. Konstruisana su dva modela logističke regresije. U prvom modelu zavisna varijabla je debljina IMT zajedničke karotidne arterije >0,09 cm. Nezavisne varijable su: AST, ALT, GGT, hsCRP, fibrinogen, TNF- α , homocistein, ADMA, leptin, adiponektin, glikemija. Omnibus test koeficijenata modela ukazuje da je dobijeni model statistički značajno bolji od modela koji sadrži samo konstantu, odnosno modela koji nema nijednu od navedenih nezavisnih promenljivih ($\chi^2=9,037$, $p=0,011$). Validnost modela je potvrđena Homer-Lemeshow testom ($\chi^2=7,426$, $p=0,491$). Rezultati logit modela su prikazani u tabeli 44. Prosečna stopa klasifikacije modela je 79,5%. Samo hsCRP i glukoza imaju statistički značajan uticaj na predviđanje debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije.

Tabela 44. Model 1 logističke regresije

	B	S.E.	Sig.	Exp (B)
hsCRP (mg/l)	0,106	0,057	0,062	1,112
Glukoza (mmol/l)	0,679	0,333	0,041	1,973
Konstanta	-5,576	1,897	0,003	0,004

Legenda: B - koeficijent, S.E. – standardna greška, Sig - signifikantnost, Exp(B) - eksponencijalnost B koeficijenta, CRP – C-reaktivni protein

U drugom modelu zavisne varijable su debljina IMT >0,09 cm zajedničke karotidne arterija i prisutnost hepatične steatoze stepena 1,2,3. Nezavisne varijable su: AST, ALT, GGT, hsCRP, fibrinogen, TNF- α , homocistein, ADMA, leptin, adiponektin, glikemija. Omnibus test koeficijenata modela ukazuje da je dobijeni model statistički značajno bolji od modela koji sadrži samo konstantu, odnosno modela koji nema nijednu od navedenih nezavisnih promenljivih ($\chi^2 = 11,504$, $p=0,003$). Validnost modela je potvrđena Homer-Lemeshow testom ($\chi^2 = 5,364$, $p=0,718$). Rezultati logit modela su prikazani u tabeli 45. Prosečna stopa klasifikacije modela je 89,8%. Samo ALT i leptin imaju statistički značajan uticaj na predviđanje debljine intima-media kompleksa zajedničke karotidne arterije.

Tabela 45. Model 2 logističke regresije

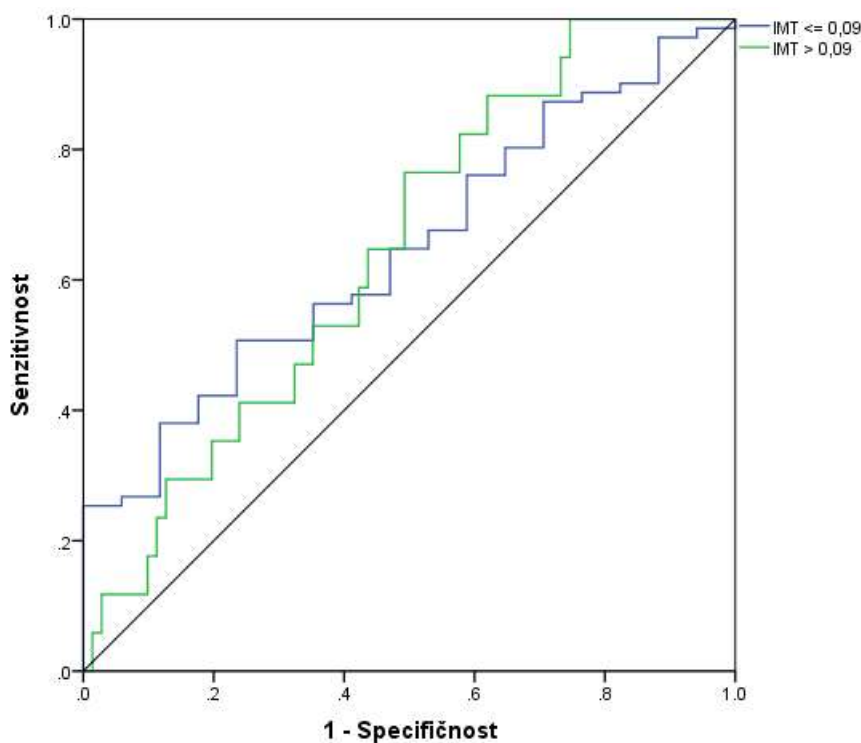
	B	S.E.	Sig.	Exp (B)
Leptin (pg/ml)	0,021	0,000	0,011	1,022
ALT (U/L)	0,051	0,022	0,020	1,053
Konstanta	-4,449	0,976	0,000	0,012

Legenda: B – koeficijent; S.E. – standardna greška; Sig – signifikantnost; Exp(B) - eksponencijalnost B koeficijenta, ALT – alanin aminotransferaza

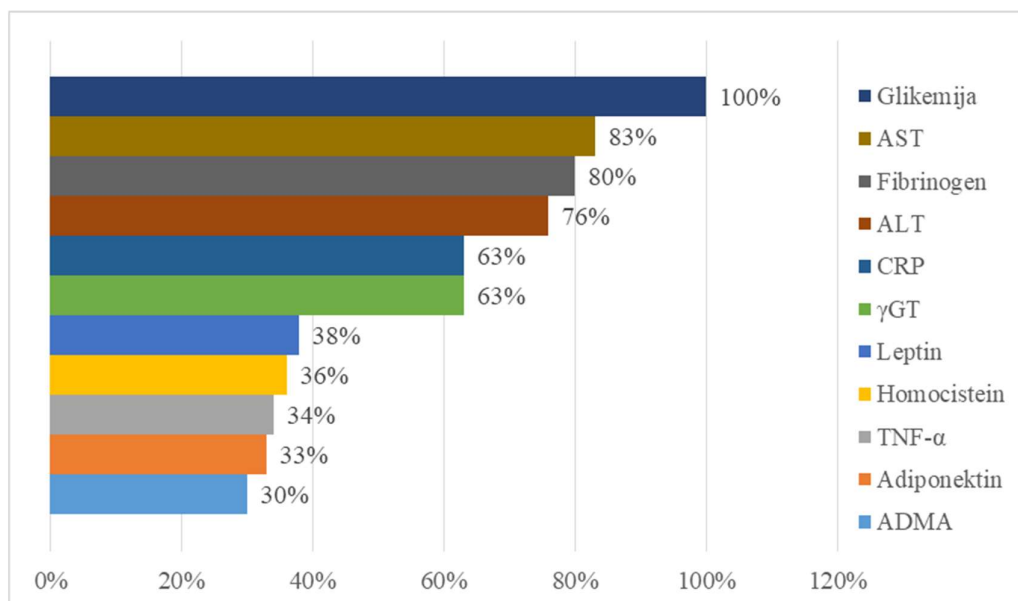
4.4. Neuronske mreže

U cilju otkrivanja faktora koji utiču na debljinu IMT zajedničke karotidne arterije primenjen je model neuronske mreže zasnovan na radijalnim baznim aktivacijskim funkcijama. Izračunata je vrednost ispod površine ROC krive – AUC. ROC kriva je grafička tehnika koja se koristi za evaluaciju binarnih klasifikatora za razne vrednosti praga odlučivanja. Ukoliko je $AUC=0,5$ performanse klasifikatora jednake su u odabiru klasa, $AUC>0,7$ ukazuje na dobru klasifikaciju, $AUC>0,8$ odličnu klasifikaciju, dok se model s $AUC>0,9$ smatra izvanrednim klasifikatorom. U dobijenom modelu gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije $>0,09$ cm površina je 0,646 (grafikon 3). Prosečna stopa klasifikacije modela je 76,5% na trening skupu podataka i 70,0% na test skupu. Izvršena je analiza senzitivnosti koja za svaki prediktor računa njegovu važnost. Analizirani su parametri: glikemija, AST, ALT, GGT, hsCRP, fibrinogen, TNF- α , homocistein, ADMA, leptin i adiponektin. Prema ovom modelu neuronske mreže najveću mogućnost predviđanja debljine IMT imaju glikemija, AST i fibrinogen (grafikon 4).

Grafikon 3: ROC kriva za model gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm

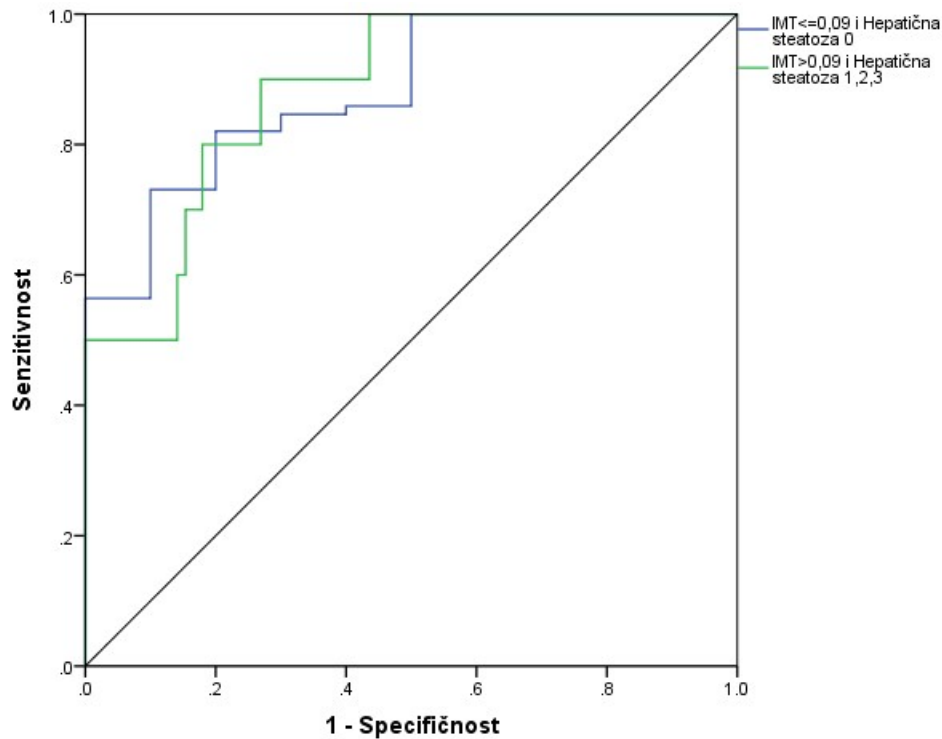


Grafikon 4. Model gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm

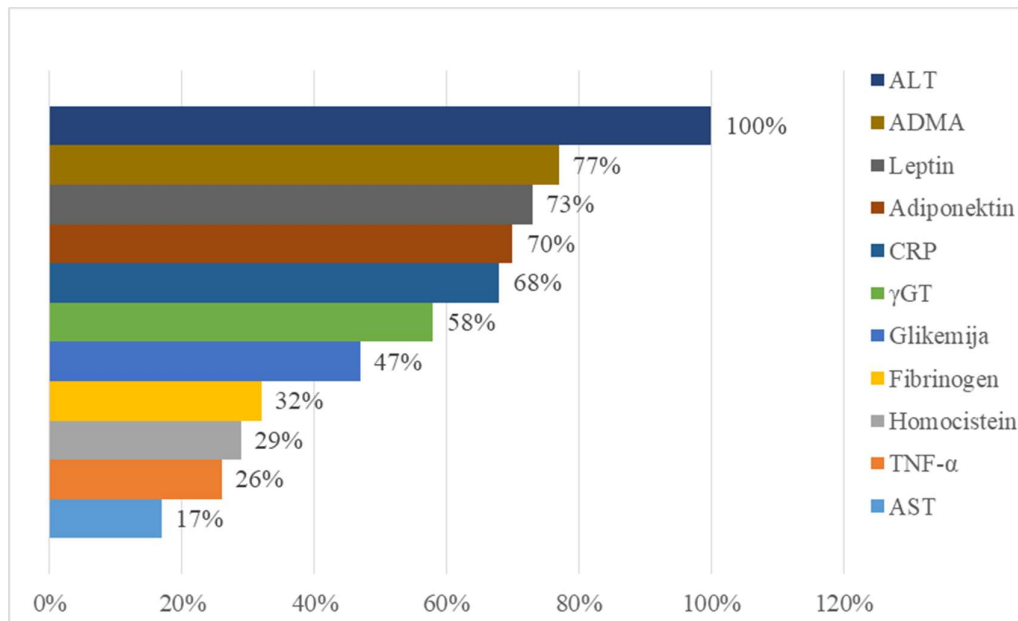


U drugom modelu neuronske mreže zavisna varijabla je debljina IMT zajedničke karotidne arterije $>0,09$ cm i prisutnost hepatične steatoze stepena 1,2,3. Izračunata je vrednost ispod površine ROC krive – AUC. U dobijenom modelu površina je 0,882 (Grafikon 5). Prosečna stopa klasifikacije modela je 94,0% na trening skupu podataka i 95,2% na test skupu. Izvršena je analiza senzitivnosti koja za svaki prediktor računa njegovu važnost. Analizirani su parametri: glikemija, AST, ALT, GGT, hsCRP, fibrinogen, TNF- α , homocistein, ADMA, leptin i adiponektin. Prema ovom modelu neuronske mreže najveću mogućnost predviđanja debljine IMT imaju ALT, ADMA i leptin (Grafikon 6).

Grafikon 5. ROC kriva za model gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije $>0,09$ cm i prisutnost hepatične steatoze stepena 1,2 i 3.



Grafikon 6. Model gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije $>0,09$ cm i prisutnost hepatične steatoze stepena 1, 2 i 3



4.5. Opšte karakteristike ispitanika u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jeste

4.5.1. Antropometrijske karakteristike ispitanika u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Antropometrijski parametri ispitanika u grupi ispitanika sa NAFLD prikazani su u tabeli 46. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 46: Antropometrijski podaci ispitanika sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
TM (kg)	108,98	20,58	76,00	164,00	108,00	0,007
TV (cm)	175,74	9,47	151,00	188,00	178,00	0,200
BMI (kg/m ²)	35,39	6,94	27,17	55,44	34,09	0,020
OS (cm)	113,71	13,081	94,00	144,00	113,00	0,200
OK (cm)	117,76	12,80	103,00	160,00	114,00	0,053
OS/OK	0,97	0,07	0,79	1,07	0,98	0,200
Sistolni TA (mmHg)	130,24	11,00	100,00	150,00	130,00	0,200
Dijastolni TA (mmHg)	84,05	6,25	70,00	100,00	85,00	0,011

Legenda: TM – telesna masa, TV – telesna visina, BMI – indeks telesne mase, OS – obim struka, OK – obim kuka, TA – krvni pritisak, $p > 0,05$ – varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika sa NAFLD parametri TV, OS, OK, OS/OK kao i sistolni krvni pritisak prate normalnu distribuciju.

Antropometrijski parametri ispitanika u grupi ispitanika bez NAFLD prikazani su u Tabeli 47. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 47: Antropometrijski podaci ispitanika bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
TM (kg)	93,09	12,59	64,00	123,00	94,00	0,200
TV (cm)	172,47	9,18	153,00	190,00	170,00	0,103
BMI (kg/m ²)	31,40	4,44	20,20	40,65	31,48	0,200
OS (cm)	104,32	8,83	71,00	121,00	104,00	0,035
OK (cm)	112,86	8,11	90,00	132,00	114,00	0,200
OS/OK	0,93	0,070	0,79	1,04	0,92	0,200
Sistolni TA (mmHg)	128,11	8,61	110,00	145,00	130,00	0,003
Dijastolni TA (mmHg)	82,24	6,11	65,00	90,00	80,00	0,000

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD parametri TM, TV, BMI, OK, odnos OS/OK prate normalnu distribuciju.

U tabeli 48. su prikazani rezultati poređenja antropometrijskih parametara između grupe ispitanika sa NAFLD i bez NAFLD. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti TM ($108,98 \pm 20,58$ vs. $93,09 \pm 12,59$ kg), BMI ($35,39 \pm 6,94$ vs. $31,40 \pm 4,44$ kg/m²), OS ($113,71 \pm 13,08$ vs. $104,32 \pm 8,83$ cm), OS/OK ($0,97 \pm 0,07$ vs. $0,93 \pm 0,07$), ispitanika u ispitivanoj grupi sa NAFLD u odnosu na ispitanike bez NAFLD.

Tabela 48: Testiranje razlike antropometrijskih parametara između grupe sa NAFLD (n=21) i grupe bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
TM (kg)	108,98 ± 20,58	93,09 ± 12,59	0,001 ² **
TV (cm)	175,74 ± 9,47	172,47 ± 9,18	0,203 *
BMI (kg/m ²)	35,39 ± 6,94	31,40 ± 4,44	0,028 ¹ **
OS (cm)	113,71 ± 13,08	104,32 ± 8,83	0,007 ² **
OK (cm)	117,76 ± 12,80	112,86 ± 8,11	0,250 **
OS/OK	0,97 ± 0,07	0,93 ± 0,07	0,036 ¹ *
Sistolni TA (mmHg)	130,24 ± 11,00	128,11 ± 8,61	0,317 **
Dijastolni TA (mmHg)	84,05 ± 6,25	82,24 ± 6,11	0,370 **

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, *-T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p<0,05 ² – p<0,001

4.5.2. Laboratorijski markeri disfunkcije hepatocita sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Markeri disfunkcije hepatocita u grupi ispitanika sa i bez NAFLD su prikazani u tabelama 49 i 50. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 49. Laboratorijski markeri disfunkcije hepatocita sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
ALP (U/L)	99,76	54,73	50,00	248,00	72,00	0,001
AST (U/L)	27,24	8,15	17,00	48,00	25,00	0,000
ALT (U/L)	37,14	17,39	15,00	83,00	35,00	0,200
AST/ALT (U/L)	0,89	0,59	0,43	3,20	0,71	0,002
GGT (U/L)	38,62	18,43	11,00	83,00	39,00	0,200
Ukupni bilirubin (μmol/l)	11,00	3,46	6,00	20,00	11,00	0,200
Direktni bilirubin (μmol/l)	3,27	1,09	1,90	5,40	3,10	0,200
Feritin (μg/l)	170,26	134,48	4,40	432,10	161,60	0,200

Legenda: ALP – alkalna fosfataza, AST – aspartat-amino-tranferaza, ALT – alanin-amino-transferaza, GGT – gama-glutamil-transferaza, $p > 0,05$ – varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi sa NAFLD parametri ALT i GGT prate normalnu distribuciju.

