

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

NATAŠA V. RAJKOVIĆ

**ANALIZA POVEZANOSTI
ADIPOCITOKINA, GOJAZNOSTI I RANIH
MARKERA ATEROSKLEROZE KOD
PACIJENATA SA TIPOM 2 DIJABETESA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2014.godine

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

NATAŠA V. RAJKOVIĆ

**ANALIZA POVEZANOSTI
ADIPOCITOKINA, GOJAZNOSTI I RANIH
MARKERA ATEROSKLEROZE KOD
PACIJENATA SA TIPOM 2 DIJABETESA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2014.godine

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

NATAŠA V. RAJKOVIĆ

**ANALYSIS OF THE ASSOCIATION
BETWEEN ADIPOCYTOKINES, OBESITY
AND EARLY MARKERS OF
ATHEROSCLEROSIS
IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES**

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2014.godine

Mentor:

Prof. dr Miroslava Zamaklar, profesor u penziji,
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

Prof. dr Nebojša Lalić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Aleksandra Jotić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Georgina Pudar, profesor u penziji,
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Datum odbrane:

Zahvalnost za izradu doktorske disertacije dugujem:

Prof. dr Miroslavi Zamaklar, mentoru ovog rada, koja je rukovodila izradom teze sa podsticajem u pravo vreme u planiranju i izvođenju istraživanja, spremna da pohvali i ukaže poverenje.

Prof. dr Nebojši M. Lalić, koji je svojim znanjem i iskustvom pomagao u izradi rada, davao mi podršku i učinio da rezultati rada imaju punu vrednost.

Prof. dr Aleksandri Jotić, Prof. dr Georgini Pudar i Prof. dr Katarini Lalić dugujem posebnu zahvalnost za razumevanje, podršku i zainteresovanost za istraživanje u okviru ovog rada.

Svojim koleginicama iz Centra za lipidske poremećaje i kardiovaskularne komplikacije u dijabetesu, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, zahvalna sam na razumevanju i kolegijalnoj pomoći uz koje je izrada ovog rada bila mnogo lakša.

Svojim medicinskim sestrama iz Centra za lipidske poremećaje i kardiovaskularne komplikacije u dijabetesu, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, zahvalna sam na velikom trudu koje su uložile u zajedničkom radu u okviru ove teze, a posebno sam im zahvalna na prijateljskoj podršci da završimo veliki posao.

Svojoj porodici za veliku podršku u svakom smislu u toku izrade ove disertacije.

ANALIZA POVEZANOSTI ADIPOCITOKINA, GOJAZNOSTI I RANIH MARKERA ATEROSKLEROZE KOD PACIJENATA SA TIPOM 2 DIJABETESA

Adipocitokini su osnovni molekuli preko kojih masno tkivo ostvaruje efekte na druga tkiva. Rezultati studija ukazuju da je nivo adiponektina snižen, a nivo leptina i rezistina povišen kod gojaznih osoba i kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (T2D), mada postoje i suprotni nalazi. Takođe, adipocitokini imaju značajnu ulogu u razvoju oboljenja koja su povezana sa gojaznošću a pre svega u razvoju ateroskleroze. Adipocitokini svoje efekte na krvne sudove ostvaruju smanjujući aktivnost sintaze azot oksida (NOS) i snižavajući nivo azot oksida (NO). NO se u organizmu brzo menja u svoje stabilne oksidovane metabolite, merenjem nivoa ovih produkata u plazmi može se jasno odrediti stanje endotelne funkcije. Literaturni podaci ukazuju da su NO i NOS dobri markeri ateroskleroze. U brojnim studijama je pokazano da je nivo oksidovanog LDL-a (oxLDL) povišen kod pacijenata sa T2D a posebno kod onih sa makrovaskularnim komplikacijama, pa je i on dobar parametar smanjene endotelne funkcije.

Povezanost izmenjenih adipocitokina sa ranim markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D nije razjašnjena, kao ni uticaj gojaznosti na ovu povezanost. U tom smislu cilj ovog istraživanja je bio da se prouče efekti adipocitokina, a pre svega njihova povezanost sa ranim markerima ateroskleroze. U našem ispitivanju u cilju proučavanja povezanosti adipocitokina i markera ateroskleroze, analizirali smo najpre povezanost adipocitokina sa standardnim faktorima rizika za razvoj ateroskleroze. Proučavali smo značaj i ulogu insulinske rezistencije, hronične inflamacije, lipidnih parametara i izmenjene fibrinolize u razvoju ateroskleroze kao i povezanost ovih metaboličkih faktora rizika za aterosklerozu sa adipocitokinima kod pacijenata sa T2D. Posebno je proučen efekat gojaznosti na povezanost adipocitokina i markera ateroskleroze.

U malom broju studija je analizirana povezanost postprandijalnih promena adipocitokina sa endotelnom disfunkcijom. Rezultati iz literature na ovu temu su vrlo oskudni i za opštu populaciju a posebno je retko ispitivana ova povezanosti kod pacijenata sa T2D. O efektima gojaznosti na ovu povezanost kod pacijenata sa T2D i nema rezultata. U tom smilsu cilj ovog istraživanja je bio i da se analizira povezanost postprandijalnih

promena adiponektina sa ranim markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D kao i uticaj gojaznosti na ovu povezanost.

U ispitivanje u okviru ovog rada je uključeno 65 pacijenata sa T2D i 15 zdravih osoba, oba pola, starosti 40-70 godina. Ispitanici su raspoređeni u sledeće grupe: gojazni pacijenti (ITM > 25kg/m²) sa T2D (grupa A, N=39); negojazni pacijenti sa T2D, ITM < 25 kg/m², (grupa B, N=26) i zdravi ispitanici (grupa C, N=15). Kod svih ispitanika u serumu je našte, nakon 12h gladovanja, određen nivo ukupnog holesterola (UH), njegovih supfrakcija (HDL, LDL) i triglicerida (TG), metodom hromatografije, a nivo apolipoproteina (Apo) A1, A2, B i E metodom nefelometrije. Nivo ukupnog adiponektina, oxLDL-a (Mercodia), rezistina, TNF- α , IL-6 (ALPCO diagnostic) i hsCRP-a (ACL instrument Laboratory) je određen ELISA metodom. Leptin (Linco) i nivo insulina (INEP) su determinisani RIA metodom. Insulinska senzitivnost je procenjivana po modelu homeostaze (HOMA-IR). Fibrinogen je određen koagulometrijom, a nivo plazminogen aktivator inhibitora 1 (PAI-1) u plazmi određen je metodom hromogenog plazminogen/plazmin substrat eseja. Nivo NO-a, NOS-a i slobodnih masnih kiselina (SMK) je određivan kolorimetrijskom metodom. Postprandijalne promene ispitivanih parametara kod svih pacijenata analizirali smo nakon uzimanja probnog doručka-standardni masni obrok energetske vrednosti 919 kcal, koji se sastoji od 49% masti, 14% proteina 33g i 36% ugljenih hidrata 83g. Nakon standardnog masnog obroka kod svih pacijenta su u 2., 4., 6. i 8 h određene postprandijalne vrednosti glukoze, insulina, adiponektina, slobodnih masnih kiselina i lipidskih parametara.

Naši rezultati su pokazali da je postojanje dijabetesa je bilo povezano sa nivoom adiponektina ali nije uticalo na nivo leptina i rezistina. Gojaznost je značajno utiče na nivo adipocitokina kod pacijenata sa T2D. Najniži nivo adiponektina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najviši u grupi zdravih ispitanika i značajno viši u poređenju sa negojaznim pacijentima. Takođe, nivo adiponektina je bio značajno niži u grupi gojaznih pacijenata u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D. Najviši nivoi leptina i rezistina su registrovani u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži u grupi zdravih ispitanika. Nivo rezistina i leptina u grupi negojaznih T2D nije se razlikovao u odnosu na grupu zdravih ispitanika. U grupi gojaznih pacijenata sa T2D nivo rezistina i leptina je bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D.

Nivo insulina i HOMA-IR su se značajno razlikovali između ispitivanih grupa. Utvrdili smo da su nivoi adiponektina i rezistina bili povezani sa parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D. Nivo leptina nije bio povezan sa parametrima insulinske rezistencije. Gojaznost ima značajan uticaj na povezanost adiponektina i rezistina sa parametrima insulinske rezistencije.

Najviši nivo UH, LDL-a i TG je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D. Nivoi HDL-a i TG su se razlikovali između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, dok se ove grupe nisu razlikovale u nivou UH i LDL-a. Nije bilo razlike u nivou SMK između ispitivanih grupa. Nivoi adipocitokina su bili povezani sa lipidskim parametrima i lipoproteinskim frakcijama, kod pacijenata sa T2D. Gojaznost utiče na povezanost rezistina sa lipidskim parametrima i lipoproteinskim frakcijama.

Utvrdili smo da je PAI-1 bio značajno viši u grupi gojaznih pacijenata sa T2D u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D. Takođe, nivo PAI-1 u grupi negojaznih T2D je bio značajno viši u poređenju sa nivoom PAI-1 kod negojaznih zdravih ispitanika. Utvrđena je značajna povezanost nivoa PAI-1 sa nivoima adipocitokina i gojaznost utiče na tu povezanost kod pacijenata sa T2D.