Tabela 50. Laboratorijski markeri disfunkcije hepatocita bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
ALP (U/L)	87,92	53,60	14,00	240,00	66,00	0,001
AST (U/L)	22,92	6,00	15,00	43,00	21,00	0,012
ALT (U/L)	27,00	11,04	12,00	61,00	24,00	0,021
AST/ALT (U/L)	0,94	0,38	0,44	2,47	0,91	0,000
GGT (U/L)	31,03	18,86	7,00	77,00	27,00	0,030
Ukupni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	12,46	5,60	4,00	29,00	11,00	0,083
Direktni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	3,69	1,64	1,60	7,60	3,30	0,008
Feritin ($\mu\text{g/l}$)	3,27	1,09	1,90	5,40	3,10	0,001

Legenda: ALP - alkalna fosfataza, AST - aspartat-amino-tranferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT - gama-glutamil-transferaza, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi bez NAFLD svi ispitivani parametri ne prate normalnu distribuciju.

U tabeli 51. su prikazani rezultati poređenja markera disfunkcije hepatocita u grupi ispitanika sa i bez NAFLD. Utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti AST ($27,24 \pm 8,15$ vs $22,92 \pm 6,00$ U/L) i ALT ($37,14 \pm 17,39$ vs $27,00 \pm 11,04$ U/L) u grupi ispitanika sa NAFLD u odnosu na grupu bez NAFLD.

Tabela 51: Testiranje razlike između markera disfunkcije hepatocita između grupe sa NAFLD (n=21) i grupe bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
ALP (U/L)	99,76 ± 54,73	87,92 ± 53,60	0,204 **
AST (U/L)	27,24 ± 8,15	22,92 ± 6,00	0,016 ¹ **
ALT (U/L)	37,14 ± 17,39	27,00 ± 11,04	0,024 ¹ **
AST/ALT	0,89 ± 0,59	0,94 ± 0,38	0,113 **
GGT (U/L)	38,62 ± 18,43	31,03 ± 18,86	0,139 **
Ukupni bilirubin (μmol/l)	11,00 ± 3,46	12,46 ± 5,60	0,285 *
Direktni bilirubin (μmol/l)	3,27 ± 1,10	3,69 ± 1,64	0,538 *
Feritin (μg/l)	170,26 ± 134,48	3,27 ± 1,09	0,228 **

Legenda: ALP - alkalna fosfataza, AST - aspartat-amino-transferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT - gama-glutamil-transferaza, * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p<0,05 ² – p<0,001

4.5.3. Parametri inflamacije u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Parametari inflamacije u ispitivanoj grupi sa i bez NAFLD prikazani su u tabelama 52 i 53. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 52. Parametri inflamacije u grupi sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leukociti (n)	7,25	2,37	4,20	13,0	6,80	0,200
Neutrofili (n)	3,79	1,28	1,62	5,95	3,47	0,200
Limfociti (n)	2,69	1,11	0,54	5,83	2,44	0,004
Neutrofili/limfociti	1,62	0,93	0,69	4,96	1,42	0,005
hsCRP (mg/l)	4,06	2,98	0,20	11,00	3,30	0,200
Fibrinogen (g/l)	3,29	0,80	2,24	4,82	3,27	0,200
TNF- α (pg/ml)	4,74	6,69	0,02	31,49	3,19	0,002
Albumini (g/l)	65,26	4,02	57,70	73,70	66,30	0,200
α_1 -globulini (g/l)	5,05	13,78	1,50	65,20	2,10	0,000
α_2 -globulini (g/l)	8,54	1,74	2,30	10,80	8,70	0,029
β_1 -globulini (g/l)	7,01	0,88	6,00	9,20	6,80	0,200
β_2 -globulini (g/l)	4,27	0,92	2,80	6,70	4,30	0,200
γ -globulini (g/l)	12,76	2,52	8,00	19,00	12,50	0,200

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotišući faktor alfa, p>0,05 - varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika sa NAFLD broj leukocita, neutrofila kao i vrednosti hsCRP, fibrinogena, ukupnih proteina, albumina, β_1 -globulina, β_2 -globulina i γ -globulina prate normalnu distribuciju.

Tabela 53. Parametri inflamacije u grupi bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leukociti (n)	7,28	1,97	4,50	12,60	6,90	0,200
Neutrofili (n)	3,90	1,44	1,93	8,06	3,35	0,003
Limfociti (n)	2,64	0,75	1,47	5,18	2,63	0,026
Neutrofili/limfociti	1,52	0,50	0,64	2,86	1,50	0,200
hsCRP (mg/l)	4,39	5,96	0,10	33,00	2,10	0,000
Fibrinogen (g/l)	3,33	0,77	1,51	4,94	3,25	0,200
TNF- α (pg/ml)	5,80	6,14	0,02	27,11	4,65	0,001
Albumini (g/l)	65,07	3,37	59,40	71,00	65,10	0,200
α_1 -globulini (g/l)	2,07	0,39	1,10	3,00	2,10	0,104
α_2 - globulini (g/l)	9,01	0,92	7,00	10,30	9,00	0,200
β_1 - globulini (g/l)	6,76	0,75	5,50	8,50	6,70	0,200
β_2 – globulini (g/l)	3,92	0,68	2,60	5,10	3,90	0,200
γ – globulini (g/l)	13,16	2,49	8,00	18,00	13,00	0,200

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotišući faktor alfa, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD broj leukocita, odnos neutrofili/limfociti, vrednosti fibrinogena, albumina, α_1 -globulina, α_2 - globulina, β_1 - globulina, β_2 – globulina i γ – globulina prate normalnu distribuciju.

U tabeli 54. su prikazani rezultati poređenja markera inflamacije između ispitanika sa NAFLD i bez NAFLD. Nisu bile prisutne signifikantne razlike između ispitivanih parametara inflamacije.

Tabela 54. Testiranje razlike između grupe sa NAFLD (n=21) i grupe bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
Leukociti (n)	7,25 ± 2,37	7,28 ± 1,97	0,955 *
Neutrofili (n)	3,79 ± 1,28	3,90 ± 1,44	0,923 **
Limfociti (n)	2,69 ± 1,11	2,64 ± 0,75	0,771 **
Neutrofili/limfociti	1,62 ± 0,93	1,52 ± 0,50	0,802 **
hsCRP (mg/l)	4,06 ± 2,98	4,39 ± 5,96	0,365 **
Fibrinogen (g/l)	3,29 ± 0,80	3,33 ± 0,77	0,686 **
TNF- α (pg/ml)	4,74 ± 6,69	5,80 ± 6,14	0,377 **
Albumini (g/l)	65,26 ± 4,02	65,07 ± 3,37	0,849 *
α_1 -globulini (g/l)	5,05 ± 13,78	2,07 ± 0,39	0,333 *
α_2 - globulini (g/l)	8,54 ± 1,74	9,01 ± 0,92	0,386 **
β_1 - globulini (g/l)	7,01 ± 0,88	6,76 ± 0,75	0,263 *
β_2 – globulini (g/l)	4,27 ± 0,92	3,92 ± 0,68	0,100 *
γ – globulini (g/l)	12,76 ± 2,52	13,16 ± 2,49	0,553 *

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotičući faktor alfa, *-T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – p<0,05, ² – p<0,001

4.5.4. Parametri metabolizma lipida u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Parametri metabolizma lipida u ispitivanoj grupi sa i bez NAFLD su prikazani u tabelama 55 i 56. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 55. Parametri metabolizma lipida u grupi sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Uk. holesterol (mmol/l)	5,63	0,89	4,40	7,51	5,51	0,200
Trigliceridi (mmo/l)	2,01	0,71	0,70	3,67	1,76	0,153
LDL-holesterol (mmol/l)	3,52	0,80	2,01	4,95	3,44	0,200
HDL-holesterol (mmol/l)	1,20	0,28	0,73	1,85	1,14	0,145
Trigliceridi/HDL-holesterol	1,85	1,02	0,46	4,45	1,52	0,051
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	4,43	0,80	3,28	5,85	4,33	0,200
Apo A-I (g/l)	1,40	0,20	1,14	1,80	1,38	0,123
Apo B (g/l)	1,16	0,18	0,78	1,46	1,15	0,200
Apo B/A-I	0,84	0,17	0,54	1,20	0,83	0,200
Lp(a) (g/l)	0,28	0,08	0,01	1,07	0,32	0,000

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo - apolipoprotein, Lp(a) - lipoprotein Lp(a), p>0,05 - varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD svi parametri osim HDL-holesterola i Lp(a) prate normalnu distribuciju.

Tabela 56. Parametri metabolizma lipida u grupi bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Uk. holesterol (mmol/l)	5,70	1,16	3,81	8,61	5,56	0,200
Trigliceridi (mmo/l)	1,84	0,97	0,75	4,33	1,65	0,115
LDL-holesterol (mmol/l)	3,63	1,10	1,45	5,79	3,52	0,200
HDL-holesterol (mmol/l)	1,23	0,39	0,70	2,99	1,16	0,000
Trigliceridi/HDL-holesterol	1,71	1,27	0,25	6,19	1,42	0,000
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	4,47	1,15	2,05	6,80	4,36	0,200
Apo A-I (g/l)	1,38	0,24	1,06	2,32	1,35	0,005
Apo B (g/l)	1,14	0,30	0,58	2,02	1,10	0,180
Apo B/A-I	0,84	0,26	0,37	1,68	0,80	0,117
Lp(a) (g/l)	0,21	0,24	0,01	1,00	0,13	0,000

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo - apolipoprotein, Lp(a) - lipoprotein Lp(a), $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD vrednosti ukupnog holesterola, triglicerida, LDL-holesterola, HDL-holesterola, non-HDL-holesterola, apo B i odnos apoB/A-I prate normalnu distribuciju.

U tabeli 57. su prikazani rezultati poređenja parametara lipidskog statusa između ispitivane grupe sa i bez NAFLD. Nisu bile prisutne signifikantne razlike između ispitivanih parametara metabolizma lipida.

Tabela 57. Testiranje razlike parametara metabolizma lipida između grupe sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
Uk. holesterol (mmol/l)	5,63 ± 0,89	5,70 ± 1,16	0,806 *
Trigliceridi (mmo/l)	2,01 ± 0,71	1,84 ± 0,97	0,498 *
LDL-holesterol (mmol/l)	3,52 ± 0,80	3,63 ± 1,10	0,690 *
HDL-holesterol (mmol/l)	1,20 ± 0,28	1,23 ± 0,39	0,740 **
Trigliceridi/HDL-holesterol	1,85 ± 1,02	1,71 ± 1,27	0,312 **
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	4,43 ± 0,80	4,47 ± 1,15	0,889 *
Apo A-I (g/l)	1,40 ± 0,20	1,38 ± 0,24	0,662 **
Apo B (g/l)	1,16 ± 0,18	1,14 ± 0,30	0,926 *
Apo B/A-I	0,84 ± 0,17	0,84 ± 0,26	0,898 *
Lp(a) (g/l)	0,28 ± 0,08	0,21 ± 0,24	0,961 **

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo - apolipoprotein, Lp(a)- lipoprotein Lp(a), *- T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.5.5. Parametri metabolizma glukoze u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Parametari metabolizma glukoze u grupi ispitanika sa i bez NAFLD prikazani su u tabelama 58 i 59. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 58. Parametri metabolizma glukoze u grupi sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Glukoza (mmol/l)	5,81	0,82	4,70	7,90	5,50	0,071
Insulin (mI/l)	18,41	9,43	4,8	39,8	16,1	0,200
HOMA-IR	4,85	2,99	1,15	13,79	4,03	0,126
HOMA-%B (%)	170,77	89,60	50,53	321,67	155,00	0,071

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika sa NAFLD svi parametri prate normalnu distribuciju.

Tabela 59. Parametri metabolizma glukoze u grupi bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Glukoza (mmol/l)	5,51	1,04	4,50	11,00	5,30	0,008
Insulin (mI/l)	15,43	8,66	2,90	48,8	13,30	0,048
HOMA-IR	3,79	2,19	0,657	11,93	3,47	0,052
HOMA-%B (%)	169,18	98,43	36,25	488,0	134,4	0,008

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD samo vrednosti HOMA-IR prate normalnu distribuciju.

U tabeli 60. su prikazani rezultati poređenja parametara metabolizma glukoze između grupe ispitanika sa i bez NAFLD. Utvrđeno je postojanje statistički značajno više vrednosti glukoze ($5,81 \pm 0,82$ vs $5,51 \pm 1,04$ mmo/l) u ispitivanoj grupi sa NAFLD u odnosu na grupu bez NAFLD.

Tabela 60. Testiranje razlike parametara metabolizma glukoze između grupe sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
Glukoza (mmol/l)	5,81 ± 0,82	5,51 ± 1,04	0,044 ¹ **
Insulin (mI/l)	18,41 ± 8,66	15,43 ± 8,66	0,182 **
HOMA-IR	4,85 ± 2,19	3,79 ± 2,19	0,126 *
HOMA-%B	170,77 ± 98,43	169,18 ± 98,43	0,981 **

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze),*-T-test nezavisnih uzoraka,**- Mann-Whitney test, ¹ – p< 0,05, ² – p<0,001

4.5.6. Parametri endotelne disfunkcije grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Ispitivani parametri endotelne disfunkcije u grupi ispitanika sa i bez NAFLD prikazani su u tabelama 61 i 62. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 61. Parametri endotelne disfunkcije u grupi sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Homocistein (μmol/l)	10,32	3,03	6,1	16,4	10,0	0,200
ADMA (μmol/l)	0,67	0,11	0,47	0,96	0,67	0,200

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, p>0,05 - varijable prate normalnu distribuciju, p<0,05 – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi sa NAFLD svi parametri prate normalnu distribuciju.

Tabela 62. Parametri endotelne disfunkcije u grupi bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Homocistein (μmol/l)	10,65	2,62	5,8	15,2	10,3	0,200
ADMA (μmol/l)	0,66	0,26	0,37	2,05	0,63	0,000

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U ispitivanoj grupi bez NAFLD vrednosti homocisteina prati normalnu distribuciju.

Statistički značajnih razlika između ispitivanih parametara endotelne disfunkcije između grupa sa NAFLD i bez NAFLD nije bilo (tabela 63).

Tabela 63. Testiranje razlike parametara endotelne disfunkcije između grupe sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	10,32 \pm 3,03	10,65 \pm 2,62	0,681 *
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0,67 \pm 0,11	0,66 \pm 0,26	0,201 **

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, *-T-test nezavisnih uzoraka,**- Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.5.7. Parametri adipokinskog profila u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Ispitivani parametri adipokinskog profila u grupi ispitanika sa i bez NAFLD prikazani su u tabelama 64 i 65. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 64. Parametri adipokinskog profila u grupi sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leptin (ng/ml)	42,95	43,39	6,58	176,53	20,77	0,000
Adiponektin ($\mu\text{g/ml}$)	6,22	4,39	1,51	19,85	5,73	0,196

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika sa NAFLD vrednosti adiponektina prate normalnu distribuciju.

Tabela 65. Parametri adipokinskog profila u grupi bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Leptin (ng/ml)	31,59	32,78	1,22	169,93	20,38	0,000
Adiponektin ($\mu\text{g/ml}$)	7,45	4,39	2,10	17,94	6,13	0,021

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD parametri ne prate normalnu distribuciju.

U tabeli 66. su prikazani rezultati poređenja parametara ispitivanih adipokina u ispitivanoj grupi sa i bez NAFLD. Signifikantne razlike nisu bile prisutne.

Tabela 66. Testiranje razlike parametara adipokinskog profila između grupe sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm SD$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm SD$	p
Leptin (ng/ml)	42,95 ± 43,39	31,59 ± 32,78	0,312 **
Adiponektin (µg/ml)	6,22 ± 4,39	7,45 ± 4,39	0,219 **

Legenda: * - T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.5.8. Ostali ispitivani biohemijski parametri u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

Ostali biohemijski parametri u ispitivanoj grupi sa i bez NAFLD prikazani su u tabelama 67 i 68. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 67. Ostali ispitivani biohemijski parametri u grupi sa NAFLD (n=21)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Urea (µmol/l)	5,05	1,16	2,40	7,10	5,10	0,155
Kreatinin (µmol/l)	84,57	14,95	60,00	107,00	88,00	0,200
Mokraćna kiselina (µmol/l)	381,81	84,76	196,00	556,00	397,00	0,200

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika sa NAFLD svi ispitivani parametri prate normalnu distribuciju.

Tabela 68. Ostali ispitivani biohemijski parametri u grupi bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	4,90	1,00	2,50	7,30	5,00	0,200
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	78,11	13,42	55,00	108,00	76,00	0,087
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	335,30	84,76	201,00	559,00	321,00	0,009

Legenda: $p > 0,05$ - varijable prate normalnu distribuciju, $p < 0,05$ – varijable ne prate normalnu distribuciju

U grupi ispitanika bez NAFLD urea, kreatinin i ukupni bilirubin prate normalnu distribuciju.

U tabeli 69. su prikazani rezultati poređenja ostalih biohemijskih parametara između ispitivane grupe sa i bez NAFLD. Utvrđeno je postojanje statistički značajno više vrednosti samo mokraćne kiseline ($381,81 \pm 84,76$ vs $335,30 \pm 84,76 \mu\text{mol/l}$) u odnosu na grupu ispitanika bez NAFLD. Ostali ispitivani paramateri se nisu razlikovali.

Tabela 69. Testiranje razlike ostalih ispitivani biohemijski parametri u grupi sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm \text{SD}$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm \text{SD}$	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	$5,05 \pm 1,16$	$4,90 \pm 1,00$	0,596 *
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	$84,57 \pm 14,95$	$78,11 \pm 13,42$	0,096 *
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	$381,81 \pm 84,76$	$335,30 \pm 84,76$	0,009 ¹ **

Legenda: *-T-test nezavisnih uzoraka, ** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.5.9. Analiza debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u grupi ispitanika sa nealkoholnom masnom bolesti jetre i bez nealkoholne masne bolesti jetre

U tabeli 70. je prikazana analiza parametara debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u ispitivanoj grupi sa i bez NAFLD. Kolmogorov-Smirnov testom je ispitana normalnost distribucije ispitivanih parametara.

Tabela 70. Analiza debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u grupi sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	\bar{X}	SD	Min	Max	Medijana	p
IMT (μm) – sa NAFLD	845,24	117,16	650	1100	850,0	0,198
IMT (μm) – bez NAFLD	797,30	116,00	650	1200	800,0	0,000

Legenda: $p > 0,05$ – normalna distribucija, $p < 0,05$ – nije normalna distribucija

U ispitivanoj grupi sa NAFLD vrednosti IMT prate normalnu distribuciju dok IMT u grupi ispitanika bez NAFLD ne prete normalnu distribuciju.

U tabeli 71. je prikazano testiranje razlike između debljine intima medija kompleksa zajedničke karotidne arterije između grupe ispitanika sa i bez NAFLD. Signifikantnih razlika nije bilo između te dve grupe.

Tabela 71. Testiranje razlike između debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije u grupi sa NAFLD (n=21) i bez NAFLD (n=37)

Parametar	NAFLD $\bar{X} \pm \text{SD}$	Bez NAFLD $\bar{X} \pm \text{SD}$	p
IMT (μm)	845,24 \pm 117,16	797,3 \pm 116,0	0,075

Legenda: *-T-test nezavisnih uzoraka, **- Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.6. Korelaciona analiza između prisutnosti i stepena NAFLD i analiziranih parametara

Kod ispitanika sa metaboličkim sindromom njih 37 (63,80%) nije imalo hepatičnu steatozu, a od preostalih 21 osobe njih 8 (13,79%) je imalo stepen 1 hepatične steatoze, njih 10 (17,24%) stepen 2 hepatične steatoze i njih 3 (5,17%) stepen 3 hepatične steatoze.

4.6.1. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i antropometrijskih pokazatelja

Statistički značajna povezanost umerene jačine je utvrđena između prisutnosti i stepena hepatične steatoze i vrednosti TM ($r=0,408$, $p=0,000$), BMI ($r=0,358$, $p=0,000$), OS ($r=0,389$,

$p=0,000$), OK ($r= 0,277$, $p=0,001$) kao i odnosa OS/OK ($r= 0,306$, $p=0,000$) a povezanost slabe jačine prisutna je sa sistolnim ($r=0,241$, $p=0,000$) kao i dijastolnim ($r=0,238$, $p=0,000$) krvnim pritiskom (tabela 72).

Tabela 72. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i antropometrijskih pokazatelja

Antropometrijski pokazatelji	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
TM (kg)	0,408	0,000 ²
TV (cm)	0,087	0,316
BMI (kg/m ²)	0,358	0,000 ²
OS (cm)	0,389	0,000 ²
OK (cm)	0,277	0,001 ¹
OS/OK	0,306	0,000 ²
Sistolni TA (mmHg)	0,241	0,000 ²
Dijastolni TA (mmHg)	0,238	0,000 ²

Legenda: TM - telesna masa, TV - telesna visina, BMI - indeks telesne mase, OS - obim struka, OK - obim kuka, TA - krvni pritisak, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.6.2. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera disfunkcija hepatocita

Od markera disfunkcije hepatocita statistički značajna povezanost umerene jačine je prisutna između prisustva i stepena hepatične steatoze i AST ($r=0,312$, $p=0,000$) i ALT ($r=0,302$, $p=0,001$), a slabe jačine sa i GGT ($r=0,278$, $p=0,001$). Statistički značajna negativna povezanost slabe jačine je bila prisutna između prisustva i stepena hepatične steatoze i odnosa AST/ALT ($r= -0,224$, $p=0,009$).

Tabela 73: Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera disfunkcije hepatocita

Markeri disfunkcije hepatocita	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
ALP (U/L)	0,017	0,846
AST (U/L)	0,312	0,000 ²
ALT (U/L)	0,302	0,001 ¹
AST/ALT (U/L)	-0,224	0,009 ¹
GGT (U/L)	0,278	0,001 ¹
Ukupni bilirubin (μmol/l)	-0,121	0,166
Direktni bilirubin (μmol/l)	-0,120	0,161
Feritin (μg/l)	0,155	0,069

Legenda: ALP - alkalna fosfataza, AST - aspartat-amino-transferaza, ALT - alanin-amino-transferaza, GGT - gama-glutamil-transferaza, * - T-test nezavisnih uzoraka,** - Mann-Whitney test, ¹ – $p < 0,05$ ² – $p < 0,001$

4.6.3. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera inflamacije

Statistički značajna povezanost slabe jačine je utvrđena je između prisutnosti i stepena hepatične steatoze i hsCRP ($r=0,249$ $p=0,004$), β_1 -globulina ($r=0,276$, $p=0,009$) kao i β_2 -globulina ($r=0,291$, $p=0,006$).

Tabela 74. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera infamacije

Markeri inflamacije	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
Leukociti (n)	0,058	0,593
Neutrofili (n)	0,079	0,466
Limfociti (n)	0,034	0,752
Neutrofili/limfociti	0,013	0,906
hsCRP (mg/l)	0,249	0,004 ¹
Fibrinogen (g/l)	0,088	0,300
TNF- α (ng/ml)	-0,034	0,695
Albumini (g/l)	0,041	0,706
α_1 -globulini (g/l)	0,037	0,733
α_2 -globulini (g/l)	0,033	0,759
β_1 -globulini (g/l)	0,276	0,009 ¹
β_2 -globulini (g/l)	0,291	0,006 ¹
γ -globulini (g/l)	-0,035	0,743

Legenda: hsCRP - visoko senzitivni C-reaktivni protein, TNF- α - tumor nekrotišući faktor alfa,
¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.6.4. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera endotelne disfunkcije

Statistički značajna korelacija slabe jačine postoji između prisustva i stepena hepatične steatoze i ADMA ($r=0,244$, $p=0,004$) (tabela 75).

Tabela 75. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i markera endotelne disfunkcije

Markeri endotelne disfunkcije	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
Homocistein ($\mu\text{mol/l}$)	-0,062	0,465
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0,244	0,004 ¹

Legenda: ADMA – asimetrični dimetil arginin, ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.6.5. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i ispitivanih adipokina

Statistički značajna pozitivna korelacija umerene jačine je prisutna između prisustva i stepena hepatične steatoze i odnosa leptin/adiponektin ($r=0,386$, $p=0,000$) a slabe jačine između prisustva i stepena hepatične steatoze i leptina ($r=0,204$, $p=0,016$). Statistički značajna negativna korelacija slabe jačine prisutna je između prisustva i stepena hepatične steatoze i adiponektina ($r=0,181$, $p=0,016$) (tabela 76).

Tabela 76. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i ispitivanih adipokina

Adipokini	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
Leptin (pg/ml)	0,204	0,016 ¹
Adiponektin (ng/ml)	-0,181	0,033 ¹
Leptin/adiponektin	0,386	0,000 ²

Legenda: ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.6.6. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i parametara metabolizma glukoze

Statistički značajna povezanost slabe jačine je utvrđena između stepena i prisustva hepatične steatoze i glikemije ($r=0,287$, $p=0,001$), insulinemije ($r=0,256$, $p=0,003$) i HOMA-IR ($p=0,276$, $p=0,001$) (tabela 77).

Tabela 77. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i parametara metabolizma glukoze

Parametri metabolizma glukoze	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
Glukoza (mmol/l)	0,287	0,001 ²
Insulin (mI/l)	0,256	0,003 ¹
HOMA-IR	0,276	0,001 ²
HOMA-B	0,089	0,298

Legenda: HOMA-IR – indeks insulinske rezistencije (model homeostaze), HOMA1-%B - sekretorni indeks insulina (model homeostaze), ¹ – p< 0,05, ² – p<0,001

4.6.7. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i parametara lipidskog statusa

Statistički značajna povezanost slabe jačine utvrđena je između prisustva i stepena hepatične steatoze i trigliceridemije (r=0,293, p=0,001), odnosa trigliceridi/HDL-holesterol (r=0,246, p=0,004) kao i apolipoproteina B (r=0,212, r=0,013) (tabela 78).

Tabela 78. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i parametara lipidskog statusa

Parametri metabolizma lipida	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
Uk. holesterol (mmol/l)	0,089	0,298
Trigliceridi (mmo/l)	0,293	0,001 ¹
LDL-holesterol (mmol/l)	0,062	0,468
HDL-holesterol (mmol/l)	-0,104	0,222
Trigliceridi/HDL-holesterol	0,246	0,004 ¹
Non-HDL-holesterol (mmol/l)	0,138	0,104
Apo A-I (g/l)	0,041	0,635
Apo B (g/l)	0,212	0,013 ¹
Apo B/A-I	0,131	0,126
Lp(a) (g/l)	0,034	0,695

Legenda: Uk. holesterol – ukupni holesterol, apo - apolipoprotein, Lp(a)- lipoprotein Lp(a), ¹ – p<0,05, ² – p<0,001

4.6.8. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i ostalih ispitivanih parametara biohemijskih parametara

Statistički značajna povezanost umerene jačine utvrđena je između prisustva i stepena hepatične steatoze i mokraćne kiseline (r=0,302, p=0,000).

Tabela 79. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i ostalih ispitivanih biohemijskih parametara

Ostali biohemijski markeri	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
Urea ($\mu\text{mol/l}$)	0,052	0,545
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	0,107	0,213
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/l}$)	0,302	0,000 ²

Legenda: ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

4.6.9. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije

Statistički značajna povezanost slabe jačine utvrđena je između prisustva i stepena hepatične steatoze i debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije ($r=0,277$, $p=0,002$).

Tabela 80. Korelaciona analiza između prisustva i stepena hepatične steatoze i debljine intima-medija kompleksa zajedničke karotidne arterije

IMT	Prisustvo i stepen hepatične steatoze	
	r	p
IMT (cm)	0,277	0,002 ¹

Legenda: ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,001$

5. DISKUSIJA

Metabolički sindrom je klaster faktora rizika metaboličkog porekla koji je udružen sa povećanim rizikom za nastanak aterosklerotske bolesti kardiovaskularnog sistema i dijabetes melitusa tipa 2 (14). Insulinska rezistencija, abdominalna gojaznost, aterogena dislipidemija, hipertenzija, proinflamatorno i protrombotično stanje su faktori koji su u osnovi metaboličkog sindroma.

Prevalencija metaboličkog sindroma je visoka (10-40% u svetskoj populaciji) i poznata je činjenica da prisustvo metaboličkog sindroma duplira rizik od nastanka aterosklerotske bolesti kardiovaskularnog sistema (10). Ateroskleroza je proces koji dovodi do zadebljanja arterijske intime usled formiranja kašaste kolekcije bogate lipidima, kolagenom i različitim tipovima ćelija u subendotelnom prostoru (258). Kontinuirano praćen inflamacijom, proces evoluirao od endotelne disfunkcije, subendotelnog nagomilavanja makrofaga prepunjenih lipidima preko proliferacije i migracije glatkih mišićnih ćelija, ekstraćelijske akumulacije lipida, ćelijske nekroze i apoptoze, procesa kalcifikacije sve do intimalne destrukcije i arterijske tromboze sa posledičnom ishemijom ciljnog organa. Efekat metaboličkog sindroma na vaskularni zid daleko prevazilazi efekte na endotel i ćelije glatkih mišića, već podrazumeva sumirani uticaj na monocite/makrofage, trombocite, lipoproteine, produkciju i funkciju lokalnih vazoaktivnih supstanci, mehanizam koagulacije, kao i na lokalni odgovor krvnog suda na hipoksiju i stvaranje kolateralnih krvnih sudova (259). Komponente metaboličkog sindroma predstavljaju faktore rizika za aterosklozu i njihovo produženo i udruženo delovanje može doprineti kliničkoj manifestaciji ateroskleroze. U disfunkcionalnim masnim depozitima postoji hronična inflamacija niskog stepena koja zajedno sa insulinskom rezistencijom i dislipidemijom može imati značajnu ulogu u patogenezi ateroskleroze. Stoga je jasna potreba za identifikacijom cirkulišućih biomarkera koji bi omogućili procenu rizika za nastanak aterosklerotske bolesti kardiovaskularnog sistema kod osoba sa metaboličkim sindromom i omogućili pravovremenu prevenciju njenih komplikacija.

Abdominalna gojaznost, dijabetes melitus tip 2, insulinska rezistencija, hipertenzija i dislipidemija - tipične komponente metaboličkog sindroma su stanja često udružena sa NAFLD i njihovo sadejstvo kod iste osobe povećava verovatnoću progresije NAFLD (252). Veza između NAFLD i metaboličkog sindroma je u poslednje vreme naročito dobila na značaju zbog moguće uloge NAFLD u razvoju kardiovaskularnih bolesti (272).

Cilj ovog istraživanja bio je najpre da se ispita značaj pojedinih markera endotelne disfunkcije (ADMA i homocistein), inflamacije (TNF- α , hsCRP, fibrinogen, broj leukocita, neutrofila i limfocita, odnos neutrofililimfociti i frakcije serumskih proteina) i adipokina (leptin i adiponektin) na debljinu IMT zajedničke karotidne arterije kod osoba sa metaboličkim sindromom. Osim toga, izvršeno je i ispitivanje značaja pojedinih parametara metabolizma lipida (ukupni holesterol, trigliceridi, HDL-holesterol, LDL-holesterol, non-HDL-holesterol, trigliceridi/HDL-holesterol, apo B, apo AI i Lp(a) lipoprotein), parametara metabolizma ugljenih hidrata (glukoza, insulin, HOMA-IR i HOMA-%B), kao i uree, kreatinina i mokraćne kiseline, te antropometrijskih parametara (TV, TM, BMI, OS, OK i OS/OK).

S obzirom da je NAFLD jedno od stanja čija se uzročno-posledična veza sa metaboličkim sindromom kao i uloga u razvitku prevremene ateroskleroze još uvek ispituju, ispitivana je i povezanost između markera disfunkcije hepatocita (AST, ALT, GGT i odnos AST/ALT, ALP, bilirubin i feritin) i debljine IMT zajedničke karotidne arterije kao markera subkličičkog stadijuma ateroskleroze. Takođe, izvršena je procena prisustva i nivoa hepatične steatoze, i konačno, izvršeno je ispitivanje uticaja pojedinih ispitivanih biomarkera na pojavu i stepen hepatosteatoze u metaboličkom sindromu.

Analizom su obuhvaćeni ispitanici kod kojih je kliničkim i laboratorijskim ispitivanjem ustanovljeno prisustvo metaboličkog sindroma prema NCEP:ATP III kriterijumima (11), kao i normalno uhranjeni zdravi ispitanici komparabilni u odnosu na pol i životnu dob, koji su predstavljali kontrolnu grupu. U studiju su uključeni samo nepušači, osobe životne dobi od 18-55 godina, koje ne konzumiraju više od 20 g/dan alkohola, koje nemaju dijagnostikovan virusni hepatitis B ili C i nemaju pozitivan Hbs antigen, anti-Hbs antitela i anti-HCV antitela, zatim, da nisu pod medikamentnom terapijom koja može uticati na nivo serumskih biomarkera endotelne disfunkcije, inflamacije, disfunkcije hepatocita, lipidni i lipoproteinski status, glikoregulaciju i hormonski status, te da nemaju značajne promene u nivou fizičke aktivnosti, telesnoj masi i ishrani u poslednja tri meseca.

Debljina IMT zajedničke karotidne arterije je dobro poznati marker subkličičke ateroskleroze koji se može odrediti neinvazivnom metodom. Debljina IMT kompleksa je nezavistan faktor za predviđanje kardiovaskularnih bolesti, iako nedostatak metoda standardizacije i definisanja merenja je razlog njegove velike varijabilnosti i niske intraindividualne reproducibilnosti (265). Povezanost metaboličkog sindroma i povećane debljine IMT zajedničke karotidne arterije je dokazana u brojnim studijama (273).

Fakori rizika za aterosklerozu, koji se uobičajeno dele na nezavisne (povišen LDL-holesterol, snižen HDL-holesterol, hipertenzija, pušenje, dijabetes melitus, starost i muški pol),

predisponirajuće (gojaznost, pozitivna porodična anamneza, fizička neaktivnost i psihosocijalni faktori), i uslovne (povišeni trigliceridi, povišen sdLDL, povišen Lp(a), hiperhomocisteinemija, hiperglikemija, povećanje proinflamatornih i protrombogenih faktora), praktično su isprepletani sa komponentama metaboličkog sindroma (258).

Ispitanici u našoj studiji su bili srednje životne dobi, bez signifikantne razlike u godinama života između ispitivane i kontrolne grupe. Ispitivanjem je obuhvaćeno 58 osoba kod kojih je ustanovljen metabolički sindrom, 29 žena i 29 muškaraca. U ispitivanoj grupi prosečna starost je bila 42 godine (29-53). Kontrolnu grupu činilo je 30 zdravih ispitanika, 15 žena i 15 muškaraca, prosečne starosti 40,6 (31-50) godina. Odabirom ispitanika životne dobi od 18-55 godine nastojali smo da minimiziramo uticaj procesa starenja na krvne sudove jer, tokom starenja dolazi do intimalnog i medijalnog zadebljavanja kao i postepenog gubitka elastičnosti arterijskog zida. Starenje na krvnim sudovima dovodi do brojnih promena kao što su smanjenje broja glatkomišićnih ćelija, povećanje depozita kolagena i prekid elastične lamele što dovodi do dilatacije krvnog suda i povećanja njegovog lumena. Povećanje kolagena a smanjenje sadržaja elastina nastaje zbog glikacije proteina indukovane starenjem, matriks metaloproteinazne aktivnosti i angiotenzin II signalizacije koja posledično dovodi do hipertenzije (274). U studijama koje su vršile ispitivanja slične vrste, prosečna starost ispitanika i osoba kontrolne grupe je bila približno ista kao kod nas (275,276). U odnosu na polnu strukturu, u našoj studiji je zastupljenost oba pola bila podjednaka.

Analizom antropometrijskih parametara ustanovljeno je da su pokazatelji uhranjenosti i raspodele masnog tkiva ispitanika sa metaboličkim sindromom (TM, BMI, OS, OK, OS/OK) signifikantno viši u odnosu na kontrolnu grupu. Statistički značajna povezanost umerene jačine je utvrđena između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i vrednosti TM ($r=0,445$, $p=0,000$), BMI ($r=0,467$, $p=0,000$) i OS ($r=0,466$, $p=0,000$). Povezanost između gojaznosti a naročito abdominalne gojaznosti i debljine IMT zajedničke karotidne arterije i postojanja plaka je dokazana u različitim studijama (277, 278).

U nekim studijama je sugerisano da hiperglikemija i hiperinsulinemija aktiviraju RAAS povećavajući ekspresiju angiotenzinogena. Hiperinsulinemija dovodi do aktivacije simpatičkog nervnog sistema, povećavajući reapsorpciju natrijuma iz bubrega što dovodi do vazokonstrikcije arterija i posledične hipertenzije. Nedavno je otkriveno da adipociti mogu da proizvode aldosteron kao odgovor na angiotenzin. Stoga se adipocit može smatrati malim RAAS (194,195).

Kod naših ispitanika sa metaboličkim sindromom vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska su bile signifikantno više u odnosu na kontrolnu grupu. Takođe je ustanovljena

korelacija umerenog stepena između vrednosti sistolnog ($r=0,331$, $p=0,002$) i dijastolnog pritiska ($r=0,317$, $p=0,003$) i debljine IMT zajedničke karotidne arterije.