Utvrdili smo da se nivo hsCRP-a nije se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, a utvrđena je razlika između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika. Nivo TNF- α i nivo IL-6 se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D. Istovremeno, u nivou TNF- α je utvrđena razlika između grupe negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika ali se ove dve grupe nisu razlikovale u nivou IL-6. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, je utvrđena značajna povezanost nivoa adipocitokina sa markerima inflamacije a gojaznost utiče na tu povezanost.

Utvrdili smo da je najniži nivo NO-a kao i NOS-a bio kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najviši kod zdravih ispitanika. Najviši nivo oxLDL-a je bio u grupi gojaznih pacijenata sa T2D. Nivo oxLDL-a, NO-a kao i nivo NOS-a značajno se razlikovao između ispitivanih grupa. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost nivoa oxLDL-a i NO-a sa nivoom svih adipocitokina, kao i povezanost nivoa NOS-a sa vrednostima leptina i rezistina. Gojaznost utiče na povezanost adipocitokina i markera endotelne disfunkcije.

Nivo ukupnog postprandijalnog odgovora adiponektina, nije se značajno razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, a razlikovao se između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika. Nivo postprandijalnog insulina je bio različit ispitivanih grupa. Kod pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa vrednostima HOMA-IR i bazalnog insulina. Gojaznost nema uticaja na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D.

Postprandijalne promene adiponektina su bile povezane sa postprandijalnim promenama standardnih lipidskih parametara kod pacijenata sa T2D. Gojaznost utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama HDL-a i TG. Maksimalna postprandijalna promena adiponektina je bile povezane sa svim ranim markerima ateroskleroze. Gojaznost ne utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa ranim markerima ateroskleroze.

U celini, pokazali smo da su kod pacijenata sa T2D adipocitokini su značajno povezani sa ranim markerima ateroskleroze, a gojaznost ima uticaja na ovu povezanost. Istovremeno, adipocitokini su bili povezani sa standardnim faktorima rizika za razvoj ateroskleroze. Postprandijalne promene adiponektina su bile povezane sa parametrima insulinske rezistencije i postprandijalnim promenama standardnih lipidskih parametara. Postprandijalne promene adiponektina su bile povezane sa ranim markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D, a gojaznost ne utiče na ovu povezanost.

Ključne reči: adipocitokini, tip 2 dijabetesa, gojaznost, ateroskleroza, markeri ateroskleroze, postprandijalni adiponektin

naučna oblast: medicina; uža naučna oblast: endokrinologija

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION BETWEEN ADIPOCYTOKINES, OBESITY AND EARLY MARKERS OF ATHEROSCLEROSIS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Adipocytokines are the basic molecules through which adipose tissue exerts its effects on other tissues. The majority of studies have provided results suggesting that adiponectin levels are lower, and leptin and resistin levels higher in obese subjects and in patients with type 2 diabetes (T2D), although opposite findings have also been reported. In addition, adipocytokines play a significant role in the development of obesity-related diseases. Adipocytokines exert their effects on the blood vessels by affecting the levels of nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS). As NO in the organism changes into its stable oxidized metabolites, measurement of the levels of these products in plasma may clearly determine the state of endothelial function. Pathophysiological changes that occur in the process of atherosclerosis in patients with T2D may be assessed by determining the levels of NO and NOS. Numerous studies have shown that the level of oxidized LDL (oxLDL) is increased in patients with T2D, specifically those with microvascular complications. In this regard, oxLDL has also been recognized as a good parameter of impaired endothelial function in patients with T2D.

The association between altered adipocytokines and early markers of atherosclerosis in patients with T2D has not been clarified, nor the influence of obesity on this association. To this effect, the aim of this investigation was to study the effects of adipocytokines, primarily their association with early markers of atherosclerosis. In this study, with the goal of examining the association between adipocytokines and the markers of atherosclerosis, we first analyzed the association between adipocytokines and the standard risk factors for atherosclerosis development. We examined the role of insulin resistance, chronic inflammation, lipids and altered fibrinolysis in the development of atherosclerosis, as well as the association between these metabolic risk factors for atherosclerosis and adipocytokines in patients with T2D. Special focus was placed on the effect of obesity on the association between adipocytokines and the early markers of atherosclerosis.

Few studies have analyzed the association between postprandial changes in adipocytokines and endothelial dysfunction. The results from literature on this topic are scarce even for the

general population, and this association especially has rarely been investigated in patients with T2D. There are no available results about the effects of obesity on this association in patients with T2D. In this regard, the aim of this investigation was to also analyze the association between postprandial changes in adiponectin and the early markers of atherosclerosis in patients with T2D, as well as the effects of obesity on this association.

The testing within this investigation included 65 patients with T2D and 15 healthy persons of both sexes, aged 40–70 years. The subjects were divided into the following groups: obese patients (BMI > 25 kg/m²) with T2D (group A, N = 39); nonobese patients (BMI < 25 kg/m²) with T2D (group B, N = 26) and healthy subjects (group C, N = 15). In all the subjects the levels of total cholesterol (TC), its subfractions (HDL, LDL) and triglycerides (TG) were determined in serum after a 12 h fast using chromatography, and the levels of apolipoproteins (Apo) A1, A2, B and E by using nephelometry. The levels of total adiponectin, oxLDL (Mercodia), resistin, TNF- α , IL-6 (ALPCO diagnostic) and hsCRP-a (ACL Instrument Laboratory) were determined by ELISA. Leptin (Linco) and insulin levels (INEP) were determined using RIA. Insulin sensitivity was determined by homeostasis model assessment (HOMA-IR). Fibrinogen was determined by coagulometry, and the level of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma was determined by the chromogenic plasminogen/plasmin substrate assay. The levels of NO, NOS and free fatty acids (FFA) were determined using colorimetry. Postprandial changes in the examined parameters in all the patients were analyzed after an experimental breakfast – a standard fatty meal of 919 kcal energy intake, composed of 49% fat, 14% proteins 33 g and 36% carbohydrates 83 g. After a standard fatty meal, postprandial values of glucose, insulin, adiponectin, free fatty acids and lipid parameters were determined in all patients after 2, 4, 6 and 8 h.

Our results showed that the level of adiponectin was significantly different in patients with T2D in relation to healthy subjects. The existence of diabetes was related to the level of adiponectin but did not affect the levels of leptin and resistin. Obesity is significantly associated with the level of adipocytokines in T2D patients. The lowest adiponectin level was observed in the group of obese T2D patients and the highest in the group of healthy subjects that was also significantly higher in comparison with nonobese patients. Also, the level of adiponectin was significantly lower in the group of obese patients in comparison

with the nonobese T2D patients group. The highest levels of leptin and resistin were observed in the group of obese T2D patients, and the lowest in the group of healthy subjects. The levels of resistin and leptin in the group of nonobese T2D patients were not different from those in the group of healthy subjects but in the group of obese patients with T2D they were significantly higher in comparison with the group of nonobese T2D.

In the examined groups the level of insulin and the HOMA-IR were significantly differed. We determined that in patients with T2D the levels of adiponectin and resistin correlated with parameters of insulin resistance but leptin level was not associated with them. Obesity has a significant effect on the association between adiponectin and resistin and the parameters of insulin resistance.

The highest levels of TC, LDL and TG were registered in the group of obese T2D patients, and the lowest in healthy subjects. The levels of HDL and TG differed significantly between the groups of obese and nonobese T2D patients, while there was no difference between these groups with respect to the levels of TC and LDL. There was no difference in the level of FFA between examined groups. Adipocytokine levels in patients with T2D correlated with the lipid parameters and lipoprotein fractions. Obesity affects the association of resistin, but not of adiponectin and leptin, with the lipid parameters and lipoprotein fractions.

We determined that PAI-1 level was significantly higher in the group of obese T2D patients in comparison with the group of nonobese T2D patients and was higher in comparison with nonobese healthy subjects. In the examined T2D patients a significant association was determined between the level of PAI-1 and the levels of adipocytokines, and this correlation was obesity-dependent.

The level of hsCRP did not differ between obese and nonobese T2D patients, but a difference was established between nonobese T2D patients and nonobese healthy subjects. A difference was established between the levels of TNF- α and IL-6 in the obese and nonobese T2D patients. A difference in the level of TNF- α was established between the groups of nonobese T2D patients and nonobese healthy subjects, but these two groups did not differ with respect to the level of IL-6. An association was determined between the level of adipocytokines and the markers of inflammation and obesity affects this relationship.

The lowest levels of NO and NOS were present in obese T2D patients, and the highest in healthy subjects. The highest level of oxLDL was found in the group of obese patients with T2D. The level of oxLDL, NO as well as the level of NOS differed significantly between examined groups. In the patients with T2D an association was found between oxLDL and NO and the levels of all adipocytokines, as well as between NOS and the values of leptin and resistin. Obesity affects the association between adipocytokines and the markers of endothelial dysfunction.

The level of postprandial adiponectin did not differ significantly between obese and nonobese T2D patients, but a difference was observed between nonobese T2D patients and nonobese healthy subjects. The level of postprandial insulin differed between examined groups. In T2D patients an association was found between the values of postprandial adiponectin and HOMA-IR values and baseline insulin and obesity does not affect this association. In patients with T2D postprandial changes in adiponectin were associated with postprandial changes in the lipid parameters. Obesity affects the association between postprandial changes in adiponectin and postprandial changes in HDL and TG. The maximal postprandial change in adiponectin (Δ adiponectin) was associated with all the early markers of atherosclerosis. Obesity does not affect the association between postprandial changes in adiponectin and the early markers of atherosclerosis.

In patients with T2D adipocytokines are significantly associated with the early markers of atherosclerosis, and this association is obesity-dependent. At the same time, adipocytokines were associated with the standard risk factors for atherosclerosis development. Postprandial changes in adiponectin were associated with the parameters of insulin resistance and postprandial changes in standard lipid parameters. Postprandial changes in adiponectin were associated with the early markers of atherosclerosis in patients with T2D, and this association was independent of obesity.

Key words: adipocytokines, type 2 diabetes, obesity, atherosclerosis, markers of atherosclerosis, postprandial adiponectin

Scientific discipline: medical science, Field of study: endocrinology

Sadržaj

1. U V O D.....	1
1.1. Gojaznost i masno tkivo	2
1.2. Adipocitokini	3
1.2.1 Adiponektin.....	3
1.2.2 Leptin	5
1.2.3. Rezistin.....	6
1.3. Adipocitokini, insulinska rezistencija i tip 2 dijabetesa	7
1.3.1. Adipocitokini i insulinska rezistencija	7
1.3.2. Adipocitokini i tip 2 dijabetesa	8
1.4. Adipocitokini, lipidi i lipidske subfrakcije	11
1.5. Adipocitokini i fibrinoliza	12
1.6. Adipocitokini i hronična inflamacija	14
1.6.1. C- reaktivni protein (CRP).....	15
1.6.2. Faktor nekroze tumora - Tumor necrosis faktor- α (TNF- α)	17
1.6.3. Interleukin - 6 (IL-6)	17
1.7. Adipocitokini i rani markeri ateroskleroze	18
1.7.1 Adipocitokini i endotelna disfunkcija	18
1.7.2. Adipocitokini, ateroskleroza i njeni rani markeri.....	18

1.8. Postprandijalne promene lipidskih parametara	22
1.9. Postprandijalne promene adiponektina	24
1.9.1 Postprandijalne promene adiponektina i insulinska rezistencija.....	25
1.9.2 Postprandijalne promene adiponektina i postprandijalne promene lipida	26
1.9.3 Postprandijalne promene adiponektina i rani markeri ateroskleroze	26
2. CILJ RADA.....	27
3. METODE	29
3.1. Izbor ispitanika.....	29
3.2. Dijagnoza tipa 2 dijabetesa	29
3.3. Određivanje indeksa telesne mase (ITM).....	30
3.4. Određivanje rasporeda masnog tkiva	30
3.5. Terapija ispitivanih pacijenata	30
3.6. Određivanje nivoa glikemije u serumu	31
3.7. Određivanje nivoa glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) u serumu	31
3.8. Određivanje nivoa adiponektina u plazmi.....	32
3.9. Određivanje nivoa leptina u plazmi	32
3.10. Određivanje nivoa rezistina u plazmi.....	33
3.11. Određivanje nivoa TNF- α u plazmi	33
3.12. Određivanje nivoa IL-6 u plazmi	34
3.13. Određivanje nivoa oksidovanog LDL-a (oxLDL) u plazmi.....	35
3.14. Određivanje nivoa azot oksida (NO) u plazmi.....	36
3.15. Određivanje nivoa azot oksid sintaze (NOS) u plazmi	36
3.16. Određivanje nivoa ukupnog holesterola (UH), HDL-h, LDL-h i triglicerida	

u serumu	37
3.17. Određivanje nivoa apolipoproteina u serumu	37
3.18. Određivanje insulinemije u serumu	37
3.19. Određivanje insulinske senzitivnosti.....	37
3.20. Određivanje parametara inflamacije	37
3.21. Određivanje nivoa aktivnosti plazminogen aktivator inhibitora 1 (PAI-1) u plazmi	38
3.22. Test opterećenja masnim obrokom	38
3.23. Određivanje nivoa slobodnih masnih kiselina (SMK).....	38
3.24. Statistička obrada podataka.....	39
 4. R E Z U L T A T I	 40
4.1. Analiza povezanosti parametara gojaznosti i indeksa telesne mase kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kao i kod zdravih ispitanika.....	41
4.1.1. Analiza parametara gojaznosti kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	41
4.1.2. Analiza povezanosti parametara gojaznosti i indeksa telesne mase kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	42
4.2. Analiza nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	44
4.2.1. Analiza nivoa adiponektina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	44
4.2.2 Analiza nivoa rezistina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	45
4.2.3 Analiza nivoa leptina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	

u odnosu na zdrave ispitanike	46
4.3. Analiza povezanosti parametara insulinske rezistencije i adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	47
4.3.1. Analiza nivoa insulina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	48
4.3.2. Analiza vrednosti HOMA-IR kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	49
4.3.3. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i parametara insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	50
4.4. Analiza povezanosti nivoa lipidskih parametara, lipoproteinskih frakcija i slobodnim masnih kiselina sa nivoom adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	51
4.4.1 Analiza nivoa lipidskih parametara i frakcija holesterola kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	51
4.4.1.1. Analiza povezanosti lipidskih parametara i frakcija holesterola sa nivoom adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	53
4.4.2. Analiza nivoa lipoproteinskih frakcija kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike.....	54
4.4.2.1. Analiza povezanosti lipoproteinskih frakcija i nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	56
4.4.3. Analiza istovremene povezanosti nivoa lipidskih parametara, frakcija holesterola i lipoproteinskih frakcija i nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	58
4.4.4. Analiza nivoa oxLDL-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	

u odnosu na zdrave ispitanike	59
4.4.4.1 Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa oxLDL-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	60
4.4.5. Analiza nivoa slobodnih masnih kiselina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	61
4.4.5.1 Analiza povezanosti nivoa slobodnih masnih kiselina i nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	62
4.5 Analiza povezanosti nivoa adipocitokina sa parametrima fibrinolize kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	63
4.5.1. Analiza nivoa PAI-1 kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike.....	63
4.5.1.1 Analiza povezanost nivoa adipocitokina sa nivoom PAI-1 kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	64
4.6. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i markera inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	65
4.6.1. Analiza nivoa markera inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u poređenju sa zdravim ispitanicima.....	66
4.6.2. Analiza nivoa TNF- α kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	67
4.6.3. Analiza nivoa IL-6 kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	68
4.6.4. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i markera inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	69
4.6.5. Analiza uticaja nivoa parametara inflamacije na nivo adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	71

4.7. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i ranih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	72
4.7.1. Analiza nivoa NO-a i NOS-a kod gojaznih i negojaznih pacijenta sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	73
4.7.1.1 Analiza povezanosti nivoa adipocitokina sa nivoom NO-a i NOS-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	74
4.7.2. Analiza uticaja nivoa adipocitokina na nivo markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	75
4.8. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa promenama postprandijalnih vrednosti standardnih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	76
4.8.1. Analiza postprandijalnog nivoa adiponektina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike	77
4.8.2. Analiza povezanosti postprandijalnih promena adiponektina i promena postprandijalnog nivoa insulina kao i baznih vrednosti HOMA-IR kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	82
4.8.3 Analiza povezanost postprandijalnih promena adiponektina i lipidskih parametara, lipoproteinskih frakcija i slobodnih masnih kiselina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	84
4.8.3.1. Analiza povezanosti postprandijalnog nivoa adiponektina sa promenama postprandijalnih nivoa lipidskih parametara kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	84
4.8.3.2. Analiza povezanosti promena postprandijalnog nivoa adiponektina sa promenama postprandijalnih nivoa lipoproteinskih frakcija kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	85

4.8.3.3 Analiza povezanosti promena postprandijalnih nivoa adiponektina sa promenama postprandijalnih nivoa slobodnih masnih kiselina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.....	88
4.8.4. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa ranim markerima ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	89
4.8.4.1. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa nivoom bazalnih vrednosti NO-a i NOS-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	89
4.8.4.2. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa nivoom bazalnih vrednosti ox-LDL kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D	90
4.8.4.3. Analiza uticaja promena postprandijalnih vrednosti adiponektina na nivo ranih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.	91
5. DISKUSIJA	92
6. ZAKLJUČCI	107
7. LITERATURA	116