Značaj hipertenzije kao faktora rizika za aterosklerozu istaknut je i u studiji urađenoj u Finskoj na uzorku od 1353 ispitanika u kojoj je kod ispitanika sa metaboličkim sindromom pored signifikatno viših vrednosti sistolnog i dijastolnog pritiska, dokazana i korelacija IMT zajedničke karotidne arterije sa vrednostima sistolnog i dijastolnog kod žena, a kod muškaraca sistolnog pritiska (279). Populaciona studija preseka sprovedena na Sardiniji je utvrdila da je debljina IMT zajedničke karotidne arterije veća kod muškaraca i da značajno korelira sa starošću, vrednošću BMI i visinom sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska (280). Studija Kaula i sar., sprovedena među asimptomatskim pojedincima, ukazala je da postoji udruženost između arterijske hipertenzije i IMT zajedničke karotidne arterije (281). Studija Koa i sar., sprovedena među centralno gojaznim osobama u Hong Kongu, je ukazala da vrednost IMT zajedničke karotidne arterije značajno korelira sa vrednošću sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska (283). Slični rezultati su dobijeni i u drugim studijama (277,280).

U brojnim studijama dokazana je kritička uloga inflamacije i oksidativnog stresa u razvitku ateroskleroze. U 20 studija na 49097 pacijenata ustanovljena je veza između koncentracije hsCRP, fibrinogena, leukocita, monocita i debljine IMT zajedničke karotidne arterije (282). Podaci sugerišu da regrutovanje leukocita i ekspresija proinflamatornih citokina imaju ulogu u ranoj i kasnijoj fazi formiranja ateroma. Fibrinogen, hsCRP, serumski amiloid A, IL-6 i Lp-PLA2 mogu se koristiti u proceni rizika kod pacijenata sa karotidnom aterosklerozom (283). Sistemska inflamacija može biti osnova koja povezuje aterosklerotski proces i metabolički sindrom. Stoga je IDF predložio „Platinum standard“ dodatnih ispitivanja metaboličkih poremećaja u aterosklerozi koji uključuju procenu proinflamatornog statusa (IL-6, TNF- α), adipocitokina (leptin, adiponektin), HOMA-IR, slobodnih masnih kiselina, markera endotelne disfunkcije i protrombotičkog stanja (PAI-1, fibrinogen) kao i hormona kortikotropne osovine (13).

Smatra se da su arterijska hipertenzija, abdominalna gojaznost i insulinska rezistencija međusobno povezane putem endotelne disfunkcije i inflamacije u kojima glavnu ulogu imaju TNF- α , deplecija NO i prekomerno stvaranje slobodnih kiseoničnih radikala. Insulinska rezistencija i visceralna gojaznost su udružene sa prekomernim stvaranjem TNF- α u adipocitima. U brojnim studijama pokazano je da TNF- α utiče na uspostavljanje endotelne disfunkcije regulacijom proinflamatornih i prokoagulantnih puteva, stimulisanjem ekspresije tkivnog faktora i adhezivnih molekula za leukocite kao i oslobađanjem proinflamatornih citokina (127,128). Iako su u našem ispitivanju vrednosti TNF- α u grupi ispitanika sa

metaboličkim sindromom bile više u odnosu na kontrolnu grupu, razlika nije signifikatna, a izostala je i korelacija sa debljinom IMT zajedničke karotidne arterije. Moguće objašnjenje za ovo se nalazi u dosta strogim kriterijumima za odabir naših ispitanika, čak daleko strožijim nego u ostalim sličnim studijama, kao i u činjenici da TNF- α prvenstveno ispoljava udruženost sa prisustvom većih karotidnih plakova odnosno da je prvenstveno od značaja za procenu rizika u kasnijim fazama aterosklerotske bolesti (284).

Od ostalih inflamatornih biomarkera čiji smo značaj ispitivali, u našoj ispitivanoj grupi utvrđeno je postojanje najpre statistički značajno viših vrednosti leukocita i neutrofila što je i moglo biti očekivano jer je hronična niskostepena inflamacija karakteristika metaboličkog sindroma (285, 286). Brojne studije su pokazale da aktivacija i adhezija leukocita na endotel može dovesti do endotelne disfunkcije. Takvi leukociti promovisu stvaranje citokina i faktora rasta koji mogu dovesti do proliferacije glatkomišićnih ćelija i indukovati dalje vaskularno oštećenje (288). Sa druge strane, španska populaciona studija je pokazala da je broj leukocita, kao i broj neutrofila, limfocita i monocita povezan sa većom učestalošću metaboličkog sindroma (287). Još jedan od inflamatornih markera koji je potencijalan prediktor ateroskleroze je odnos između neutrofila/limfocita. Povećanje odnosa neutrofil/limfociti se može objasniti ne samo povećanim brojem neutrofila već i sniženjem broja limfocita. Neutrofili pacijenata sa dijabetesom pokazuju izraženiju nekrozu i povećano stvaranje slobodnih kiseoničnih radikala kao i sniženje hemotaktičkog odgovora. Iako nije ustanovljena signifikantna razlika u vrednosti odnosa neutrofil/limfociti u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu, utvrđeno je postojanje signifikantne pozitivne korelacije niskog stepena sa IMT ($r=0,187$, $p=0,014$).

U našoj ispitivanoj grupi sa metaboličkim sindromom ustanovili smo i signifikantno više vrednosti $\alpha 2$ -globulina, $\beta 1$ -globulina i $\beta 2$ -globulina u odnosu na kontrolnu grupu. U studiji Musića i sar. koji su ispitivali ove parametre kod ispitanika sa dijabetes melitusom i metaboličkim sindromom, u grupi koja je imala i dijabetes i metabolički sindrom bile su prisutne signifikantno više vrednosti $\alpha 2$ -globulina (289). Vrednosti albumina su bile signifikantno niže u odnosu na kontrolnu grupu. U različitim istraživanjima dobijeni su oprečni rezultati. Bae i sar., su pokušali da objasne da je veza između nivoa serumskog albumina i insulinske rezistencije posledica povećane sinteze albumina u jetri zbog hiperinsulinemije koja stimuliše proizvodnju albumina u hepatocitima (290). Japanska studija je pokazala da albumin ima kardioprotektivan efekat, uglavnom zbog svoje antioksidativne i zaštitne uloge u hroničnoj inflamaciji. Njegova uloga u metaboličkom sindromu je još uvek diskutabilna i zavisi od brojnih faktora (291).

Adipokini i inflamatorni citokini kao što su IL-6 i TNF- α stimulišu proizvodnju CRP u jetri. U brojnim studijama dokazano je da pored tradicionalnih faktora rizika hsCRP i fibrinogen imaju aditivnu vrednost u proceni rizika na nastanak kardiovaskularnih bolesti, kao i da su povezani sa razvojem ili prisustvom subkliničke aterosklerotske bolesti (288,292-296). Dodavanje hsCRP i/ili fibrinogena tradicionalnim faktorima rizika dovodi do bolje procene rizika naročito kod osoba sa intermedijarnim rizikom (294). Kod naših ispitanika ispitivani parametri inflamacije hsCRP i fibrinogen su bili signifikantno viši u ispitivanoj u odnosu na kontrolnu grupu. Statistički značajna pozitivna korelacija slabe jačine utvrđena je između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i hsCRP ($r=0,263$ $p=0,001$). U modelu logističke regresije gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm od parametara inflamacije samo hsCRP ima statistički značajan uticaj na predviđanje debljine IMT zajedničke karotidne arterije (Exp (B) 1,112).

U insulinskoj rezistenciji, prekomerno stvaranje insulina promovise aktivaciju MAP-kinaze i inhibiciju PI3K. Ovaj disbalans dobodi do redukcije u stvaranju NO, endotelne disfunkcije i translokacije GLUT-4 i posledičnog smanjenog preuzimanja glukoze u skeletnim mišićima i masnom tkivu. MAP-kinaza put je i dalje aktivan i kao i stvaranje endotelina-1, ekspresija adhezionih molekula i mitogena stimulacija glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova što promovise nastanak ateroskleroze (20).

U cilju ispitivanja procene insulinske rezistencije koja je u osnovi metaboličkog sindroma ispitivani su pokazatelji metabolizma glukoze. Očekivano, ispitanici sa metaboličkim sindromom su imali signifikantno više vrednosti glikemije, insulinemije, HOMA-%B i HOMA-IR u odnosu na kontrolnu grupu. U visokom procentu naši ispitanici imaju insulinsku rezistenciju na nivou jetre (46/58). U brojnim studijama je opisan značaj insulinske rezistencije u nastanku i progresiji kardiovaskularnih bolesti (297,298). U našoj studiji pozitivna korelacija umerenog stepena je utvrđena između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i glikemije ($r=0,306$, $p=0,000$). Korelacija slabog stepena je prisutna između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i insulinemije ($r=0,239$, $p=0,025$), kao i HOMA-IR ($r=0,270$, $p=0,000$). U regresionom modelu u kojem je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm nivo glukoze ima statistički značajan uticaj na predviđanje debljine IMT zajedničke karotidne arterije (Exp (B) 1,973). Prema modelu neuronalne mreže gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm ustanovili smo takođe da glukoza ima 100% normalizovanu važnost u mogućnosti predviđanja debljine IMT zajedničke karotidne arterije.

U uslovima insulinske rezistencije dolazi do povećanog priliva masnih kiselina u jetru i povećane sinteze triglicerida u jetri. Smanjenje koncentracije lipoproteinske lipaze koju promovise povećanje TNF- α doprinosi hipertrigliceridemiji više nego povećana sinteza VLDL čestica. Ovo sve dovodi do promene lipoproteinskog profila tj. do aterogene dislipidemije (povišenje triglicerida, sniženje HDL-holesterola, povišenje nivoa apolipoproteina B i sdLDL) (189,190). U našoj grupi ispitanika utvrđeno je postojanje signifikantno viših vrednosti ukupnog holesterola, triglicerida, LDL-holesterola i non-HDL-holesterola kao i odnosa trigliceridi/HDL-holesterol, dok su vrednosti HDL-holesterola bile signifikantno niže u ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu.

Zbog preraspodele LDL-čestica u metaboličkom sindromu i prisusva sdLDL koje su aterogenije u odnosu na LDL-holesterol iako sadrže manje holesterola, određivanje apo B ima bolju moć prikazivanja aterogenog potencijala. S obzirom da svaka čestica u čijem sastavu se nalazi apoB ima samo jedan molekul ovog proteina on predstavlja direktnu meru broja prisutnih aterogenih čestica u cirkulaciji. U metaboličkom sindromu koncentracije LDL-holesterola mogu biti blago povišene ili čak normalne dok su vrednosti apolipoproteina B izrazitije povećane zbog predominacije sdLDL (259). U našoj grupi ispitanika vrednosti apo B kao i odnosa apoB/A-I i Lp(a) lipoproteina su bile signifikantno više u odnosu na kontrolnu grupu. Signifikantnih razlika između vrednosti apoA-I između grupe ispitanika sa metaboličkim sindromom i kontrolne grupe nije bilo.

Rezultati studija poslednjih godina ukazuju na značaj udruženosti povišenja koncentracija apoB i sniženja koncentracija apo A-I i incidence kardiovaskularnih bolesti (299-303). U našoj grupi signifikantna povezanost slabe jačine utvrđena je između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i ukupnog holesterola ($r=0,205$, $p=0,049$), non-HDL-holesterola ($r=0,219$, $p=0,040$) i apoB ($r=0,213$, $p=0,043$). Ovakav odnos između apoB i debljine IMT zajedničke karotidne arterije kao i non-HDL-holesterola je ustanovljen i u Češkoj studiji na 798 ispitanika sa dislipidemijom (277).

Akumulacija visceralnog masnog tkiva u abdominalnoj gojaznosti dovodi do disregulacije masnog tkiva i prekomerne proizvodnje adipokina kao što su leptin i rezistin, kao i do smanjene sekrecije adiponektina (259). Različitim patofiziološkim mehanizmima se može objasniti aterogeni efekat promenjenog adipokinskog profila u gojaznosti.

Brojne studije su se bavile ispitivanjem odnosa leptin i metabolički sindrom i većina njih je pokazala da su koncentracije leptina više kod pacijenata sa metaboličkim sindromom (275). U našoj grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom ustanovili smo signifikantno više vrednosti leptina u odnosu na kontrolnu grupu. Povezanost slabe jačine utvrđena je između

debljine IMT zajedničke karotidne arterije i leptina ($r=0,171$ $p=0,0025$). U regresionom modelu gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm i prisutnost hepatične steatoze, leptin ima statistički značajan uticaj na predviđanje debljine IMT zajedničke karotidne arterije $\text{Exp}(B)$ 1,022. U modelu neuronske mreže u kojem je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije preko 0,09 cm i prisutnost hepatične steatoze, leptin ima 73% normalizovanu važnost u predviđanju debljine IMT a ALT 100% i ADMA 77%. U italijanskoj studiji Ciccone i sar., koncentracije leptina su pozitivno korelirale sa debljinom IMT zajedničke karotidne arterije sugerišući da povećanje leptina nepovoljno utiče na razvoj aterosklerotskog procesa (304).

Adiponektin povećava oksidaciju slobodnih masnih kiselina u skeletnim mišićima i jetri i dovodi do povećanja preuzimanja glukoze od strane skeletnih mišića i do smanjenja hepatičke produkcije glukoze (305). Različiti su mehanizmi kojima adiponektin deluje na povećanje insulinske senzitivnosti i na smanjenje nivoa glikemije. Adiponektin takođe deluje povoljno i na metabolizam lipoproteina, smanjivanjem nivoa triglicerida i porastom nivoa HDL-holesterola. On podstiče katabolizam lipoproteina bogatih trigliceridima, indirektno snižava nivo VLDL-holesterola i LDL-holesterola pojačavajući katabolizam apo B, olakšava efluks holesterola iz makrofaga, smanjuje katabolizam HDL-holesterola i utiče na njegov porast (306). Niži nivo adiponektina je povezan sa gojaznošću, insulinskom rezistencijom, metaboličkim sindromom, dijabetes melitusom i kardiovaskularnim bolestima (307). Adiponektin je adipokin sa antiaterogenim dejstvom koje se ostvaruje posredstvom njegovog delovanja na endotelnu funkciju, proliferaciju i migraciju vaskularnih glatkomišićnih ćelija, angiogenezu, inflamaciju i funkciju trombocita (305,306). U našoj grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom ustanovljene su signifikantno niže vrednosti adiponektina u odnosu na kontrolnu grupu što je u skladu sa rezultatima Ahirwara i sar. na indijskoj populaciji u kojoj su vrednosti adiponektina kod pacijenata sa metaboličkim sindromom bile signifikantno niže u odnosu na kontrolnu grupu (308).

Abdominalna gojaznost i insulinska rezistencija koje su u osnovi metaboličkog sindroma predstavljaju entitete u kojima su objedinjeni faktori rizika za nastanak disfunkcije vaskularnog endotela. Plazmatske koncentracije nekih biomarkera inflamacije, hemostaze i oksidativnog stresa se mogu koristiti kao indikatori endotelne disfunkcije. Među njima se nalaze cirkulišući P- i E-selektin, ICAM-1 i VCAM, oxLDL, PAI-1 i ADMA i Hcy. U nekoliko studija je otkriveno da je hiperhomocisteinemija udružena sa povećanom vrednosti debljine IMT zajedničke karotidne arterije ili prisustvom karotidnog plaka nezavisno od konvencionalnih faktora rizika (309,310,311) dok su druge studije opovrgle ovo (312,313).

Hcy doprinosi endotelnoj disfunkciji jer dovodi do smanjenja vazodilatacije posredovane sa NO, dovodi do proliferacije glatkih mišićnih ćelija i promene elastičnih karakteristika vaskularnog zida. U našoj, kao i u grupi ispitanika studije Srećkovića i sar. (314) ispitanici sa metaboličkim sindromom nisu imali signifikantno više vrednosti Hcy u odnosu na grupu ispitanika bez metaboličkog sindroma. Ipak, kada smo izdvojili grupu ispitanika sa hiperhomocisteinemijom ($>12 \mu\text{mol/l}$) ustanovili smo da je debljina IMT zajedničke karotidne arterije signifikantno viša u odnosu na grupu ispitanika sa normohomocisteinemijom ($\leq 12 \mu\text{mol/l}$).

Zbog metaboličke povezanosti između ADMA i Hcy, smatra se da ADMA može biti potencijalni medijator endotelne disfunkcije u hiperhomocisteinemiji. Metabolizam homocisteina i ADMA je isprepleten na nekoliko načina. Pretpostavljeno je da povećanje ADMA u hiperhomocisteinemiji može nastati kao posledica inhibitorynog efekta homocisteina na ekspresiju ili aktivaciju DDAH. Homocistein može direktno da se veže za DDAH i da smanji njenu aktivnost. Drugi mogući mehanizam za inhibiciju aktivnosti DDAH u hiperhomocisteinemiji je oksidativna inaktivacija Hcy indukovanih reaktivnih kiseoničnih radikala. Hcy može da reaguje sa NO da formira S-nitrozo-homocistein koji inaktivira DDAH (242).

ADMA je inhibitor NO sinteze. Potvrđeno je u studijama na animalnim modelima da ablacija DDAH 1 dovodi do umerenog povećanja ADMA (30-50%) ali i izražene endotelne disfunkcije, povećanog vaskularnog otpora i hipertenzije (315,316). Nasuprot tome miševi sa povećanom aktivnošću DDAH 1 i 2 su najverovatnije zaštićeni od vaskularnog oštećenja (317, 318). Ovo je potvrđeno i u kliničkim studijama (319). U našoj ispitivanoj grupi vrednosti ADMA su bile signifikantno više kod ispitanika sa metaboličkim sindromom u odnosu na kontrolnu grupu, ali je izostala signifikantna korelacija između ADMA i debljine IMT zajedničke karotidne arterije, slično sa rezultatima *Framingham offspring study* na 2958 ispitanika. Međutim, ustanovljena je signifikantna pozitivna korelacija slabe jačine između ADMA i debljine IMT unutrašnje karotidne arterije, kao i u *Framingham offspring study* (316). Ovo se može objasniti činjenicom da je region bulbosa i početni deo unutrašnje karotidne arterije osetljiviji na cirkulišuće faktore rizika nego zajednička karotidna arterija (326-330). Glavna fiziološka razlika između zajedničke i unutrašnje karotidne arterije je drugačiji tok krvi. Zbog anatomskih karakteristika laminarni tok u bulbusu je često poremećen i dovodi do poremećaja u ekspresiji i aktivaciji NO sintaze (316). Stoga se može zaključiti da je ova lokalizacija osetljivija na neadekvatnu NO sintezu zbog povišenih koncentracije ADMA.

Različita povezanost između nivoa ADMA i debljine IMT zajedničke i unutrašnje karotidne arterije može ukazati na veću prevalencu plaka u unutrašnjoj karotidnoj arteriji i veći uticaj ADMA.