1. U V O D

Gojaznost je metabolička bolest pandemijskih razmera koja je udružena sa pojavom hipertenzije, dislipidemije, insulinske rezistencije i dijabetesa (1). Smatra se da je gojaznost osnovni faktor rizika za razvoj dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti (2). Povećanje masnog tkiva u gojaznosti je posledica povećanog energetskeg unosa i/ili smanjene energetske potrošnje i genetski je determinisana. Ranije se smatralo da je osnovna uloga masnog tkiva u skladištenju triglicerida u uslovima povećanog energetskeg unosa kao i snabdevanju organizma slobodnim masnim kiselinama u uslovima energetskeg deficit (3). Danas je utvrđeno da je masno tkivo najveći endokrini organ koji sekretuje razne medijatore u metabolizmu lipida, kao i brojne bioaktivne proteine i peptide koji su označeni kao adipocitokini. Adipocitokini imaju značajnu ulogu u održavanju energetske homeostaze, metabolizmu glukoze i lipida, u kontroli apetita, termogenezi, neuroendokrinoj regulaciji, imunitetu a posebno u funkcionisanju kardiovaskularnog sistema ali i u razvoju ateroskleroze (4). Pokazano je da su adipocitokini osnovni molekuli u komunikaciji masnog tkiva sa ostalim tkivima kao i da imaju značajnu ulogu u razvoju oboljenja koja su povezana sa gojaznošću. Primenom novih analitičkih tehnika utvrđeno je da masno tkivo oslobađa na stotine adipocitokina, a novi se stalno identifikuju (5,6). Uticaj gojaznosti na efekte adipocitokina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (T2D) nije još uvek jasno proučena. U cilju proučavanja efekata izmenjenih adipocitokina kod pacijenata sa T2D a pre svega njihovu povezanost sa ranim markerima ateroskleroze, u našem ispitivanju analizirali smo najpre povezanost adipocitokina sa standardnim faktorima rizika za razvoj ateroskleroze kao što su insulinska rezistencija, parametri hronične inflamacije, lipidni parametri i parametri fibrinolize kao i uticaj gojaznosti na tu povezanost.

1.1. Gojaznost i masno tkivo

U gojaznosti dolazi do kvantitativnog povećanja masnog tkiva zbog povećanih zahteva za deponovanjem triglicerida ali i do brojnih kvalitativnih histoloških promena. Adipociti se menjaju u smislu hiperplazije i hipertrofije a u samom tkivu dolazi do promene ćelijskog sastava u smislu izmene broja, fenotipa i lokalizacije imunih, vaskularnih i strukturalnih ćelija. Histološke promene dovode do funkcionalni promena sa nastankom stanja hronične infalmacije i tkivne hipoksije što u celini dovodi do promena u sekreciji iz masnog tkiva (1,7,8).

U gojaznosti u masnom tkivu dolazi do povećane ekspresije hemoaktraktanata kao što je monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) koji uslovljava povećanu infiltraciju masnog tkiva makrofazima i povećanu produkciju proinflamatornih citokina (8,9). Takođe, hipertofični adpcociti sekretuju više proinflamatornih citokina. Pokazana je pozitivna korelacija između veličine adipocita i sekrecije proinflamatornih faktora a pre svega TNF- α , IL-6, IL-8, MCP-1 (10). Odnos makrofaga i adipocitokina i njihova parakrina međufunkcija iniciraju i održavaju disfunkciju masnog tkiva koja postoji u gojaznosti. TNF- α direktno deluje na adipocitokine i stimulišu lipolizu, povećano oslobađanje slobodnih masnih kiselina (SMK) i ekspresiju gena koji dalje održavaju izmenjenu funkciju masnog tkiva delujući na makrofage i održavajući začarani krug u masnom tkivu kod gojaznih osoba (11,12).

Pored jasno utvrđene izmene u sekreciji adipocitokina iz masnog tkiva u gojaznost, pokazano je da sekrecija adipocitokina zavisi i od lokalizacije masnog tkiva. Visceralno i subkutano masno tkivo imaju različite adipocitokinske sekretorne profile. Sekrecija brojnih proinflamatornih citokina kao i specifična povezanost sa portnom cirkulacijom u jetri ukazali su na značajnu endokrinu funkciju visceralnih masnih depoa (3). Brojne studije su istakle da je visceralno masno tkivo značajni faktor rizika za pojavu T2D i kardiovaskularnih oboljevanja nego ukupna gojaznost (13,14,15).

1.2. Adipocitokini

Adipocitokini (adiponektin, leptin, visfatin i drugi) su peptidi koje sekretuju adipociti dok su citokini peptidi koje sekretuju stromalno-vaskularne ćelije masnog tkiva (MCP-1, TNF- α , interleukini 1B, 6, 8, 10). U njihovoj sekreciji ima i preklapanja kao što je u slučaju apelina i rezistina koje sekretuju obe vrste ćelija (16).

1.2.1 Adiponektin

Adiponektin je najbolje proučen adipocitokin. Proteinski je molekul koji se sastoji od 244 aminokiselinska ostatka, sekretuje se u belom masnom tkivu, skeletnim mišićima i kardiomiocitima i strukturno je vrlo sličan kolagenu tip VIII i X, C3 komponenti komplementa, kao i sa TNFom. Nalazi se u plazmi u koncentraciji od 2 do 30 $\mu\text{g/ml}$. Prosečne vrednosti adiponektina kod osoba normalne telesne težine su 6,5-11,3 $\mu\text{g/ml}$, a kod gojaznih 2,1-4,1 $\mu\text{g/ml}$. Muškarci imaju niži nivo adiponektina od žena (17,18). Cirkuliše u formi molekula velike molekularne težine od 30 kDa, trimera, heksamera ili kao mali globularni fragmenti (19). Adiponektin svoju aktivnost ostvaruje preko tri vrste receptora: AdipoR1 (široko rasprostranjeni, posebno u skeletnim mišićima), adipo R2 (dominantno prisutni u jetri) i T kaderina (20,21). Adipo R1 receptor ima visok afinitet za C-terminalni kraj adiponektina a mali afinitet za adiponektin u punoj dužini, dok Adipo R2 pokazuje intermedijalni afinitet za oba molekula. Adiponektinski molekul u punoj dužini ima dominantno efekte na metaboličke signale u jetri, dok oba molekula deluju na metabolizam u mišićima. U krvnim sudovima je veća ekspresija Adipo R1 receptora (22).

U brojnim studijama je pokazano da je nivo adiponektina niži kod gojaznih osoba u poređenju sa osobama normalne telesne težine. Pokazana je negativna korelacija adiponektina sa indeksom telesne mase (ITM), procentom masti, odnosom stak kuk i intrabdominalnim masnim tkivom. Nivo adiponektina raste nakon redukcije telesne težine. Na animalnim modelima je pokazano da sa redukcijom telesne težine dolazi do povećane

ekspresije RNA za adiponektin samo u visceralnom masnom tkivu (23). Utvrđena je i interindividualna varijabilnosti adiponektina za određeni stepen gojaznosti.

Brojni hormoni, insulin, glukokortikoidi, i drugi faktori cAMP, TNF- α , mogu da moduliraju ekspresiju adiponektina in vitro. Aktivacija PPAR receptora (preoksizomni proliferatorom aktivirani receptori) utiče i na ekspresiju i na sekreciju adiponektina. Nema jasnih zaključaka kako genetske varijacije za adiponektin utiču na nivo adiponektina, ali je verovatnije da varijacije u ekspresiji drugih proteina mogu da utiču na nivo adiponektina (24).

Nivo adiponektina inverzno korelira sa insulinskom rezistencijom. Adiponektin, povećava insulinsku senzitivnost, oksidaciju masnih kiselina i smanjuje sintezu glukoze u jetri (18). U nekim studijama je pokazano da nivo adiponektina inverzno korelira sa hiperlipidemijom i insulinskom rezistencijom nezavisno od ITM (25).

Adiponektin ima antiinflamatorne efekte, a proinflamatorni citokini inhibiraju sekreciju adiponektina (26). Adiponektin ima važnu antiaterogenu ulogu, regulišući signalne puteve uključene u patogenezu ateroskleroze. U brojnim studijama je pokazana povezanost sniženog nivoa adiponektina i vaskularnih oboljenja (27).

Pacijenti sa T2D imaju snižene koncentracije adiponektina. Takođe, pokazano je da pacijenti sa T2D imaju niži nivo adiponektina u odnosu na nedijabetičare nezavisno od ITM (28). Adiponektin je niži kod gojaznih dijabetičara u odnosu na gojazne nedijabetičare, a ta razlika je izraženija kod žena (29).

U japanskoj studiji koja je analizirala nivo adiponektina kod pacijenata sa T2D i normalnom telesnom težinom i umereno gojazne T2D pacijente pokazano je da se nivo adiponektina ne razlikuje u ove dve grupe dijabetičara, odnosno da adiponektin nije indikator umerene gojaznosti u T2D. Takođe pokazano da nivo adiponektina nije direktno povezan sa glikoregulacijom u T2D (30).

1.2.2 Leptin

Leptin je hormon koji sekretuju adipociti i ima značajnu ulogu u energetske homeostazi, insulinskoj rezistenciji i metabolizmu glukoze i lipida. Gojaznost je povezana sa hiperleptinemijom i leptinskom rezistencijom. Nivo leptina je povišen u proporciji sa stepenom gojaznosti. U brojnim studijama je pokazana povezanost leptina sa insulinskom rezistencijom kao i sa parametrima proinflatarnog stanja koje je povezano sa gojaznošću, ali još uvek nije jasno da li je ta povezanost kauzalna ili je uslovljena drugim parametrima (31).

Leptin je peptid koji se sastoji od 167 aminokiselinskih ostataka i sekretuje se samo u masnom tkivu. Svoju aktivnost ostvaruje preko Ob-R receptora koji su locirani u hipotalamusu (32). Osnovna uloga leptina je u kontroli unosa hrane i održavanja telesne težine. Leptin smanjuje apetit, povećava potrošnju energije preko povećanja simpatikusne aktivnosti, što vodi smanjenu masnog tkiva. Nivo leptina se smanjuje tokom gladovanja a povećava u uslovima povećanog energetskeg unosa. U brojnim radovima je pokazana jasna povezanost nivoa leptina i ITM kod gojaznih osoba što govori u prilog postojanja rezistencije na leptin u gojaznosti (33). Nezavisno od centralnih efekata koje ostvaruje preko hipotalamusa, leptin ima i periferne metaboličke efekte, a pre svega povećava lipidnu oksidaciju u jetri i lipolizu u skeletnim mišićima (34).

Kod pacijenata sa T2D u nekim studijama je pokazan povišen nivo leptina a u drugima nije bilo promene u njegovom nivou (34). Pokazano je da je nivo leptina korelira sa insulinskom rezistencijom i parametrima inflamacije (35). Značajan broj radova ukazuje da izmenjen ili smanjen efekat leptina rezultira u razvoju insulinske rezistencije i izmenjenog metabolizma glukoze (36,37).

Pored jasne uloge leptina u metaboličkim procesima, regulaciji apetita i količine masnog tkiva, sve je više potvrda da je leptin uključen u fiziološke i patološke procese u regulaciji funkcije kardiovaskularnog sistema. Leptin utiče na aktivaciju simpatikusnog sistema, renalnu hemodinamiku, tonus krvnih sudova i regulaciju krvnog pritiska. Kod

gojaznih pacijenata kod kojih je utvrđeno postojanje leptinske rezistencije na metaboličke efekte, pokazan je povećan efekat leptina na simpatikusnu aktivnost a pre svega na povećanu renalnu simpatikusnu nervnu aktivnost koja značajno utiče na vaskularni tonus (38).

1.2.3. Rezistin

Rezistin je hormon koji se sekretuje u adipocitima i pripada familiji cistein bogatih proteina. U studijama na animalnim modelima pokazano je da je nivo rezistina povišen kod gojaznih miševa i da se snižava primenom insulinskih senzitivajzera kao što je roziglitazon ili primenom antirezistin seruma. Naziv rezistin potiče od razvoja insulinske rezistencije kod miševa nakon injekcije peptida koji je kasnije označen kao rezistin. Takođe, pokazano je da sniženje njegovog nivo dovodi do snižavanja glikemije kod ispitivanih životinja. Iz rezultata animalnih studija, započela su ispitivanje uloge rezistin u ispoljavanju veze između gojaznosti i razvoja T2D (39).

U humanim studijama povezanost gojaznosti, insulinske rezistencije, T2D i rezistina je kontradiktorna. Razlike u rezultatima u animalnim i humanim studijama je i posledica postojanja samo 53% homologije ljudskog i animalnog rezistina. U nekim studijama je pokazana povišena vrednost rezistina kod gojaznih osoba (39-41), a u nekim snižen nivo rezistina ili nije utvrđena povezanost rezistina i ITM (42,43). Nema razlike po polu u nivou rezistina. Kako je niska ekspresija rezistina u adipoznom tkivu predpostavljalo se da rezistin nema velikog značaja u insulinskoj rezistenciji. Postoje rezultati nekih studija koji ukazuju na povezanost rezistina i insulinske rezistencije ali ima i suprotnih nalaza, kao što je i utvrđen različit odgovor na primenu insulinskih senzitivajzera. Nivo rezistina je značajno povišen kod pacijenata sa dijabetesom (44,45) u nekim studijama, a kod drugih autora nije utvrđena korelacija između rezistina i dijabetesa (46).

1.3. Adipocitokini, insulinska rezistencija i tip 2 dijabetesa

Gojaznost je povezana sa insulinskom rezistencijom i hiperinsulinizmom i osnovni je faktor rizika za razvoj T2D i kardiovaskularnih bolesti. Dugo se mislilo da su samo SMK koje proizvode masno tkivo odgovorne za razvoj komplikacija povezanih sa gojaznošću. Međutim, u sve većem broju studija je pokazano da i drugi adipocitokini i citokini masnog tkiva, kao što su adiponektin, rezistin, TNF- α , PAI-1, IL-6, komplement imaju značajnu ulogu u razvoju komplikacija povezanih sa gojaznošću. Njihova sekrecija je uslovljena količinom i distribucijom masnog tkiva, a veličina masne ćelije direktno utiče na insulinsku rezistenciju (47).

1.3.1. Adipocitokini i insulinska rezistencija

Pokazano je da adipocitokini direktno utiču na insulinsku signalnu kaskadu. Supstrat insulinskog receptora 1 (IRS-1) je osnovni molekul u prenošenju insulinskog signala i njegova neadekvatna aktivacija vodi sistemskoj insulinskoj rezistenciji. IL-6 i TNF- α inhibiraju fosforilaciju IRS-1 direktno preko receptora ili preko intraćelijskih molekula kao što su lipidi i slobodni kiseonični radikali i dovode do razvoja insulinske rezistencije (48).

Adipociti igraju značajnu ulogu u kontroli cirkulišućih SMK, posreduju njihovom brzom klirensu u postprandijalnom stanju i utiču na oslobađanje u lipolizi. SMK imaju ulogu u insulinskoj rezistenciji inhibirajući transport glukoze u mišićima i indukujući fosforilaciju IRS-1. Hronična izloženost povišenim koncentracijama SMK smanjuje odgovor insulina na glukozu kao i adekvatne efekte insulina (48).

Velika masna ćelija luči veću količinu TNF- α koji smanjuje sekreciju insulina pojačavajući serin fosforilaciju IRS-1 i smanjujući ekspresiju glukoznog transportera 4 (GLUT4). Postojanje polimorfizama u genu za TNF- α povećava i rizik za razvoj T2D sa evidentnom gensko-genskom interakcijom u koji je uključen i polimorfizam u genu za

IL-6 (49). TNF- α inhibira gene koji su važni u prenosu insulinskog signala i adipocitne diferencijacije (PPRA, GLUT 4, protein IRS- 1)(49).

Na nivou pankreasa TNF- α ima značajnu ulogu na sekreciju insulin kao i na prenos insulinskog signala. Visok nivo TNF- α inhibira glukozom indukovanu sekreciju insulina, verovatno indukujući NO sintezu koja oštećuje molekul DNK-a za insulin a moguće je da pospešuje apoptozu beta ćelija preko Bcl 2 faktora (34). TNF- α kao i IL-6 smanjuju insulinsku signalnu aktivnost inhibirajući fosforilaciju IRS-1.

Adiponektin povećava insulinsku senzitivnost inhibirajući produkciju glukoze u jetri i povećavajući oksidaciju masnih kiselina u jetri i u mišićima (22). Genski polimorfizam jednog nukleotida u genu za adiponektin (single nucleotide polymorphisms SNPs) ima značaja u razvoju gojaznosti, insulinske rezistencije i T2D. U studijama koje su analizirale izrazito gojaznim pacijente, pokazano je da nosioci SNPs gena imaju dvostruko veći rizik za razvoj dijabetesa (50,51).

Insulinsku senzitivnost smanjuje i povećani priliv IL-6 i SMK u portnu cirkulaciju što rezultira povećanom akumulacijom lipida u jetri. U animalnim modelima je pokazano da supstitucija adiponektina smanjuje steatozu jetre a samim tim i insulinsku rezistenciju (52).

1.3.2. Adipocitokini i tip 2 dijabetesa

Tip 2 diabetesa nastaje usled razvoja insulinske rezistencije i smanjenog sekretornog kapaciteta beta ćelije pankreasa. Povećanje mase beta ćelija zabeleženo u gojaznosti, posledica je odgovora na povećan energetske unos nutritijenata. Kada se poveća insulinska rezistencija, sekrecija insulina najpre raste ali vremenom postaje nedovoljna ili izostane i dolazi do razvoja dijabetesa.

U brojnim studijama je pokazano da su niži nivo adiponektina i povišen nivo ostalih adipocitokina povezani sa povećanim rizikom za razvoj dijabetesa ne samo kroz

povećanje insulinske rezistencije nego i kroz direktni efekat na smanjenje sekrecije insulina u beta ćeliji (53,54). Akutni porast SMK povećava insulinsku sekreciju, ali hronični porast SMK koji postoji u gojznosti inhibira sekreciju insulina i indukuje apoptozu beta ćelija povećavajući ekspresiju anti apoptotičnog protein Bcl2 (55,56).

Kod zdravih osoba leptin pospešuje sekreciju insulina, ali u gojznosti i u uslovima leptinske rezistencije na nivou β ćelije hiperleptinemija dovodi do smanjenja sekrecije insulina. Leptin deluje antiapoptotično na β ćelije ali se taj efekat gubi u gojznosti što vremenom uslovljava izmenenu tolerenciju na glukozu i vodi razvoju dijabetesa (57).