Mokraćna kiselina predstavlja proizvod metabolizma purina i nastaje iz hipoksantina nakon dvostruke enzimske katalize uz pomoć enzima ksantin oksidaze u jetri. Njena proizvodnja je regulisana endogeno (nukleoproteini koji nastaju iz ćelijskog metabolizma) i egzogeno (dijetski prekursori proteina), dok ekskrecija zavisi od bubrežnog protoka plazme, jačine glomerularne filtracije i proksimalne tubulske zamene. Stoga poremećaj u njenom balansu nastaje ili zbog povećanog stvaranja mokraćne kiseline, kao što se dešava u metaboličkom sindromu ili konzumiranjem ishrane bogate fruktozom ili purinima, ili smanjenom bubrežnom ekskrecijom. Hiperurikemija je udružena sa kardiometaboličkim bolestima i bolestima udruženim sa metaboličkim sindromom. Nekoliko različitih studija je dokazalo povećanu zastupljenost metaboličkog sindroma kao i njegovih pojedinačnih komponenti u hiperurikemiji (325,326). Nekoliko različitih prospektivnih studija je dokazalo da je postojanje visokih nivoa mokraćne kiseline udruženo sa razvojem dijabetes melitusa tip 2 nezavisno od ostalih ispitivanih metaboličkih faktora rizika (325).

Povećano stvaranje mokraćne kiseline dovodi do inhibicije aktivnosti NOS i aktivacije cirkulišućih trombocita i posledične endotelne disfunkcije, ili do pogoršanja već postojeće endotelne disfunkcije (325). Prekomerna količina mokraćne kiseline u metaboličkom sindromu stimuliše makrofage na produkciju IL-6 i TNF- α i direktno stimuliše proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (325,325). U našoj grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom utvrđeno je postojanje statistički značajno viših vrednosti mokraćne kiseline u odnosu na kontrolnu grupu.

Zbog specifičnog nedovoljno definisanog uzročno-posledičnog odnosa između NAFLD i metaboličkog sindroma, kao i specifičnog doprinosa NAFLD povećanju rizika od kardiovaskularnih bolesti (327), jedan od ciljeva našeg istraživanja bio je i da se ispita odnos između NAFLD i metaboličkog sindroma, kao i povezanost NAFLD i debljine IMT zajedničke karotidne arterije kao markera subkliničke ateroskleroze.

NAFLD je stanje koje obuhvata spektar patoloških stanja od obične steatoze preko nealkoholnog steatohepatitisa do ciroze. NAFLD karakteriše ekscesivna akumulacija masti u hepatocitima. Teško je odvojiti NAFLD od faktora rizika koji su zajednički za NAFLD i kardiovaskularne bolesti. Populacija pacijenata sa NAFLD je vrlo heterogena, bolesnici sa NAFLD obično ispunjavaju i kriterijume za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma

(abdominalna gojaznost, hipertenzija, aterogena dislipidemija i disglukemija) i stoga imaju brojne faktore rizika za kardiovaskularne bolesti (272).

Kod naših ispitanika sa metaboličkim sindromom njih 37 (63,80%) nije imalo hepatičnu steatozu, a od preostale 21 osobe njih 8 (13,79%) je imalo stepen 1 hepatične steatoze, njih 10 (17,24%) stepen 2 hepatične steatoze i njih 3 (5,17%) stepen 3 hepatične steatoze. U kontrolnoj grupi zdravih ispitanika nije bilo NAFLD. U našoj ispitivanoj grupi ispitanici sa metaboličkim sindromom su imali signifikantno više vrednosti markera disfunkcije hepatocita, AST, ALT i GGT u poređenju sa kontrolnom grupom.

Poznato je da je kod pacijenata sa NAFLD povećan mortalitet od kardiovaskularnih bolesti, ali su podaci o mehanizmima udruženosti oskudni. Nagomilavanje visceralnog masnog tkiva u jetri dovodi do različitih sistemskih poremećaja, produkcije nekoliko proaterogenih faktora, a, naročito u uznapredovalim oblicima kao što je NASH prisutna je produkcija inflamatornih i medijatora oksidativnog stresa. Osim toga, NAFLD doprinosi razvitku i/ili progresiji insulinske rezistencije, i aterogenoj dislipidemiji. Od značaja su i promene u hepatičnoj mikrovaskulaturi u vidu distorzije sinusoida, kompresije sinusoida masno promenjenim hepatocitima i gubitka fenestri, koje se javljaju još pre razvoja inflamacije i fibroze (346,347,348). Strukturne alteracije su odgovorne za povećanje portalnog pritiska u necirotičnom obliku NAFLD. Promene u hepatičnoj mikrovaskulaturi verovatno su posledica izmenjenog profila angiogenih faktora. Prisutne su i strukturne alteracije krvnih sudova. Sadržaj kolagena i ukrštene veze se povećavaju dok se elastična vlakna smanjuju i postaju oštećena (349). Smatra se da se kod pacijenata sa NAFLD uspostavlja endotelna disfunkcija. U poređenju sa zdravim ispitanicima bolesnici sa NAFLD imaju pogoršanu vazodilataciju brahijalne arterije izazvane protokom (flow-mediated dilation) i povećanu debljinu intima-medija kompleksa karotidne arterije (272, 332-337), dva pouzdana markera subkliničke ateroskleroze. Iako neke studije nisu pokazale signifikatnu udruženost između NAFLD i pokazatelja subkliničke ateroskleroze (debljina IMT zajedničke karotidne arterije i karotidni arterijski kalcijum) pregled više studija preseka na 3497 ispitanika je potvrdio da je NAFLD udružena sa povećanom debljinom IMT zajedničke karotidne arterije i prevalencom karotidnog arterijskog plaka (338). U našoj grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD debljina IMT zajedničke karotidne arterije nije bila signifikantno viša u odnosu na podgrupu ispitanika sa metaboličkim sindromom bez hepatične steatoze. Razlog ovome je verovatno mali broj ispitanika sa NAFLD kao i strogi kriterijumi za uključivanje u istraživanje, mnogo strožiji u odnosu na većinu sličnih studija. Međutim, ustanovili smo signifikantnu pozitivnu korelaciju

slabe jačine između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i prisustva hepatične steatoze ($r=0,277$, $p=0,002$).

U grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD u odnosu na ispitanike bez NAFLD, prisutne su signifikantno više vrednosti TM, BMI, OS, OS/OK, što je u skladu sa MESA studijom i studijom Targhera i saradnika (339, 340). Statistički značajna povezanost umerenog stepena je utvrđena između prisustva hepatične steatoze i vrednosti TM ($r=0,408$, $p=0,000$), BMI ($r=0,358$, $p=0,000$), OS ($r=0,389$, $p=0,000$), kao i odnosa OS/OK ($r=0,306$, $p=0,000$), a signifikantna povezanost slabog stepena prisutna je sa OK ($r=0,277$, $p=0,001$), sistolnim ($r=0,241$, $p=0,000$) i dijastolnim ($r=0,238$, $p=0,000$) krvnim pritiskom što je u skladu sa studijom Korejskih autora (341). Takođe, u grupi ispitanika sa NAFLD i metaboličkim sindromom u odnosu na one sa metaboličkim sindromom i bez NAFLD, ustanovili smo signifikantno više vrednosti markera nekroze hepatocita AST i ALT. Od markera disfunkcije hepatocita signifikantna pozitivna korelacija umerenog stepena je ustanovljena između prisustva hepatične steatoze i AST ($r=0,312$, $p=0,000$), ALT ($r=0,302$, $p=0,001$), a signifikantna pozitivna korelacija slabog stepena postoji u odnosu na GGT ($r=0,278$, $p=0,001$).

U brojnim populacionim studijama povišene vrednosti jetrenih enzima su bile udružene s povećanim rizikom za kardiovaskularne bolesti nezavisno od drugih faktora rizika. U 11 prospektivnih studija Fraser i sar. su potvrdili da je nivo serumskog GGT nezavisni prediktor kardiovaskularnih događaja kod oba pola (342). U našoj ispitivanoj grupi osoba s hepatičnom steatozom u metaboličkom sindromu, prisutna je korelacija slabog stepena između nivoa serumskog GGT i debljine IMT zajedničke karotidne arterije. Neke studije su pokazale da je serumski ALT manje pouzdan pokazatelj incidence kardiovaskularnih bolesti u odnosu na povećani GGT za koji se smatra da nije samo marker NAFLD nego i oksidativnog stresa (343, 344). Druge studije nisu ustanovile da su povišeni nivoi ALT povezani sa ishodom kardiovaskularnih bolesti (342). U našoj studiji regresionom analizom, u modelu u kojoj je zavisna varijabla debljina IMT $>0,09$ cm zajedničke karotidne arterije i prisutnost hepatične steatoze, dokazan je statistički značaj ALT na predikciju debljine IMT zajedničke karotidne arterije $\text{Exp}(B)$ 1,053. U modelu neuronske mreže u kojem je zavisna varijabla ista kao u regresionom modelu, najveću mogućnost predviđanja debljine IMT zajedničke karotidne arterije ima ALT. Prema prvom modelu neuronske mreže gde je zavisna varijabla debljina IMT zajedničke karotidne arterije $>0,09$ cm najveću mogućnost predviđanja debljine IMT imaju glikemija, AST i fibrinogen.

Endotelna disfunkcija predstavlja inicijalni korak u razvitku ateroskleroze. U uznapredovalim fazama NAFLD kao što je ciroza, prisustvo mezenterijalne endotelne

disfunkcije je odavno poznato. Međutim, i u početnom stadijumu NAFLD prisutna je intrahepatična endotelna disfunkcija. Endotelna disfunkcija u sistemske cirkulaciji je takođe prisutna u NAFLD, izraženija u NASH (332).

Povećanje nivoa ADMA u NAFLD dovodi se u vezu sa njenom smanjenom razgradnjom u jetri (345,346). Kod pacijenata sa NAFLD koji imaju povišene nivoe ADMA, nakon korekcije metaboličkih faktora rizika dolazi do normalizacije njegovih nivoa (345,346). Ostali markeri endotelne disfunkcije su takođe povišeni u NAFLD. U grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD u odnosu na one koji nemaju NAFLD, vrednosti ADMA se nisu značajno razlikovale, dok je postojala signifikantna korelacija između prisustva hepatične steatoze i ADMA niskog stepena ($r=0,244$, $p=0,004$). Ovakvi rezultati mogli bi se dovesti u vezu sa malim brojem ispitanika u ovoj podgrupi.

Hiperhomocisteinemija je čest ali ne obavezan nalaz kod pacijenata sa NAFLD, a interesantno je da su nivoi Hcy kod pacijenata sa NASH niži (347).

Pronađeni su poremećaji smanjene transufuracije u cistein i remetilacije u metionin. Kao rezultat toga oksidativni stres unutar jetre raste a već je povećan zbog povećane beta-oksidacije masnih kiselina i sniženog glutationa. Na intrahepatičnu vaskulaturu direktno utiče Hcy dovodeći do poremećenog vaskularnog otpora i formiranja NO (347). Kod naše grupe ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD vrednosti Hcy se nisu signifikantno razlikovale u odnosu na ispitanike bez hepatosteatoze. U većem broju studija (Gulsena i sar., Kalhana i sar., i Polyzos i sar) su vrednosti Hcy bile više kod ispitanika sa NAFLD u odnosu na kontrolnu grupu. Razlog ovakvih naših rezultata može biti u činjenici da su vrednosti Hcy poredene unutar grupe ispitanika sa metaboličkim sindromom (348,349,350)

Prekomerno stvaranje mokraćne kiseline u metaboličkom sindromu je još jedan mehanizam kojim se može objasniti nastanak endotelne disfunkcije kod pacijenata sa NAFLD. Kod naših ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD prisutne su signifikantno više vrednosti mokraćne kiseline u odnosu na grupu ispitanika bez NAFLD, a ustanovljena je i signifikantna pozitivna korelacija umerene jačine sa prisustvom hepatične steatoze ($r=0,302$, $p=0,000$).

Mehanizam povezanosti između visokih nivoa mokraćne kiseline i NAFLD još uvek nije jasan. Mogući mehanizmi koji mogu objasniti povezanost su: uticaj mokraćne kiseline na metabolizam glukoze potenciranjem insulinske rezistencije, uticaj mokraćne kiseline na pogoršanje metabolizma lipida, indukcija mitohondrijalnog oksidativnog stresa i aktivacija nukleotid vezujućeg oligomerizacionog doma koji sadrži NLRP3 inflamazom. Insulin podstiče reapsorpciju mokraćne kiseline u proksimalnim tubulima dovodeći do hiperurikemije.

Hiperurikemija posledično smanjuje AMPK-aktivisanu protein kinazu smanjujući joj fosforilaciju i dovodeći do insulinske rezistencije. Visoke koncentracije mokraćne kiseline dovode do mitohondrijalnog oksidativnog stresa i stvaranja slobodnih kiseoničnih radikala. Kao rezultat toga aktivnost cis akonitaze enzima Krebsovog ciklusa biva smanjena dovodeći do akumulacije citrata, koji je substrat za hepatičnu de novo lipogenezu i intačelijsku akumulaciju masti. Faktor koji takođe može da utiče na patogenezu toksičnosti mokraćne kiseline je NLRP3 inflamazom, intračelijski multiproteinski kompleks koji ima centralnu ulogu u gojaznosti i insulinskoj rezistenciji i dislipidemiji. Mokraćna kiselina dovodi do aktivacije NLRP3 inflamazoma, direktno ili indirektno putem stvaranja slobodnih kiseoničnih radikala (351,352).

Sistemska inflamacija i cirkulišući cito i hemokini u NAFLD doprinose razvitku endotelne disfunkcije, uspostavljanju promenjenog vaskularnog tonusa i prokoagulantog stanja. Kod NAFLD, u hepatičnoj venskoj krvi u odnosu na sistemska, povišen je odnos M1/M2 makrofaga (proinflamatorni milje). U studijama je dokazano da je hepatična ekspresija IL-6 takođe udružena sa NAFLD. Nivoi hsCRP, kao i TNF- α i ICAM-1 koreliraju sa stepenom NAFLD. Oksidativni stres nastao oslobađanjem slobodnih kiseoničnih radikala iz stimulisane oksidacije masnih kiselina, takođe stvara proinflamatorni milje i pravi dalji aterogeni stimulus, naročito preko povećane hepatične produkcije CRP (347,353). U našoj grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD ustanovljena je signifikantna pozitivna povezanost slabe jačine između prisutnosti hepatične steatoze i hsCRP ($r=0,249$, $p=0,004$), β 1-globulina ($r=0,276$, $p=0,009$) kao i β 2-globulina ($r=0,291$, $p=0,006$). U MESA studiji je dokazana povezanost hsCRP sa stepenom steatoze dokazanim CT pregledom (339).

Snižene koncentracije adiponektina, adipocitokina za koji se smatra da ima antiaterogene sposobnosti (354), predstavlja još jedan mogući mehanizam koji povezuje NAFLD u metaboličkom sindromu i aterosklerozu. Pacijenti sa NAFLD imaju niže vrednosti adiponektina (355). Ova činjenica može biti značajna s obzirom da je u velikim prospektivnim studijama dokazano da snižene vrednosti adiponektina mogu biti prediktori i kardiovaskularnih događaja i metaboličkog sindroma (355,356). Davanje rekombinantnog adiponektina imalo je povoljne efekte na hepatomegaliju i masnu infiltraciju jetre u ob/ob miševa (356). Potencijalni mehanizmi hepato-protektivnog dejstva adiponektina uključuju hepatičnu oksidaciju masnih kiselina, inhibiciju sinteze masnih kiselina i supresiju proizvodnje TNF- α u jetri (356). I pored očekivanja, vrednosti adiponektina i leptina se ne razlikuju signifikantno kod naših ispitanika sa metaboličkim sindromom i NAFLD u odnosu na podgrupu bez hepatične steatoze, najverovatnije zbog malog broja ispitanika i strogih kriterijuma za uključivanje u studiju. Ipak,

ustanovljena je signifikantna pozitivna korelacija umerenog stepena između prisustva hepatične steatoze i odnosa leptin/adiponektin ($r=0,386$, $p=0,000$) a signifikantna pozitivna korelacija slabe jačine između prisustva hepatične steatoze i leptina ($r=0,204$, $p=0,016$). U korejskoj studiji kao i u poljskoj studiji na pedijatrijskoj populaciji je potvrđena negativna korelacija između adiponektina i stepena steatoze jetre (341, 357). Pozitivna udruženost leptina i hepatične steatoze je potvrđena u nekoliko radova ali je uglavnom udružena i sa BMI odnosno sa stepenom gojaznosti (357,358)

6. ZAKLJUČCI

Analizom rezultata sprovedenog ispitivanja definisani su sledeći zaključci:

1. U grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom signifikatno su više vrednosti debljine IMT zajedničke karotidne arterije u odnosu na kontrolnu grupu.
2. Pored TM, BMI, OS, OK, sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska u grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom signifikatno su više i serumske koncentracije biomarkera disfunkcije hepatocita AST, ALT i GGT u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika.
3. Takođe su u grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom od biomarkera inflamacije signifikatno više vrednosti ukupnog broja leukocita, neutrofilnih granulocita, nivoa hsCRP, fibrinogena i nivoa α 2-, β 1- i β 2-globulina, a vrednosti albumina su bile signifikatno niže u poređenju sa kontrolnom grupom.
4. Od ispitivanih biomarkera endotelne disfunkcije i adipokina u grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom signifikatno su više serumske koncentracije ADMA i leptina, za razliku od adiponektina čije su koncentracije signifikatno niže.
5. Od ostalih ispitivanih parametara u grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom prisutne su signifikatno više vrednosti ukupnog holesterola, LDL-holesterola, non-HDL-holesterola, odnosa trigliceridi/HDL-holesterol, apo B/A1, Lp(a), glikemije, insulina, HOMA-IR, HOMA-%B i mokraćne kiseline, a signifikatno niže vrednosti HDL holesterola u odnosu na kontrolnu grupu.
6. Kod ispitanika sa metaboličkim sindromom korelacionom analizom je utvrđena signifikantna pozitivna korelacija umerene jačine između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i TM, BMI, OS, sistolnog, dijastolnog krvnog pritiska i glikemije.
7. U istoj grupi ispitanika statistički značajna pozitivna korelacija slabe jačine prisutna je između debljine IMT zajedničke karotidne arterije i nivoa GGT kao biomarkera disfunkcije hepatocita, nivoa hsCRP i odnosa neutrofilni/limfociti kao biomarkera inflamacije i nivoa leptina kao jednog od ispitivanih adipokina, anivo ADMA kao biomarker endotelne disfunkcije ispoljio je statistički značajnu pozitivnu korelaciju slabe jačine sa debljinom IMT unutrašnje karotidne arterije.
8. Signifikatno više vrednosti debljine IMT zajedničke karotidne arterije ustanovljene su u podgrupi ispitanika sa hiperhomocisteinemijom u odnosu na podgrupu sa normohomocisteinemijom.