Povezanost nivoa adiponektina i insulinske senzitivnosti je pokazana i kod osoba koje nemaju razvijen dijabetes. Utvrđeno je da kod ovih ispitanika visok nivo adiponektina pozitivno korelira sa insulinskom senzitivnošću. Ova povezanost adiponektina i insulinske senzitivnosti ne zavisi od količine masnog tkiva, a određena je insulinom posredovanim metabolizmom glukoze, insulinom posredovanim metabolizmom lipida, a posebno insulinom kontrolisanom postprandijalnom supresijom SMK. Efekti adiponektina na postprandijalne vrednosti SMK, ukazuju da adiponektin direktno deluje na ekstrakciju SMK u jetri (58).

Uvelikoj japanskoj studiji u kojoj je poređen nivo adiponektina kod metabolički gojaznih osoba (osobe sa normalnim ITM ali sa povećanom količinom visceralne masti određene merenjem CT skenom) i kod metabolički zdravih osoba (ispitanici sa normalnim ITM i sa normalnom količinom visceralne masti) pokazano je da se ove dve grupe ispitanika ne razlikuje u nivo adiponektina. Kod metabolički gojaznih osoba je smanjena insulinska senzitivnost. Kod ispitanika sa normalnom telesnom težinom ali smanjenom insulinskom senzitivnošću postoji jasna korelacija između nivoa adiponektina i insulinske senzitivnosti, dok kod ispitanika sa normalnom telesnom težinom ta veza nije utvrđena. Rezultati ove studije su pokazali jasnu povezanost adiponektina i insulinske senzitivnosti kao i da je ta veza ne zavisna od stepena opšte gojznosti (59).

Pokazano je u animalnim modelima da dodavanje adiponektina koriguje insulinsku rezistenciju i može da spreći razvoj dijabetesa (52,60).

Schulze i saradnici su pokazali da se na osnovu nivoa adiponektina može predvideti razvoj T2D (61). U longitudinalnim studijama praćena pokazano je da hipoadiponektinija korelira sa progresijom insulinske rezistencije i povećanim rizikom za razvoj dijabetesa (23).

U velikoj studiji kod Pima indijanaca kod kojih je visoka zastupljenost gojaznosti, insulinske rezistencije i T2D ali ima malo kardiovaskularnih komplikacija, analizirana je povezanost adiponektina, gojaznosti, rasporeda masnog tkiva i insulinske rezistencije. U ovoj studiji pokazano je da nivo adiponektina negativno korelira sa ITM, procentom masnog tkiva, obimom struka i sa insulinskom rezistencijom. U ovoj studiji je utvrđeno da nivo adiponektina kod pacijenata sa T2D više korelira sa insulinskom senzitivnošću i insulinemijom nego sa gojaznošću i glikoregulacijom. Pokazano je da je hipoadiponektinija kod gojaznih pacijenata sa T2D pre svega posledica insulinske rezistencije i hiperinsulinemije. Utvrđeno je da je adiponektin niži kod osoba sa insulinskom rezistencijom u odnosu na zdrave, niži je kod onih sa smanjenom tolerancijom na glukozu (IGT) i T2D nego kod zdravih. Adiponektin je niži kod gojaznih dijabetičara u odnosu na gojazne nedijabetičare, a ta razlika je izraženija kod žena. Utvrđena razlika u nivou adiponektina između grupa sa različitim stepenom tolerancije na glukozu nije uzrokovana razlikom u procentu masnog tkiva, već je pokazano da i drugi faktori ne samo gojaznost igraju ulogu u determinisanju hipoadiponektinije (28).

U studijama je pokazano da nivo leptina korelira sa insulinskom rezistencijom i T2D (62). Izmenjen nivo leptina kao i leptinska rezistencija u gojaznosti vode povećanju insulinske rezistencije kao i izmenjenoj toleranciji na glukozu i progresiji ka dijabetesu (63). Kod ispitivanih pacijenata sa T2D u najvećem broju studija je pokazano da povišen nivo leptina korelira sa ITM i insulinskom rezistencijom (64,65). Abdela i saradnici su pokazali da je hiperinsulinemija koja se pojavljuje u gojaznosti posledica povećane genske ekspresije i povišenog nivoa leptina. Povezanost leptina i insulina reflektuju veličinu

masnog tkiva. Povišen nivo leptina dovodi do rezistencije insulinskih receptora u pankreasu, uzrokujući hiperinsulinemiju. Hiperinsulinemija pogoršava gojaznost i dalje povećava nivo leptina rezultujući formiranje stalne povratne pozitivne sprege i promovišući razvoj T2D (66,67).

U humanim studijama, povezanost rezistina, insulinske rezistencije i T2D je pokazana u nekim od njih (68,69) dok u drugim nije pokazana veza između rezistina, IR i insulinemije (68,42). Nivo rezistina je značajno povišen kod pacijenata sa dijabetesom (44,45) u nekim studijama, a kod drugih autora nije utvrđena korelacija između rezistina i T2D (46). Najveći broj literaturnih podataka ukazuje da je povezanost rezistina, insulinske senzitivnosti i T2D zavisna od telesne težine ispitanika i ukazuje na mogućnost da rezistin čini vezu između gojaznosti, IR i dijabetesa.

1.4. Adipocitokini, lipidi i lipidske subfrakcije

Poslednjih godina je u brojnim studijama analizirana uloga masnog tkiva u razvoju vaskularnih komplikacija u dijabetesu. Te studije su dizajnirane da se analizira povezanost adipocitokina sa tradicionalnim i ne tradicionalnim faktorima rizika kod pacijenata sa T2D. Posebno je značajna povezanost adiponektina i parametara lipidnog statusa kao tradicionalnih faktora za razvoj ateroskleroze, jer adiponektin osim uloge u kontroli metaboličkih procesa ima značajnu ulogu u predikciji razvoja dijabetesa i kardiovaskularnih komplikacija (70).

U meta analizi Lia i saradnika (71) pokazano je da pacijenti sa dijabetesom imaju niži nivo adiponektina u poređenju sa zdravim ispitanicima. Takođe, nivo ukupnog holesterola, LDL-a, triglicerida, kao i lipoproteina ApoA1 i ApoB je bio povišen a nivo HDL (high density lipoprotein-lipoprotein visoke gustine) snižen kod pacijenata sa T2D, što je pokazano i drugim studijama koje su analizirale lipidni status i adipocitokine kod T2D (72,73). Brojne studije su pokazale pozitivnu povezanost adiponektina i nivoa HDL-a (71,74). Uslu i sadardnici su pokazali značajnu i negativnu povezanost adiponektina i LDL-a (low density lipoprotein-lipoprotein niske gustine) (75). Lautamaki i saradnici su

pokazali da adiponektin ima antioksidantni efekat na LDL partikulu i da smanjuje produkciju oksidovanog LDL-a (oxLDL), što u celini ima povoljne efekte na stabilnost aterosklerotskog plaka i usporavanje procesa ateroskleroze (76).

U studijama koje su analizirale povezanost leptina i drugih tradicionalnih faktora rizika za kardiovaskularna oboljenja, pokazano je da kod pacijenata sa T2D leptin pozitivno korelira sa nivoom triglicerida (TG), lipoproteina (a) Lp(a), apolipoproteinom A1 (ApoA1), a negativno sa nivoom HDL-a (75,77).

Theodore i saradnici su analizom povezanosti adipocitokina sa metabolizmom VLDL (very low density lipoprotein) čestice, pokazali inverznu povezanost adiponektina sa nivoom TG, ApoB i HDL-om, kao i pozitivnu povezanost leptina sa ovim parametrima. Utvrdili su da povezanost adipocitokina i parametara lipidnog statusa određuje količina masnog tkiva. Nije utvrđena povezanost rezistina, IL-6 i TNF- α sa lipidnim parametrima. Pokazano je da je nivo adiponektina najvažniji prediktor koncentracije VLDL-a, a zajedno sa totalnim i subkutanim masnim tkivom je važan prediktor VLDL katabolizma. Insulinska rezistencija određuje sintezu VLDLa, kao i totalna količina masnog tkiva, dok ostali adipocitokini nemaju takav značaj. Adiponektin svoj efekat na katabolizam VLDL-a ostvaruje prvenstveno kroz lipidni metabolizam u skeletnim mišićima i indirektno kroz aktivnost lipoproteinske lipaze u adipocitima i skeletnim mišićima. Adiponektin smanjuje akumulaciju triglicerida i koncentraciju SMK u mišićima. U ovoj studiji je pokazano da rezistin ali i IL-6 i TNF- α nisu povezani sa insulinskom rezistencijom i količinom masnog tkiva pa ne iznenađuje ni odsustvo povezanosti sa metabolizmom VLDL-a (78).

Nasuprot rezultatima prethodno prikazane studije, povezanost adiponektina sa parametrima lipidnog statusa je u nekim studijama nezavisna od ITM i drugih parametara gojaznosti. Neki istraživači su pokazali da povezanost adiponektina sa parametrima lipidnog statusu ne zavisi ni od insulinemije niti od insulinske rezistencije a da njihovu povezanost određuju drugi mehanizmi osim insulinske rezistencije (28,79).