9. Prema modelu logističke regresije, kao i neuronske mreže gde je zavisna varijabla $IMT > 0,09$ cm hsCRP, glikemija, AST i fibrinogen imaju statistički značajan uticaj na predviđanje debljine IMT zajedničke karotidne arterije.
10. U grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom hepatična steatoza je prisutna u nešto više od 1/3 ispitanika (36,2%), pri čemu između prisustva i nivoa hepatične steatoze i debljine IMT zajedničke karotidne arterije postoji pozitivna statistički značajna korelacija slabe jačine.
11. Statistički značajna povezanost umerene jačine utvrđena je između prisustva hepatične steatoze u metaboličkom sindromu i TM, BMI, OS, odnosa OS/OK, AST, ALT, mokraćne kiselinei odnosa leptin/adiponektin.
12. Statistički značajna pozitivna korelacija slabe jačine utvrđena je između prisustva hepatične steatoze u metaboličkom sindromu i nivoa sistolnog, dijastolnog krvnog pritiska, GGT, AST/ALT, hsCRP, β 1-globulina, β 2-globulina, glikemije, insulinemije, HOMA-IR, triglicerida, odnosa trigliceridi/HDL-holesterol, apo B, ADMA i leptina, a statistički značajna negativna korelacija slabe jačine postoji u odnosu na adiponektin.
13. Prema modelu logističke regresije i neuronske mreže u kojem su zavisne varijable $IMT > 0,09$ cm i prisustvo hepatične steatoze, leptin, ALT i ADMA imaju statistički značajan uticaj na predviđanje debljine IMT zajedničke karotidne arterije.

7. LITERATURA

1. Enzi G, Busetto L, Inelmen EM, Coin A, Sergi G. Historical perspective: Visceral obesity and related comorbidity in Joannes Baptista Morgagni's 'De Sedibus et Causis Morborum per Anatomen Indagata. *Int J Obes* 2003;27:534-5.
2. Kylin E. Studien über das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämie Syndrom [German]. *Zentralblatt für Innere Medizin* 1923;44:105-2.
3. Vague J. La différenciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité. *Presse Med* 1947;30:339-40.
4. Camus JP. Gout, diabetes, hyperlipemia: a metabolic trisyndrome. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1966;33(1):10-4.
5. Haller H, Hanefeld M, Naumann HJ, Kunze D, Wehner J. Statistical studies on the pathogenesis of the fatty liver in diabetics. *Z Gesamte Inn Med* 1967;22(2):41-8.
6. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37(12):1595-607.
7. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989;149(7):1514-20.
8. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991;14(3):173-94.
9. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization: Geneva, Switzerland; 1999. [Last accessed on 2018 Aug 01]. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: Report of a WHO Consultation. Available from: http://www.who.int/hq/1999/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf.
10. Grundy SM, Neeland IJ, Turer AT, Vega GL. Waist circumference as measure of abdominal fat compartments. *J Obes* 2013;2013(1):454285.
11. 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;285:248-97.
12. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999;16:442-3.

13. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. [Last accessed on 2018 Avg 01]. Available from: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf.
14. Sirdah MM, Abu Ghali AS, Laham NAA. The reliability of the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP/ATP III) and the International Diabetes Federation (IDF) definitions in diagnosing metabolic syndrome (MetS) among Gaza Strip Palestinians. *Diabetes Metabol Syndr* 2012;6:4-8.
15. Grundy SM. Does a diagnosis of metabolic syndrome have value in clinical practice? *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1248–51.
16. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004;33(2):351-75.
17. Tucak-Zorić S, Bilić Čurčić I, Mihalj H. Prevalence of Metabolic Syndrome in the Interior of Croatia: The Baranja Region. *Coll Antropol* 2008;32:659–65.
18. Deka R, Smolej Narančić N, Xi H. Metabolic Syndrome in the Island Population of the Eastern Adriatic Coast of Croatia. *Coll Antropol* 2008;32:85–91.
19. Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“. Rezultati istraživanja zdravlja stanovništva Srbije, 2013. godina. Beograd: Službeni Glasnik; 2014.
20. Holt RIG, Cockram C, Flyvbjerg A, Goldstein BJ. *Textbook of Diabetes*, fourth ed. Blackwell Publishing, Oxford, 2010.
21. De Vos A, Heimberg H, Quartier E, Huypens P, Bouwens L, Pipeleers D, et al. Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression. *J Clin Invest* 1995; 96:2489-95.
22. Van SE. Short-term regulation of glucokinase. *Diabetologia* 1994;37:S43-S7.
23. Ahren B. Autonomic regulation of islet hormone secretion: implications for health and disease. *Diabetologia* 2000; 43:393-410.
24. Abdul-Ghani MA, De Fronzo RA. Pathogenesis of Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:1-19.
25. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005;365:1415-28.
26. Mogarekar MR, Rojekar MV, Sawant SD. Metabolic Syndrome. *J Cell Sci Ther* 2015;6:1-6.
27. Ruderman N, Chisholm D, Pi-Sunyer X, Schneider S. The metabolically obese, normal – weight individual revisited. *Diabetes* 1998;47:699–713.
28. Ruderman NB, Berchtold P, Schneider S. Obesity-associated disorders in normal weight individuals: some speculations. *Int J Obes* 1982;1:151–7.

29. Bergman RN, Kim SP, Hsu IR, Catalano KJ, Chiu JD, Kabir M, et al. Abdominal obesity: role in the pathophysiology of metabolic disease and cardiovascular risk. *Am J Med* 2007;120:3–8.
30. Pouliot MC, Despres JP, Lemieux S. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 1994;73:460-8.
31. Bajaj M, Banerji MA. Type 2 diabetes in South Asians: a pathophysiologic focus on the Asian-Indian epidemic. *Curr Diab Rep* 2004;4:213–8.
32. Mohsen I. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010;11(1):11-8.
33. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000;21:679–738.
34. Arner P. Obesity and the adipocyte. Regional adiposity in man. *J Endocrinol* 1997;155:191–2.
35. Marin P, Andersson B, Ottosson M, Olbe L, Chowdhury B, Kvist H, et al. The morphology and metabolism of intra-abdominal adipose tissue in men. *Metabolism* 1992;41:1241–8.
36. Hisra A, Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutrition* 2003;19:457–66.
37. Joyner JM, Hutley LJ, Cameron DP. Glucocorticoid receptors in human preadipocytes: regional and gender variations. *J Endocrinol* 2000;166:145.
38. Abate N, Garg A, Peshock RM, Stray-Gundersen J, Grundy SM. Relationship of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in man. *J Clin Invest* 1995;96:88–98.
39. Frayn KN. Visceral fat and insulin resistance: causative a correlative. *Br J Nutr* 2000; 83(Suppl. 1): S71–S77.
40. Salans LB, Cushman SW, Weismann RE. Studies of human adipose tissue. Adipose all size and number in nonobese and obese patients. *J Clin Invest* 1973;52:929–41.
41. Bjorntorp P. Metabolic difference between visceral fat and subcutaneous abdominal fat. *Diabetes Metab* 2000;26(Suppl. 3):10–2.
42. Amer P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med* 1995;27:435–8.

43. Lemieux S, Despres SP. Metabolic complications of visceral obesity: contribution to the etiology of life of type 2 diabetes and implications for prevention and treatment. *Diabetes Metab* 1994;20:375–93.
44. Kadswaki T, Hara K, Yamauchi T, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R. Molecular mechanisms of insulin resistance and obesity. *Exp Biol Med* 2003;228:1111–7.
45. Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med* 2014;371:2237-8.
46. Karpe F, Pinnick KE. Biology of upper-body and lower-body adipose tissue-link to whole-body phenotypes. *Nat Rev Endocrinol* 2015;11:90-100.
47. Vega GL, Adams-Huet B, Peshock R, Willett D, Shah B, Grundy SM. Influence of body fat content and distribution on variation in metabolic risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4459-66.
48. Lillioja S, Bogardus C. Obesity and insulin resistance: lessons learned from the Pima Indians. *Diabetes Metab Rev* 1988;4:517-40.
49. Grundy SM, Neeland IJ, Turer AT, Vega GL. Ethnic and gender susceptibility to metabolic risk. *Metab Syndr Relat Disord* 2014;12:110-6.
50. Esteve Rafols M. Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity. *Endocrinol Nutr* 2014; 61:100-11.
51. Kode JA, Mukherjee S, Joglekar MV, Hardikar AA. Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration. *Cytotherapy* 2009; 11:377-391.
52. Jia G, Martinez-Lemus LA, Sowers JR. Interaction of Adipogenesis and Angiogenesis in Dietary-Induced Obesity. *Diabetes*. 2015;64(7):2326-8.
53. DiMascio L, Voermans C, Uqoezwa M, Duncan A, Lu D, Wu J, et al. Identification of adiponectin as a novel hemopoietic stem cell growth factor. *J Immunol*. 2007;178:3511-20.
54. Oshima K, Nampei A, Matsuda M, Iwaki M, Fukuhara A, Hashimoto J, et al. Adiponectin increases bone mass by suppressing osteoclast and activating osteoblast. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;331:520-6.
55. Turner RT, Kalra SP, Wong CP, Philbrick KA, Lindenmaier LB, Boghossian S, et al. Peripheral leptin regulates bone formation. *J Bone Miner Res* 2013;28:22-34.
56. Lam QL, Lu L. Role of leptin in immunity. *Cell Mol Immunol* 2007;4:1-13.
57. Spiegelman BM, Puigserver P, Wu Z. Regulation of adipogenesis and energy balance by PPAR gamma and PGC-1. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24(4):8-10.

58. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care* 2004;27:2444–9.
59. Bays HE, Gonzalez-Campoy JM, Henry RR, et al. Is adiposopathy (sick fat) an endocrine disease? *Int J Clin Pract* 2008;62:1474–83.
60. Bays HE, Fox KM, Grandy S. Anthropometric measurements and diabetes mellitus: clues to the “pathogenic” and “protective” potential of adipose tissue. *Metab Syndr Relat Disord* 2010;8:307–315.
61. 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.
62. Vandanmagsar B. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med.* 2011;17(2):179-188.
63. 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.
64. Liu YC, Zou XB, Chai YF, Yao YM. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int J Biol Sci.* 2014;10(5):520-9.
65. De Paoli F, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. Macrophage phenotypes and their modulation in atherosclerosis. *Circ J.* 2014;78(8):1775-81.
66. Farb MG, Gokce N. Visceral adiposopathy: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2015;21(2):125-36.
67. Wronkowitz N, Romacho T, Sell H, Eckel J. Adipose tissue dysfunction and inflammation in cardiovascular disease. *Front Horm Res* 2014;43:79-92.
68. Mattu HS, Randeve HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. *J Endocrinol* 2013;216(1):17-36.
69. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11(2):85-97.
70. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature* 1997;387(6629): 206-9.
71. Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyckerman S. The ins and outs of leptin receptor activation. *FEBS Lett* 2003;546(1):45-50.
72. Peelman F, Zabeau L, Moharana K, Savvides SN. 20 years of leptin: insights into signaling assemblies of the leptin receptor. *J Endocrinol* 2014;223(1):T9-23.

73. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptors: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 1996;84:491-5.
74. Lahlou N, Clement K, Carel JC, Vaisse C. Soluble leptin receptor in serum of subjects with complete resistance to leptin: relation to fat mass. *Diabetes* 2000;49(8):1347-52.
75. Ruscica M, Dozio E, Gandini S, Gnocchi P, Devalle GG, Motta M, et al. Total, free and bound leptin and thyroid function in elderly women with different body weights. *Clin Endocrinol* 2008;68:1002-8.
76. Bajeri TM, Strasser V, Nimpf J, Schneider WJ. A model for modulation of leptin activity by association with clusterin1. *The FASEB Journal*. 2003;17:1505-7.
77. Magni P, Liuzzi A, Ruscica M, Dozio E, Ferrario S, Bussi I, et al. Free and bound plasma leptin in normal weight and obese men and women: relationship with body composition, resting energy expenditure, insulin-sensitivity, lipid profile and macronutrient preference. *Clin Endocrinol* 2005;62:189-96.
78. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 1996;379:632-5.
79. Scott MM, Williams KW, Rossi J, Lee CE, Elmquist JK. Leptin receptor expression in hindbrain Glp-1 neurons regulates food intake and energy balance in mice. *J Clin Invest*. 2011; 121(6): 2413–21.
80. Myers MG, Heymsfield SB, Haft C, Kahn BB. Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance. *Cell Metab* 2012;15(2):150-6.
81. Rahmouni K, Haynes WG, Morgan DA, Mark AL. Intracellular mechanisms involved in leptin regulation of sympathetic outflow. *Hypertension* 2003;41:763-7.
82. Rahmouni K, Sigmund CD, Haynes WG and Mark AL. Mitogen activated protein kinase: a newly discovered mediator of selective leptin actions. *Hypertension* 2005;46:867.
83. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995;377(6549):530-2.
84. Li WD, Reed DR, Lee JH, Xu W. Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet* 1999;63:227-34.
85. Elias CF, Aschkenasi C, Lee C, Kelly J, Ahima RS, Bjorbaek C, et al. Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area. *Neuron* 1999;23(4):775-86.

86. Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdan MG, Diano S, Horvath TL, et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 2001;411(6836):480-4.
87. Norata GD, Caligiuri G, Chavakis T, Matarese G, Netea MG, Nicoletti A, et al. The cellular and molecular basis of translational immunometabolism *Immunity* 2015;43:421-34.
88. Procaccini C, Pucino V, Mantzoros CS, Matarese G. Leptin in autoimmune diseases. *Metabolism* 2015;64:92-104.
89. Procaccini C, De Rosa V, Galgani M, Abanni L, Cali G, Porcellini A, et al. An oscillatory switch in mTOR kinase activity sets regulatory T cell responsiveness. *Immunity* 2010;33:929-41.
90. Procaccini C, Galgani M, De Rosa V, Matarese G. Intracellular metabolic pathways control immune tolerance. *Trends Immunol* 2012;33:1-7.
91. Matarese G, Procaccini C, De Rosa V. At the crossroad of T cells, adipose tissue, and diabetes. *Immunol Rev* 2012;249:116-34.
92. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverse starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998;394 (6696):897-901.
93. Nakamura K, Fuster JJ, Walsh K. Adipokines: a link between obesity and cardiovascular disease. *J Cardiol* 2014;63:250-9.
94. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devous R, et al. Identification and expression cloning of leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995; 83:1263-71.
95. Ayeser T, Basak M, Arslan K, Sayan I. Investigating the correlation of the number of diagnostic criteria to serum adiponectin, leptin, resistin, TNF-alpha, EGFR levels and abdominal adipose tissue. *Diabetes Metab Syndr* 2016;10:S165-9.
96. Dong F, Zhang X, Ren J. Leptin regulates cardiomyocyte contractile function through endothelin-1 receptor-NADPH oxidase pathway. *Hypertension* 2006;47:222-9.
97. Tibolla G, Norata GD, Artali R, Meneghetti F, Catapano AL. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): from structure-function relation to therapeutic inhibition. *NutrMetab Cardiovasc Dis* 2011;21:835-43.
98. Norata GD, Tibolla G, Catapano AL. Targeting PCSK9 for hypercholesterolemia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2014;54:273-93.

99. Norata GD, Tavori H, Pirillo A, Fazio S, Catapano AL. Biology of proprotein convertase subtilisin kexin 9: beyond low-density lipoprotein cholesterol lowering. *Cardiovasc Res* 2016;112:429-42.
100. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem* 1996; 271:10697-703.
101. Beltowski J, Jamroz-Wisniewska A, Widomska S. Adiponectin and its role in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2008;8:7-46.
102. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:79-83.
103. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003;46:459-69.
104. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, et al. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte derived protein. *Diabetes* 2002;51:2734-41.
105. Beltowski J, Jamroz-Wisniewska A, Widomska S. Adiponectin and its role in cardiovascular diseases. *Cardiovascular and Haematological Disorders-Drug Targets* 2008; 8 (1):7-46.
106. Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, et al. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem*. 2003;278:40352-63.
107. Kharroubi I, Rasschaert J, Eizirik DL, Cnop M. Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;312:1118-22.
108. Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:151-8.
109. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem* 2003; 278:2461-8.
110. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003;423:762-9.

111. Yamauchi T, Nio Y, Makiet T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabu M, et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nature Med* 2007;13:332–9.
112. Iwabu M, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Sato K, Nakagawa T, Funata M, et al. Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 α and mitochondria by Ca²⁺ and AMPK/SIRT1. *Nature* 2010;464:1313–9.
113. Christou GA, Kiortsis DN. Adiponectin and lipoprotein metabolism. *Obes Rev* 2013; 14:939-49.
114. Tsubakio-Yamamoto K, Matsuura F, Koseki M, Oku H, Sandoval JC, Inagaki M, et al. Adiponectin prevents atherosclerosis by increasing cholesterol efflux from macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;375:390-4.
115. Kitajima K, Miura S, Yamauchi T, Uehara Y, Kiya Y, Rye KA, et al. Possibility of increasing cholesterol efflux by adiponectin and its receptors through the ATP binding cassette transporter A1 in HEK293T cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;411:305-11.
116. Schneider JG, Von Eynatten M, Schiekofer S, Nawroth PP, Dugi KA. Low plasma adiponectin levels are associated with increased hepatic lipase activity in vivo. *Diabetes Care* 2005;28:2181-6.
117. Dullaart RP, De Vries R, Dallinga-Thie GM, van Tol A, Sluiter WJ. Plasma cholesteryl ester transfer protein mass and phospholipids transfer protein activity are associated with leptin in type 2 diabetes mellitus. *Biochim Biophys Acta* 2007;1771:113-8.
118. Kangas-Kontio T, Huotari A, Ruotsalainen H, Herzig KH, Tamminen M, Ala-Korpela M, et al. Genetic and environmental determinants of total and high-molecular weight adiponectin in families with low HDL-cholesterol and early onset coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2010; 210:479-85.
119. Chan DC, Barrett PH, Ooi EM, Ji J, Chan DT, Watts GF. Very low density lipoprotein metabolism and plasma adiponectin as predictors of high-density lipoprotein apolipoprotein A-I kinetics in obese and nonobese men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:989-97.
120. Vanhala M, Kumpula LS, Soininen P, Kangas AJ, Ala-Korpela M, Kautiainen H, et al. High serum adiponectin is associated with favorable lipoprotein subclass profile in 6.4-year follow-up. *Eur J Endocrinol* 2011;164:549-52.
121. Shin MJ, Kim OY. Plasma adiponectin is associated with less atherogenic lipoprotein phenotype. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011;21:770-5.

122. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L, et al. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol* 2006;64:679-83.
123. Polakof S, Panserat S, Craig PM, Martyres DJ, Plagnes-Juan E, Savari S, et al. The metabolic consequences of hepatic AMP-kinase phosphorylation in rainbow trout. *PLoS One* 2011;6:e20228.
124. You M, Rogers CQ. Adiponectin: a key adipokine in alcoholic fatty liver. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009;234:850-9.
125. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107:671-4.
126. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte derived macrophages. *Circulation* 2001;103:1057-63.
127. Kumada M, Kihara S, Ouchi N, Kobayashi H, Okamoto Y, Ohashi K, et al. Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation* 2004;109:2046-9.
128. Yang H, Zhang R, Mu H, Li M, Yao Q, Chen C. Adiponectin promotes endothelial cell differentiation from human peripheral CD14⁺ monocytes in vitro. *J Cell Mol Med.* 2006;10:459-69.
129. Ouchi N, Kobayashi H, Kihara S, Kumada M, Sato K, Inoue T, et al. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells. *J Biol. Chem* 2004;279:1304-9.
130. Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol. Chem* 2003;278:45021-6.
131. Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S, Walsh K, Kumada M, Abe Y, et al. Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ. Res* 2004;94:e27-e31.
132. Denzel MS, Schimia MC, Zumstein PM, Walsh K, Ruiz-Lozano P, Ranscht B, et al. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J. Clin. Invest* 2010;120:4342-52.
133. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409:307-12.

134. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, et al. Resistin is expressed in human macrophage and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;300:472-6.
135. Tarkowski A, Bjersing J, Shestakov A, Bokarewa MI. Resistin competes with lipopolysaccharide for binding to toll-like receptor 4. *J Cell Mol Med* 2010;14:1419-31.
136. Lee S, Lee HC, Kwon YW, Lee SE, Cho Y, Kim J, et al. Adenylyl cyclase-associated protein 1 is a receptor for human resistin and mediates inflammatory actions of human monocytes. *Cell Metab* 2014;19:484-97.
137. Scott TA, Babayeva O, Banerjee S, Zhong W, Francis SC. SGK1 is modulated by resistin in vascular smooth muscle cells and in the aorta following diet-induced obesity. *Obes* 2016;24:678-86.
138. Park HK, Ahima RS. Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab J* 2013;37:404-14.
139. Codoner-Franch P, Alonso-Iglesias E. Resistin: insulin resistance to malignancy. *Clin Chim Acta* 2015;438:46-54.
140. Mu H, Ohashi R, Yan S, Chai H, Yang H, Lin P, et al. Adipokine resistin promotes in vitro angiogenesis of human endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2006;70:146-57.
141. Shen YH, Zhang L, Gan Y, Wang X, Wang J, LeMaire SA, et al. Upregulation of PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) mediates p38 MAPK stress signal-induced inhibition of insulin signaling. A cross-talk between stress signaling and insulin signaling in resistin-treated human endothelial cells. *J Biol Chem* 2006;281:7727-36.
142. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Weisel RD, et al. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 2003;108:736-40.
143. Calabro P, Cirillo P, Limongelli G, Maddaloni V, Riegler L, Palmieri R, et al. Tissue factor is induced by resistin in human coronary artery endothelial cells by the NF-kB-dependent pathway. *J Vasc Res* 2011;48:59-66.
144. Chen C, Jiang J, Lu JM, Chai H, Wang X, Lin PH, et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010;299:193-201.
145. Ferri N, Ruscica M. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and metabolic syndrome: insights on insulin resistance, inflammation, and atherogenic dyslipidemia. *Endocrine* 2016;54(3):588-601.

146. Melone M, Wilsie L, Palyha O, Strack A, Rashid S. Discovery of a new role of human resistin in hepatocyte low-density lipoprotein receptor suppression mediated in part by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:1697-705.
147. Gerber M, Boettner A, Seidel B, Lammert A, Bar J, Schuster E, et al. Serum resistin levels of obese and lean children and adolescents: biochemical analysis and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4503-9.
148. McTernan PG, Fisher FM, Valsamakis G, Chetty R, Harte A, McTernan CL, et al. Resistin and type 2 diabetes: regulation of resistin expression by insulin and rosiglitazone and the effects of recombinant resistin on lipid and glucose metabolism in human differentiated adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:6098-106.
149. Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol* 2007;156:279-84.
150. Pischon T, Bamberger CM, Kratzsch J, Zyriax BC, Algenstaedt P, Boeing H, et al. Association of plasma resistin levels with coronary heart disease in women. *Obes Res* 2005;13:1764-71.
151. Weikert C, Westphal S, Berger K, Dierkes J, Mohlig M, Spranger J, et al. Plasma resistin levels and risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2647-53.
152. Sethu S, Melendez AJ. New developments on the TNF-alpha mediated signalling pathways. *Biosci Rep* 2011;31:63-76.
153. Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1785-8.
154. DiSpirito JR, Mathis D. Immunological contributions to adipose tissue homeostasis. *Semin Immunol* 2015;27:315-21.
155. Naude PJ, den Boer JA, Luiten PG, Eisel UL. Tumor necrosis factor receptor cross-talk. *FEBS J* 2011;278:888-98.
156. Qi C, Pekala PH. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in adipocytes. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223:128-35.
157. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4854-8.
158. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996;271:665-8.

159. Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor necrosis factor- α -induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. *J Biol Chem* 1997;272:971-6.
160. Hallenbeck JM. The many faces of tumor necrosis factor in stroke. *Nat Med* 2002;8:1363-8.
161. Kleinbongard P, Heusch G, Schulz R. TNF α in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacol Ther* 2010;127:295-314.
162. Yu YH, Ginsberg HN. Adipocyte signaling and lipid homeostasis: sequelae of insulin-resistant adipose tissue. *Circ Res*. 2005;96:1042-52.
163. Bays HE. Adiposopathy: Is "sick fat" a cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:2461-2473.
164. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy-review of a new approach. *Pharmacol Rev* 2003;55:241-69.
165. Mingomataj EC, Bakiri AH. Regulator versus effector paradigm: interleukin-10 as indicator of the switching response. *Clin Rev Allergy Immunol* 2016;50:97-113.
166. Moraitis AG, Freeman LA, Shamburek RD, Wesley R, Wilson W, Grant CM, et al. Elevated interleukin-10: a new cause of dyslipidemia leading to severe HDL deficiency. *J Clin Lipidol* 2015;9:81-90.
167. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005;307:426-30.
168. Chang YC, Chang TJ, Lee WJ, Chuang LM. The relationship of visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor/nicotinamide phosphoribosyltransferase in adipose tissue with inflammation, insulin resistance, and plasma lipids. *Metabolism* 2010; 59:93-9.
169. Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006;354:2552-63.
170. Xia Z, Stanhope KL, Digitale E, Simion OM, Chen L, Havel P, et al. Acylation-stimulating protein (ASP)/complement C3a desArg deficiency results in increased energy expenditure in mice. *J Biol Chem* 2004;279:4051-7.
171. Kalan D, Cain SA, Maslowska M, Sniderman AD, Cianflone K, Monk PN. The chemoattractant receptor-like protein C5L2 binds the C3a des-Arg⁷⁷/acylation-stimulating protein. *J Biol Chem* 2003;278:11123-9.

172. Cho YK, Kang YM, Lee SE, Lee YL, Seol SM, Lee WJ, et al. Effect of SFRP5 (Secreted Frizzled-Related Protein 5) on the WNT5A (Wingless-Type Family Member 5A) – Induced Endothelial Dysfunction and Its Relevance With Arterial Stiffness in Human Subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2018;38:00-00. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.310649.
173. Rao TP, Kühl M. An updated overview on Wnt signaling pathways: a prelude for more. *Circ Res* 2010;106:1798–806.
174. Kim J, Kim J, Kim DW, Ha Y, Ihm MH, Kim H, et al. Wnt5a induces endothelial inflammation via beta-catenin-independent signaling. *J Immunol* 2010;185:1274–82.
175. Teo JL, Kahn M. The Wnt signaling pathway in cellular proliferation and differentiation: a tale of two coactivators. *Adv Drug Deliv Rev* 2010;62:1149–55.
176. Kimura-Yoshida C, Nakano H, Okamura D, Nakao K, Yonemura S, Belo JA, et al Canonical Wnt signaling and its antagonist regulate anterior-posterior axis polarization by guiding cell migration in mouse visceral endoderm. *Dev Cell* 2005;9:639–50.
177. Pashirzad M, Shafiee M, Rahmani F, Behnam-Rassouli R, Hoseinkhani F, Ryzhikov M, et al. Role of Wnt5a in the pathogenesis of inflammatory diseases. *J Cell Physiol* 2017;232:1611–16.
178. Christman MA II, Goetz DJ, Dickerson E, McCall KD, Lewis CJ, Benencia F, et al. Wnt5a is expressed in murine and human atherosclerotic lesions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H2864–70.
179. Malgor R, Bhatt PM, Connolly BA, Jacoby DL, Feldmann KJ, Silver MJ, et al. Wnt5a, TLR2 and TLR4 are elevated in advanced human atherosclerotic lesions. *Inflamm Res* 2014;63:277–85.
180. Xin H, Xin F, Zhou S, Guan S. The Wnt5a/Ror2 pathway is associated with determination of the differentiation fate of bone marrow mesenchymal stem cells in vascular calcification. *Int J Mol Med* 2013;31:583–8.
181. Ouchi N, Higuchi A, Ohashi K, Oshima Y, Gokce N, Shibata R, et al. Sfrp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity. *Science* 2010;329:454–7.
182. Carstensen M, Herder C, Kempf K, Erlund I, Martin S, Koenig W, et al. Sfrp5 correlates with insulin resistance and oxidative stress. *Eur J Clin Invest* 2013;43:350–7.
183. Hu Z, Deng H, Qu H. Plasma SFRP5 levels are decreased in Chinese subjects with obesity and type 2 diabetes and negatively correlated with parameters of insulin resistance. *Diabetes Res Clin Pract* 2013;99:391–5.

184. Cheng L, Zhang D, Chen B. Declined plasma sfrp5 concentration in patients with type 2 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults. *Pak J Med Sci* 2015;31:602–5.
185. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:27–32.
186. Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J* 2010;4:302–12.
187. Lewis GF, Uffelman KD, Szeto LW, Weller B, Steiner G. Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J Clin Invest* 1995; 95:158-66.
188. Lewis GF, Steiner G. Acute effects of insulin in the control of VLDL production in humans. Implications for the insulin resistant state. *Diabetes Care* 1996;19:390-3.
189. Taskinen MR. Diabetic dyslipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia* 2005;46:733–49.
190. Taskinen MR. Type 2 diabetes as a lipid disorder. *Curr Mol Med* 2005;5:297–308.
191. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 2011;473:317–25.
192. Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest* 1994;94:1172-9.
193. DeFronzo RA, Cooke CR, Andres R, Faloona GR, Davis PJ. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. *J Clin Invest* 1975;55: 845-55.
194. Engeli C, Schling P, Gorzeniak K. The adipose-tissue rennin-angiotensin-aldosterone system: Role in metabolic syndrome? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2003;35:807-25.
195. Redon J, Cifkova R, Laurent S et al. Mechanisms of hypertension in the cardiometabolic syndrome. *Journal of Hypertension* 2009;27(3):441-51.
196. Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 2011;121:2111-7.
197. Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev* 2012;249:218-38.
198. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, et al. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest* 2006;116:115-24.

199. Khera A, Vega GL, Das SR, Ayers C, McGuire DK, Grundy SM, et al. Sex differences in the relationship between C-reactive protein and body fat. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:3251-8.
200. Wieser V, Moschen AR, Tilg H. Inflammation, cytokines and insulin resistance: a clinical perspective. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2013;61:119-25.
201. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
202. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 1999;7:167-77.
203. Verma S, Szmitko PE. Is C-reactive protein a culprit in atherogenesis? U: C-reactive protein and cardiovascular disease. *MediEdition* 2006;53-62.
204. Johnson AM. Amino acids, peptides and proteins. U: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders. 2006:533-96.
205. Bharadwaj D, Stein MP, Volzer M, Mold C, Du Clos TW. The major receptor for C reactive protein on leukocytes is Fc gamma receptor II. *J Exp Med* 1999;190:585-90.
206. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2003;108:1930-2.
207. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 2001;158:1039-51.
208. Kobayashi S, Inoue N, Ohashi Y, Terashima M, Matsui K, Mori T, et al. Interaction of oxidative stress and inflammatory response in coronary plaque instability: important role of C-reactive protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1398-404.
209. Devaraj S, Torok N, Dasu MR, Samols D, Jialal I. Adiponectin decreases C-reactive protein synthesis and secretion from endothelial cells: evidence for an adipose tissue vascular loop. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1368-74.
210. Singh P, Hoffman M, Wolk R, Shamsuzzaman AS, Somers VK: Leptin induces C reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:e302-7.
211. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem* 2009;55:229-38.
212. Hackam DG, Anand SS. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of evidence. *JAMA* 2003;290:932-40.

213. Green N, Foiles N, Chan C, Schreiner PJ, Liu K. Elevated fibrinogen levels and subsequent subclinical atherosclerosis: the CARDIA study. *Atherosclerosis* 2009;202:623–31.
214. 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.
215. 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.
216. Kostapanos MS, Florentin M, Elisaf MS, Mikhailidis DP. Hemostatic factors and the metabolic syndrome. *Curr Vasc Pharmacol* 2013;11:880-905.
217. Alessi MC, Juhan-Vague I. Metabolic syndrome, haemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost* 2008;99:995-1000.
218. Kraja AT, Province MA, Arnett D, Wagenknecht L, Tang W, Hopkins PN, et al. Do inflammation and procoagulation biomarkers contribute to the metabolic syndrome cluster? *NutrMetab (Lond)* 2007;4:28.
219. Samad F, Ruf W. Inflammation, obesity, and thrombosis. *Blood* 2013;122:3415-22.
220. Rao AK, Freishtat RJ, Jalagadugula G, Singh A, Mao G, Wiles A, et al. Alterations in insulin-signaling and coagulation pathways in platelets during hyperglycemia-hyperinsulinemia in healthy non-diabetic subject. *Thromb Res* 2014;134:704-10.
221. Ay C, Tengler T, Vormittag R, Simanek R, Dorda W, Vukovich T, et al. Venous thromboembolism--a manifestation of the metabolic syndrome. *Haematologica* 2007;92:374-80.
222. Vaduganathan M, Alviar CL, Arikian ME, Tellez A, Guthikonda S, DeLao T, et al. Platelet reactivity and response to aspirin in subjects with the metabolic syndrome. *Am Heart J* 2008;156:1002.e1-1002.e7.
223. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95.
224. Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. *Br J Anaesth* 2004;93(1):105-13.
225. Ozkor MA, Quyyumi AA. Endothelium - Derived Hyperpolarizing Factor and Vascular Function. *Cardiol Res Pract* 2011;2011:156146.
226. Anderson TJ. Nitric oxide, atherosclerosis and the clinical relevance of endothelial dysfunction. *Heart Fail Rev*. 2003;8(1):71-86.

227. Ribeiro F, Alves AJ, Teixeira M, Ribeiro V, Duarte JA, Oliveira J. Endothelial function and atherosclerosis: circulatory markers with clinical usefulness. *Rev Port Cardiol* 2009;28(10):1121-51
228. Vane J, Corin RE. Prostacyclin: a vascular mediator. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;26(6):571-8.
229. Van de Wouwer M, Collen D, Conway EM. Thrombomodulin-Protein C-EPCR System. *Thromb Vasc Biol* 2004;24:1374-83.
230. Hunt BJ. Endothelial cell activation. *BMJ* 1998;316:1328-9.
231. Sun S, Ji Y, Kersten S, Qi L. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annu Rev Nutr* 2012;32:261-86.
232. Henao-Mejia J, Elinav E, Thaiss CA, Flavell RA. Inflammasomes and metabolic disease. *Annu Rev Physiol* 2014;76:57-78.
233. Liu YC, Zou XB, Chai YF, Yao YM. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int J Biol Sci* 2014;10(5):520-9.
234. Đerić M. Hipertrigliceridemija i aterogeni lipoproteinski fenotip (EDITORIAL). *Med Pregl* 2002; LV (3-4): 85-88.
235. Đerić, M, Kojić-Damjanov S, Čabarkapa V, Eremić N. Biochemical markers of atherosclerosis. *Journal of Medical Biochemistry* 2008; 27(2),148-53.
236. Upadhyay R. Emerging Risk Biomarkers in Cardiovascular Diseases and Disorders. *J Lipids* 2015;2015:971453.
237. Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH. The role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Curr Cardiol Rev* 2010; 6:82–90.
238. Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Occurrence of a new enzyme catalyzing the direct conversion of NG,NG-dimethyl-L-arginine to L-citrulline in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 148:671-7.
239. Kimoto M, Tsuji H, Ogawa T, Sasaoka K. Detection of NG,NG dimethylarginine dimethylamino hydrolase in the nitric oxide generating systems of rats using monoclonal antibody. *Arch Biochem Biophys* 1993;300:657-62.
240. Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J* 1999;343P:209-14.

241. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999;99:3092-5.
242. Dayoub H, Achan V, Adimoolam S. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation* 2003; 108: 3042-7.
243. Wang D, Gill PS, Chabrashvili T. Isoform-specific regulation by N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium derived relaxing factor/NO. *Circ Res* 2007;101:627-35.
244. Calver A, Collier J, Leone A, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers. *J Hum Hypertens* 1993;7:193-4.
245. Cheng Z, Yang X, Wang H. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Curr Hypertens Rev.* 2009;5:158–65.
246. Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab* 2004; 30:398-408.
247. Fabbrini EMF, Mohammed BS, Pietka T, Abumrad NA, Patterson BW, Okunade A, et al. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 51:679-689.
248. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol* 2012;107:811–826.
249. Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology* 2004;40: 185–94.
250. Cai D, Yuan M, Frantz D. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-B and NK- κ B. *Nat Med* 2005;II: 183–90.
251. Abenavoli L, Milic N, Di Renzo L, Preveden T, Medić-Stojanoska M, De Lorenzo A. Metabolic aspects of adult patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2016; 22(31):7006-16.
252. Wainwright P, Byrne C. Bidirectional Relationships and Disconnects between NAFLD and Features of the Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci* 2016;17:367:1-17.

253. Samuel VT, Liu ZX, Wang A, Beddow SA, Geisler JG, Kahn M, et al. Inhibition of protein kinase C prevents hepatic insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 2007;117:739–45.
254. Cesari M, Pahor M, Incalzi RA. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): A key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc. Ther* 2010;28:e72–e91.
255. Baranova A, Gowder SJ, Schlauch K, Elariny H, Collantes R, Afendy A, et al. Gene expression of leptin, resistin, and adiponectin in the white adipose tissue of obese patients with non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Obes Surg* 2006;16:1118–25.
256. Chamoun Z, Vacca F, Parton RG, Gruenberg J. PNPLA3/adiponutrin functions in lipid droplet formation. *Biol Cell* 2013;105:219–33.
257. Sookoian S, Castano GO, Scian R, Mallardi P, Fernandez Gianotti T, Burqueno AL, et al. Genetic variation in transmembrane 6 superfamily member 2 and the risk of non alcoholic fatty liver disease and histological disease severity. *Hepatology* 2015;61:515–25.
258. Đerić M. Patogeneza ateroskleroze. U: Stošić Z, ed. *Patološka fiziologija*. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet 2012;159-165.
259. Mathieu P, Pibarot P, Després JP. Metabolic syndrome: the danger signal in atherosclerosis. *Vascular Health and Risk Management* 2006;2(3):285-302.
260. Ballantyne CM, editor. *Clinical lipidology: a companion to Braunwald's heart disease*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2015.
261. Hansel B, Giral P, Nobecourt E. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:4963-71.
262. Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005;111:932-9.
263. Silvestre-Roig C, de Winther MP, Weber C, Daemen MJ, Lutgens E, Soehnlein O. Atherosclerotic Plaque Destabilization. Mechanisms, Models, and Therapeutic Strategies. *Circ Res* 2014;114:214-26.
264. Paneni F, Beckman JA, Craeger M, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J* 2013;34:2436-46.

265. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Caplano Al, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts): Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur J Prev Cardiol* 2016; 23 (11); NP1-NP 96.
266. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča u kliničkoj praksi Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Gojaznost Nacionalni vodič za lekare u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. Beograd, 2004.
267. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972;18:499–502.
268. Zamaklar M i sar. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostifikovanje i lečenje lipidskih poremećaja. Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova. Beograd, 2012.
269. 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.
270. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004 –2006). An update on behalf of the Advisory Board of the III and IV Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006 and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis* 2012;34(4):290–6.
271. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III: Hepatic Steatosis, Ultrasound Images Assessment, Procedures Manual November 2010. [Last accessed on 2018 Avg 01]. Available from <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/nhanes3/HGUHS.htm>
272. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2010;363(14):1341-50.
273. Sipilä K, Moilanen L, Nieminen T, Reunanen A, Jula A, Salomaa V, et al. Metabolic syndrome and carotid intima media thickness in the Health 2000 Survey. *Atherosclerosis* 2009; 204:276–81.
274. Tabas I, Garcia-Cardena G, Owens GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol* 2015;209(1):13.

275. Wang JC, Bennett M. Aging and Atherosclerosis Mechanisms, Functional Consequences, and Potential Therapeutics for Cellular Senescence. *Circ Res* 2012;111:245-59.
276. Csongrádi É, Káplár M, Nagy Jr B, Koch CA, Juhász A, Bajnok L, et al. Adipokines as atherothrombotic risk factors in obese subjects: associations with haemostatic markers and common carotid wall thickness. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2017 doi: 10.1016/j.numecd.2017.02.007.
277. Karasek D, Vaverkova H, Cibickova L, Gajdova J, Kubickova V. Apolipoprotein B versus non-high-density lipoprotein cholesterol: Association with endothelial hemostatic markers and carotid intima-media thickness. *Journal of Clinical Lipidology* 2017, doi: 10.1016/j.jacl.2017.01.020.
278. Won KB, Chang HJ, Chang Kim H, Jeon K, Lee H, Shin S, et al. Differential impact of metabolic syndrome on subclinical atherosclerosis according to the presence of diabetes. *Cardiovascular Diabetology* 2013;12:41.
279. Gooty V, Sinaiko AR, Ryder JR, Dengel DR, Jacobs DR, Steinberger J. Association Between Carotid Intima Media Thickness, Age, and Cardiovascular Risk Factors in Children and Adolescents. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 2018; 16(3). DOI: 10.1089/met.2017.0149
280. Delitala AP, Filigheddu F, Orru M, Al Ghatrif M, Steri M, Pilia MG, et al. No evidence of association between subclinical thyroid disorders and common carotid intima medial thickness or atherosclerotic plaque. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2015; 25:1104-10.
281. Kaul S, Alladi S, Mridula RK, Bandaru SV, Boddu DB, Anjanikumar D, et al. Prevalence and risk factors of carotid intima-media thickness in asymptomatic individual subjects in a tertiary care center in India. *Ann Indian Acad Neurol* 2015;18:430-4.
282. Willeit P, Thompson SG, Agewall S, Bergstrom G, Bickel H, Catapano AL, et al. Inflammatory markers and extent and progression of early atherosclerosis: Meta-analysis of individual-participant data from 20 prospective studies of the PROG-IMT collaboration. *European Journal of Preventive Cardiology* 2014;23:194-205.
283. Nambi V, Hoogeveen RC, Chambless L, Hu Y, Bang H, Coresh J, et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and High-Sensitivity C-Reactive Protein Improve the Stratification of Ischemic Stroke Risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke* 2009;40:376-81.
284. Andersson J, Sundström J, Kurland L, Gustavsson T, Hulthe J, Anders E, et al. The Carotid Artery Plaque Size and Echogenicity are Related to Different Cardiovascular Risk Factors in the Elderly. *Lipids* 2009;44:397.

285. Den Engelsen C, Koekkoek PS, Gorter KJ, Van Den Donk M, Salome PL, Rutten GE. High-sensitivity C-reactive protein to detect metabolic syndrome in a centrally obese population: a cross-sectional analysis. *Cardiovasc Diabetol* 2012; 11:25.
286. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation* 2005;111:1448-54.
287. Babio N, Ibarrola-Jurado N, Bullo M, Martinez-Gonzalez MA, Warnberg J, Salaverria I, et al. White blood cells counts as risk markers of developing metabolic syndrome and its components in the PREDIMED study. *PLoS One* 2013;8:e58354.
288. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennell L, Wood AM, White IR, Gao P, et al. C-Reactive Protein, Fibrinogen, and Cardiovascular Disease Prediction. The Emerging Risk Factors Collaboration. *N Engl J Med* 2012;367:1310-20.
289. Music M, Fajkic A, Lepara O, Brankovic M, Mekic-Abazovic A, Alic A. Analysis of Inflammatory Parameters in Diabetes Mellitus Type 2 Patients with or Without Metabolic Syndrome. *Mater Sociomed.* 2010; 22(2):64-7.
290. Bae JC, Seo SH, Hur KY, Kim JH, Lee MS, Lee MK, et al. Association between serum albumin, insulin resistance, and incident diabetes in nondiabetic subjects. *Endocrinol Metab* 2013;28:26–32.
291. Ishizaka N, Ishizaka Y, Nagai R, Toda E.-I, Hashimoto H, Yamakado M. Association between serum albumin, carotid atherosclerosis, and metabolic syndrome in Japanese individuals. *Atherosclerosis* 2007;193:373-9.
292. Lobo-Rudnicka, Jaroh J, Bociaga Z, Rzyckowska B, Uchmanowicz I, Polanski J, et al. Impact of cardiovascular risk factors on carotid intima–media thickness: sex differences. *Clinical Interventions in Aging* 2016;11:721–31.
293. 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.
294. 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.
295. 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.

296. Grebe MT, Luu B, Sedding D, Heidt MC, Kemkes-Matthes B, Schaefer A, et al. Fibrinogen promotes early atherosclerotic changes of the Carotid Artery in young healthy adults. *J Atheroscler Thromb*, 2010;17:1003-8.
297. Gao L, Bai L, Shi M, Ni J, Lu H, Wu Y, et al. Association between Carotid Intima-Media Thickness and Fasting Blood Glucose level: A Population-Based Cross-Sectional Study among Low-Income Adults in Rural China. doi: 10.1111/jdi.12639
298. Gast KB, Tjeerdema N, Stijnen T, Smit JWA, Dekkers OM. Insulin Resistance and Risk of Incident Cardiovascular Events in Adults without Diabetes: Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2012;7(12): e52036. doi:10.1371/journal.pone.0052036.
299. Zhangl X, Li J, Zheng S, Luo Q, Zhou C, Wang C. Fasting insulin, insulin resistance, and risk of cardiovascular or all-cause mortality in non-diabetic adults: a meta-analysis. *Biosci Rep*;2017;37 (5): BSR20170947. doi: 10.1042/BSR20170947.
300. Prospective Studies Colaboration, Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, et al. 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.
301. 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.
302. Crouse JR, Goldbourt U, Evans G. Risk factors and segment-specific carotid arterial enlargement in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) cohort. *Stroke*. 1996;27(1):69–75.
303. Rosvall M, Persson M, Östling G. Risk factors for the progression of carotid intima-media thickness over a 16-year follow-up period: the Malmö diet and cancer study. *Atherosclerosis*. 2015;239(2):615–21.
304. Ciccone M, Vettor R, Pannaciuoli N. Plasma leptin is independently associated with the intima-media thickness of the common carotid artery. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:805-10.
305. Bianchi C, Miccoli R, Trombetta M, Giorgino F, Frontoni S, Faloia E, et al. Elevated 1-hour postload plasma glucose levels identify subjects with normal glucose tolerance but impaired β -cell function, insulin resistance, and worse cardiovascular risk profile: the GENFIEV study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:2100-5.
306. Christou GA, Kiortsis DN. Adiponectin and lipoprotein metabolism. *Obes Rev* 2013; 14:939-49.

307. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96:939-49.
308. Ahirwar AK, Jain A, Goswami B, Bhatnagar MK, Bhattacharjee J. Imbalance between protective (adiponectin) and prothrombotic (Plasminogen Activator Inhibitor-1) adipokines in metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2014;8:152–5.
309. Xueqin Li, Jun Shen, Zhenghong Lu, Min Chen, Xiaozheng Fang, Gongcheng Wang. High neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with increased carotid artery intima-media thickness in type 2 diabetes. *J Diabetes Investig* 2017; 8(1):101-7.
310. Veeranna V, Zalawadiya SK, Niraj A, Pradhan J, Ference B, Burack RC, et al. Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58:1025-33.
311. Adachi H, Hirai Y, Fujiura Y, Matsuoka H, Satoh A, Imaizumi T. Plasma homocysteine levels and atherosclerosis in Japan: epidemiological study by use of carotid ultrasonography. *Stroke* 2002; 33:2177-81.
312. Clarke R, Collins R, Lewington S, Donald A, Alftan G, Tuomilehto J, et al. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke – A meta-analysis. *Jama- Journal of the American Medical Association* 2002; 288:2015-22.
313. Linnebank M, Moskau S, Farmand S, Fliessbach K, Kolsch H, Bos M, et al: Homocysteine and carotid intima-media thickness in a German population - Lack of clinical relevance. *Stroke* 2006;37:2840-2.
314. Sreckovic B, Dimitrijevic Sreckovic V, Soldatovic I, Colak E, Sumarac-Dumanovic M, Janeskif H, et al. Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2017;11:179–82.
315. Nakata S, Tsutsui M, Shimokawa H, Suda O, Morishita T, Shibata K, et al. Spontaneous myocardial infarction in mice lacking all nitric oxide synthase isoforms. *Circulation* 2008;117:2211–23.
316. Maas R, Xanthakis V, Polak JF, Schwedhelm E, Sullivan LM, Benndorf R, et al. Association of the Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor ADMA With Carotid Artery Intimal Media Thickness in the Framingham Heart Study Offspring Cohort. *Stroke* 2009;40:2715-19.
317. Leiper J, Nandi M, Torondel B, Murray-Rust J, Malaki M, O’Hara B, et al. Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. *Nat Med.* 2007;13:198–203.

318. Konishi H, Sydow K, Cooke JP. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase promotes endothelial repair after vascular injury. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1099–105.
319. Hasegawa K, Wakino S, Tatematsu S, Yoshioka K, Homma K, Sugano N, et al. Role of asymmetric dimethylarginine in vascular injury in transgenic mice overexpressing dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2. *Circ Res.* 2007;101:e2– e10.
320. Mangiacapra F, Conte M, Demartini C, Muller O, Delrue L, Dierickx K, et al. Relationship of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with extent and functional severity of coronary atherosclerosis. *International Journal of Cardiology* 2016; 220:629–33.
321. LH, Sutton-Tyrrell K. Segment-specific effects of cardiovascular risk factors on carotid artery intima-medial thickness in women at midlife. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1951–6.
322. Howard G, Burke GL, Evans GW, Crouse JR III, Riley W, Arnett D, et al. Relations of intimal-medial thickness among sites within the carotid artery as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators Atherosclerosis Risk in Communities. *Stroke* 1994;25:1581–7.
323. Psaty BM, Furberg CD, Kuller LH, Bild DE, Rautaharju PM, Polak JF, et al. Traditional risk factors and subclinical disease measures as predictors of first myocardial infarction in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med* 1999;159:1339–47.
324. Mackinnon AD, Jerrard-Dunne P, Sitzer M, Buehler A, von KS, Markus HS. Rates and determinants of site-specific progression of carotid artery intima-media thickness: the carotid atherosclerosis progression study. *Stroke* 2004;35:2150–4.
325. Zhang Z, Bian L, Choi Y. Serum Uric Acid: A Marker of Metabolic Syndrome and Subclinical Atherosclerosis in Korean Men. *Angiology* 2012; 63:420-8.
326. Choi HK, Ford ES. Prevalence of the Metabolic Syndrome in Individuals with Hyperuricemia. *Am J Med.* 2007; 120:5:442–7. doi:10.1016/j.amjmed.2006.06.040.
327. Targher G, Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; 191:235–40.
328. Ruhl CE, Everhart JE. Elevated serum alanine aminotransferase and gamma glutamyl transferase and mortality in the United States population. *Gastroenterology* 2009;136:477-85.
329. Francque S, Laleman W, Verbeke L, Van Steenkiste C, Casteleyn C, Kwanten W, et al. Increased intrahepatic resistance in severe steatosis: endothelial dysfunction,

- vasoconstrictor overproduction and altered microvascular architecture. *Lab Invest* 2012;92:1428–39.
330. Farrell GC, Teoh NC, McCuskey RS. Hepatic microcirculation in fatty liver disease. *Anat Rec (Hoboken)* 2008;291:684–92.
331. Coulon S, Legry V, Heindryckx F, Van Steenkiste C, Casteleyn C, Olievier K, et al. Role of vascular endothelial growth factor in the pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis in two rodent models. *Hepatology* 2013;57:1793–805.
332. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;42:473-80.
333. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Zenari L, Zoppini G, Falezza G. Relation of nonalcoholic hepatic steatosis to early carotid atherosclerosis in healthy men:role of visceral fat accumulation. *Diabetes Care* 2004;27:2498-500.
334. Brea A, Mosquera D, Martin E, Arizti A, Cordero JL, Ros E. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with carotid atherosclerosis: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1045-50.
335. Volzke H, Robinson DM, Kleine V. Hepatic steatosis is associated with an increased risk of carotid atherosclerosis. *World J Gastroenterol* 2005;11:1848-53.
336. Targher G, Bertolini L, Padovani R. Relations between carotid artery wall thickness and liver histology in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2006;29:1325-30.
337. Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S. Carotid artery intima-media thickness in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Med* 2008;121:72-8.
338. Kim HC, Kim D, Huh KB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and carotid intima-media thickness according to the presence of metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2009;204:521-5.
339. Al Rifai M, Silverman MG, Nasir K, Budoff MJ, Blankstein R, Szklo M, et al. The association of nonalcoholic fatty liver disease, obesity, and metabolic syndrome, with systemic inflammation and subclinical atherosclerosis: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis* 2015;239: 629-33.
340. Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, et al. *Diabetes Care* 2007; 30:1212–18.
341. Hyun Mun J, Eun Lee S, Ahn JH, Shinn SH. Association of Adiponectin and Hepatic Steatosis in Adults with Normal Transaminase Levels. *Korean Diabetes J* 2008; 32:149-56.

342. Sookoian S, Pirola CJ. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: a systematic review. *J Hepatol* 2008;49:600-7.
343. Fraser A, Harris R, Sattar N, Ebrahim S, Smith GD, Lawlor DA. Gamma-glutamyltransferase is associated with incident vascular events independently of alcohol intake: analysis of the British Women's Heart and Health Study and meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:2729-35.
344. Goessling W, Massaro JM, Vasan RS, D'Agostino RB Sr, Ellison RC, Fox CS. Aminotransferase levels and 20-year risk of metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease. *Gastroenterology* 2008;135:1935-44.
345. Gkaliagkousi E, Douma S. The pathogenesis of arterial stiffness and its prognostic value in essential hypertension and cardiovascular diseases. *Hippokratia* 2009;13:70-7.
346. Kasumov T, Edmison JM, Dasarathy S, Bennett C, Lopez R, Kalhan SC. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2011;60:776-81.
347. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 2007;115:1285-95.
348. Gulsen M, Yesilova Z, Bagci S. Elevated plasma homocysteine concentrations as a predictor of steatohepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:1448-55.
349. Kalhan SC, Guo L, Edmison J. Plasma metabolomic profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2011;60:404-13.
350. Polyzos SA, Kountouras J, Patsiaoura K. Serum homocysteine levels in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2012;11:68-76.
351. Lombardi R, Pisano G, Fargion S. Role of Serum Uric Acid and Ferritin in the Development and Progression of NAFLD. *Int J Mol Sci.* 2016; 17:548.
352. Kanbay M, Jensen T, Solak Y, Myphuong Le, Roncal-Jimenez C, Rivard C et al. Uric acid in metabolic syndrome: From an innocent bystander to central player. *Eur J Intern Med.* 2016; 29: 38.
353. Chalasani N, Deeg MA, Crabb DW. Systemic levels of lipid peroxidation and its metabolic and dietary correlates in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1497-502.
354. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:29-33.

355. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu Fb, Rimm EB, et al. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004;291:1730–7.
356. Xu A, Wang Y, Keshaw H, LY X, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003;112:91–100.
357. Lebensztejn DM, Wojtkowska M, Skiba E, Werpachowska I, Tobolczyk J, Kaczmarek M. Serum concentration of adiponectin, leptin and resistin in obese children with non-alcoholic fatty liver disease. *Advances in Medical Sciences* 2009;54:177-82.
358. Singh DK, Sakhuja P, Rastogi A, Singh A, Gondal R, Sarin SK. Serum leptin levels correlate with body mass index but not with histologic disease severity in Indian patients with non-alcoholic steatohepatitis: A pilot study. *Indian J Med Res* 2013;137:986-7.