U malom broju studija sa humanom populacijom je analizirana povezanost nivoa rezistina i lipidnih parametara. U nekim studijama je pokazana negativna korelacija

rezistina sa HDL-om i pozitivna korelacija sa LDL-om. Pokazano je da povezanost rezistina i lipidnih parametara kod pacijenata sa T2D ne zavisi od gojznosti niti od glikoregulacije (79,80).

Adipociti igraju značajnu ulogu u kontroli cirkulišućih slobodnih masnih kiselina, posreduju brzom klirensu SMK u postprandijalnom stanju i utiču na oslobađanje u lipolizi (48).

Povišen nivo SMK je važna veza između insulinske rezistencije i endotelne disfunkcije. Kao i hiperglikemija i SMK kod pacijenata sa T2D indukuju oksidativni stres i imaju proinflatornu ulogu. Pokazano je da i SMK povećavaju oksidativni stres u masnom tkivu menjajući sekreciju adipocitokina, koja može dalje da smanji metabolizam glukoze u skeletnim mišićima (81).

1.5. Adipocitokini i fibrinoliza

PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1) je inhibitor tkivnog aktivatora plazminogena 1 i urokinaze. U fiziološkim uslovima PAI-1 se sekretuje u ednotelnim ćelijama i osnovni je regulator fibrinolize. U gojznosti, makrofazi masnog tkiva sekretuju PAI-1. Skurk i Hauner su pokazali da količina masnog tkiva i velična adipocita determinišu nivo PAI-1. Insulin, glikorotikoidi, angiotensin II, SMK a pre svega TNF- α i faktor rasta (transforming growth factor β) TGF- β pojačavaju sekreciju PAI-1 (81) Pokazano je da na nivo PAI-1 kod pacijenata sa dijabetesom utiče nivo glukoze, insulina ali i nivo triglicerida (82).

Nivo PAI-1 je povišen u T2D. Nivo PAI-1 je povišen kod gojznih osoba, a posebno kod onih kod kojih postoji insulinska rezistencija ili je već razvijen T2D. Gojzni pacijenti sa T2D imaju tri puta više vrednosti PAI-1 od gojznih pacijenata bez dijabetesa (83). Studija Fesat i saradnika je pokazala da je progresija nivoa PAI-1 u vremenu kod zdravih ispitanika povezana sa izmenom u tolerenciji glukoze i rizikom za razvoj dijabetesa (84).

Kliničke manifestacije ateroskleroze nastaju nakon progresivnog razvoja aterosklerozne ploče i posledične tromboze na mestu lezije krvnog suda. Očigledno je da fibrinski depoziti u ovom procesu igraju značajnu ulogu, a sa druge strane ukazano je i da fibrinske naslage mogu biti inicirajući faktor lezije endotela krvnoga suda. Takođe, fibrin može doprinositi i daljem rastu aterosklerozne lezije verovatno stimulacijom proliferacije glatko-mišićnih ćelija i vezivanjem i akumulacijom LDL-a (82). Fibrinoliza je proces kojim dolazi do razgradnje fibrinskih naslaga, pa stoga smanjenje fibrinolize može biti značajan faktor u formiranju i daljem razvoju aterotromboze. Pojačana aktivnost PAI-1, smanjena fibrinoliza i pojačana koaguabilnost su osnovni faktori koji dovode do razvoja kardiovaskularnih komplikacija u dijabetesu (85). U brojnim studijama je pokazano da PAI-1 predstavlja dobar marker kardiovaskularnog rizika (86,87).

1.6. Adipocitokini i hronična inflamacija

Danas je jasno prihvaćeno da se gojaznost, T2D i kardiovaskularna oboljena odlikuju stanjem hronične inflamacije niskog stepena sa povećanom produkcijom citokina, proinflamatornih adipocitokina ali i povećanjem ćelijskog susprata u masnom tkivu. Citokini su mali proteinski molekuli koji nastaju kao odgovor na aktivirajuće stimulse inflamacije (88,89).

U gojaznosti u masnom tkivu dolazi do porasta broja makrofaga (90). Pokazano je da je kod jako gojaznih osoba broj makrofaga mnogo veći u visceralnom masnom tkivu nego u subkutanom. Makrofazi povećano stvaraju hemoatraktante koji privlače nove monocite koji dalje održavaju tkivnu inflamaciju. U masnom tkivu se povećan broj makrofaga nalazi i oko mrtvih ili umirućih adipocita, gde formiraju strukturu sličnu kruni (91,92).

Povećanje masnog tkiva indukuje hroničnu inflamaciju na razne načine a dva su osnovna, disfunkcija organela i tkivna hipoksija. Povećanje masnog tkiva i adipocitna hiperplazija i hipertrofija uzrokuju lokalnu hipoksiju tkiva i apoptozu adipocita koji privlače makrofage (93). Hipetrofični adipociti počinju da sekretuju inflamatorne citokine a pre svega TNF- α koji stimulišu preadipocite i endotelne ćelije da dalje proizvode

hemoatraktante. Povećanje masnog tkiva uzrokuje i povećanu lipolizu sa povećanim oslobađanjem SMK koje vode do disfunkcije ćelijskih organela. SMK povećavaju produkciju slobodnih kiseoničnih radikala a oni dovode do oštećenja mitohondrija i endoplazmatskog retikuluma ćelija i dalje produkcije novih inflamatornih signal (94).

U in vitro studijama je pokazano da humani preadipociti u uslovima tkivne hipoksije povećavaju ekspresiju leptina a smanjuju ekspresiju PPARs gamma. Utvrđeno je da primena PPARs agonista dovodi do smanjena hronične inflamacije (95). Takođe, pokazano je da u uslovima hipoksije dolazi do inhibicije diferencijacije preadipocita (96).

Kod gojaznih pacijenata registruje se i produženo postprandijalno stanje koje povećava inflamaciju. Hiperglikemija i hipertrigliceridemija u postprandijalnom stanju kod gojaznih T2D povećavaju koncentraciju proteina izmenjenih glikozilacijom (AGEs) koji između ostalog aktiviraju i imunološki odgovor (97).

Stanje hronične inflamacije karakteriše se povećanom produkcijom raznih citokina, a pre svega TNF- α , IL-6 i C reaktivnog proteina (CRP)(97).

1.6.1. C- reaktivni protein (CRP)

Brojna istraživanja su jasno pokazala da su povišene vrednosti CRP-a povezane sa gojaznošću, kardiovaskularnim bolestima (KVB) i T2D. CRP se sekretuje u jetri nakon stimulacije IL-6 i TNF-om, ali mogu da ga sekretuju i zreli adipociti nakon stimulacije TNF-om i rezistinom (98,99).

CRP ima brojne funkcije od kojih su najvažnije da povećava produkciju intracelularnog adhezionog molekula 1 (ICAM 1) i monocitnog hemotaktičnog protein 1 (MCP1) u endotelnim ćelijama, koji imaju važnu ulogu u procesu ateroskleroze (99,100). CRP stimuliše sintezu tkivnih faktora i aktivira komplement. Studije in vitro su pokazale da se agregati CRP vezuju za LDL i VLDL holesterol, aktiviraju komplement i iniciraju procese koagulacije.

U brojnim studijama jasno je pokazano da pacijenti sa T2D i povišenim CRP-om imaju veći rizik za razvoj KVB (101). Značaj CRP-a za razvoj KVB gotovo je jednak kao i uticaj LDL i HDL holesterol. Rezultati velike JUPITER (Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin) studije ilustruju tu hipotezu. Pacijenti sa normalnim vrednostima LDL-a ali sa povišenim CRP-om imaju povećan kardiovaskularni rizik (102).

Vrednosti CRP jasno koreliraju sa ITM i smanjuju se nakon redukcije telesne težine a te promene posredovane su promenama u nivou adiponektina (103). Centralna gojaznost direktno uslovljava povišen nivo CRP-a. Kod pacijenata sa KB i T2D pokazano je da CRP i adiponektin negativno koreliraju. U samom masnom tkivu adiponektin inhibira ekspresiju CRP-a (104). U ATTICA populacionoj studiji koja je kod 3000 ispitanika analizirala faktore rizika za KVB, pokazano je da adekvatna primena dijetetskog režima ishrane redukuje nivo CRP-a, IL-6, fibrinogena i homocisteina. Utvrđeno je da CRP zajedno sa godinama starosti, T2D i hipertenzijom predstavlja najvažnije faktore rizika za razvoj KVB (105).

Kliničke studije kao i studije in vitro pokazale su da CRP utiče na razvoj leptinske rezistencije, vezujući se za leptin i smanjujući signalni proces (106).

Novije studije ukazuju da je CRP kod gojaznih pacijenata sa dijabetesom više povezan sa gojaznošću nego sa insulinskom rezistencijom i samim dijabetesom. U neki radovima je pokazano da se povezanost CRP i adiponektina gubi kada se ispitanici usaglase po polu i ITM (107). Nasuprot rezultatima prethodnih studija, Putz i saradnici su analizirajući adipocitokine i CRP kod gojaznih osoba i pacijenata sa T2D pokazali da je CRP značajno povezan sa procentom masti i totalnom masom masnog tkiva, a da adiponektin ne pokazuje povezanost ni sa jednim od njih (108).

1.6.2. Faktor nekroze tumora - Tumor necrosis faktor- α (TNF- α)

Faktor nekroze tumora, Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) je citokin koji proizvode makrofazi u masnom tkivu, ćelije ubice (NK) i T limfociti. U brojnim studijama je pokazana jasna povezanost gojaznosti i nivoa TNF- α . Kod gojaznih osoba sedam puta se sekretuje više TNF- α nego kod osoba normalne telesne težine (109). TNF- α pospešuje inflamaciju, endotelnu aktivaciju i povećava vaskularnu permeabilnost. Hronično povišen nivo TNF- α u gojaznosti utiče na metabolizam glukoze, smanjuje insulinsku senzitivnost (110). Takođe, pokazano je da TNF- α suprimira sekreciju adiponektina (111) ali pospešuje sekreciju IL-6. U nekoliko studija pokazano je da TNF- α ima direktne efekte na kardiomiocite, indukujući njihovu hipertrofiju i apoptozu a smanjuje kontraktilnost (112). Postoje jasni dokazi da TNF- α indukuje povećanu produkciju VLDL partikula, inverzno je povezan sa nivoom lipoproteinske lipaze a takođe je povezan i sa nivoom triglicerida (113).

Nekoliko studija preseka kao i populacionih, epidemioloških studija pokazale su povezanost TNF- α sa insulinskom rezistencijom i komponentama metaboličkog sindroma (114,115). U studijama u kojima je analiziran nivo TNF- α kod pacijenata sa dijabetesom ili izmenjenom glukoznom tolerancijom dobijeni su diskrepantni rezultati. U nekim od njih pokazan je povišen nivo TNF- α kod pacijenata sa T2D i IGT a kod nekih ne (116,117). IRAS (the insulin resistance atherosclerosis study) studija je potvrdila da je TNF- α povišen kod T2D i da je ta povezanost nezavisna od gojaznosti (118).

1.6.3. Interleukin - 6 (IL-6)

Povećanje masnog tkiva u gojaznosti je praćeno i povećanom sekrecijom interleukina-6 (IL-6). IL-6 ima važnu ulogu u održavanju hronične inflamacije te mu se danas pripisuje važna uloga u razvoju oboljenja koja su povezana sa gojaznošću. IL-6 promoviše insulinsku rezistenciju i endotelnu disfunkciju (119,120).

U studijama je pokazana povišen nivo IL-6 kod gojaznih osoba kao i kod pacijenata sa T2D (121-123). Neki autori su pokazali povezanost IL-6 i insulinske rezistencije (124).

Pokazano je da IL-6 smanjuje insulinsku senzitivnost, povećava produkciju leptina i lipolizu i smanjuje aktivnost lipoproteinske lipaze u adipocitima (125,126). Takođe, publikovani su i suprotni rezultati koji nisu pokazali povezanosti IL-6, gojaznosti i insulinske rezistencije (127). Kod gojaznih pacijenata sa T2D se smatra da snižen nivo adiponektina utiče na povećanu sekreciju IL-6 (128).

1.7. Adipocitokini i rani markeri ateroskleroze

Rezultati brojnih studija, kliničkih i epidemioloških, pokazali su da je kod pacijenata sa dijabetesom značajno povećana učestalost ateroskleroze, a da je rizik za razvoj koronarne bolesti (KB) kod pacijenata sa T2D dva puta veći u poređenju sa nedijabetičarima (2,3). Poslednjih godina, brojne studije kako na animalnim modelima, tako i studije sa humanom populacijom pokušavaju da utvrde pouzdan i stabilan biohemijski marker ateroskleroze. Dobar rani marker ateroskleroze treba da obezbedi detekciju početnih promena u razvoju ateroskleroze kao i jednostavno i pouzdano praćenje dinamike aterosklerotskih promena.

1.7.1 Adipocitokini i endotelna disfunkcija

Prve promene koje se dešavaju u složenom procesu ateroskleroze su promene na endotelu. Adipocitokini imaju značajnu ulogu u razvoju endotelne disfunkcije i procesu ateroskleroze. Endotelna disfunkcija se karakteriše brojnim abnormalnostima, a pre svega dolazi do smanjene aktivnosti sintaze NO-a (NOS) i sledstvene smanjene produkcije NO-a (azot oksid) na normalne sekretorne signale. Smanjen nivo NO-a vodi porastu ekspresije adhezivnih molekula i pokretanju inflamatornih procesa koji su u osnovi ateroskleroze. Vaskularni endotel je važan parakrini organ koji reguliše vaskularni tonus, proliferaciju glatkih mišića i inflamaciju. NO je osnovna supstanca koja reguliše vazokonstrikciju i vazodilataciju, migraciju leukocita, rast glatko mišićnih ćelija i adhezivnih molekula.

Endotelnu disfunkciju pokreću brojni adipocitokini uključujući adiponektin, TNF- α , oxLDL. Adipocitokini aktiviraju signaline kinaze dovode do povećanog stvaranja reaktivnih kiseoničnih radikala a oni dalje pokreću inflamatorni milje koji ima važnu ulogu u razvoju ateroskleroze kod T2D. Slobodni radikali redukuju bioraspoloživost NO-a čime se zatvara krug (23).

Adiponektin direktnim dejstvom na endotel krvnog suda ostvaruje antiinflamatorne i ateroprotektivne efekte na vaskularno tkivo. Antiaterogenu ulogu adiponektin ostvaruje učestvujući u tri metabolička puta u endotelnim ćelijama. Adiponektin kontroliše funkciju PI3K–Akt (fosfatidil inozitol 3 fosfokinaza), endotelnu NO sintazu (eNOS) i AMPK (fosfokinazni) put (26). Redukcija nivoa adiponektina kod gojaznih osoba ne samo da dovodi do insulinske rezistencije i poremećaja glikoregulacije nego dovodi i do endotelne vaskularne disfunkcije.

Antiinflamatorni efekti adiponektina na nivou endotela, ostvaruju se prvenstveno blokiranjem vezivanja i dejstva TNF- α . Adiponektin i direktno smanjuje sekreciju TNF- α iz makrofaga. Antiinflamatorni efekti adiponektina ostvaruju se i kroz međudejstvo cAMP, protein kinaze A i NF- κ B (nuklearni faktor κ B). Aktivacijom cAMP adiponektin inhibira endotelni NF- κ B što smanjuje ekspresiju adhezionih molekula, smanjuje proliferaciju i migraciju glatkih ćelija. Antiinflamatorne efekte adiponektin ostvaruje i suprimiranjem formiranja leukocitarne kolonije kao i smanjenjem fagocitne aktivnosti (23). Adiponektin utiče i na smanjenje neželjenih efekata oxLDL na endotel. Oksidovani LDL blokira aktivnost NOS-a. Prolongirana ekspozicija endotela adiponektinom obnavlja eNOS aktivnost koja je suprimovana dejstvom oxLDL-a. Adiponektin inhibira oxLDLom indukovano oslobađanje kiseoničnih superoksida (23).

1.7.2. Adipocitokini, ateroskleroza i njeni rani markeri

Adipocitokini i njihov značaj u razvoju ranih endotelnih promena je jasno pokazan i opisan u prethodnim delovima rada, tako da je i njihov značaj i povezanost sa markerima ateroskleroze od velikog značaja.

U animalnim modelima, kod miševa kod kojih je potpuno blokirana ekspresija adiponektina pokazano je neointimalno zadebljanje, porast proliferacije glatkih mišića u krvnom sudu. Dodavanje adiponektina u punoj dužini koriguje promene u krvnom sudu (129). U eksperimentalnim modelima je pokazano da se adiponektin vezuje za zid intaktnog krvnog suda i da tako ostvaruje protektivne efekte. Miševi koji imaju genetski uslovljen nizak adiponektin prezentuju se klinički sindromom koji liči na metabolički sa insulinskom rezistencijom i koronarnom bolešću. Promene na krvnim sudovima miševa bez adiponektina su izrazite uprkos normalnim vrednostima lipida i očuvanoj glikoregulaciji (130). U kulturi aortnih endotelnih ćelija je pokazano da adiponektin pojačava produkciju NO-a. Takođe je pokazano da adiponektin može da pojača produkciju NO-a i uslovima povišenog oxLDL-a koji suprimira eNOS aktivnost. U studijama in vitro takođe je pokazano da adiponektin ima efekte i na angiogenezu, ali rezultati nisu potvrđeni u drugim studijama. U kulturi ćelija glatkih mišića krvnog suda adiponektin ihibira dejstvo faktora rasta. Takođe, adiponektin može da inhibira apoptozu endotelnih ćelija izazvanu visokom koncentracijama glukoze. Primena rekombinatnog adiponektina dozno zavisno suprimira endotelnu ekspresiju adhezionih molekula i transformaciju makrofaga u penaste ćelije (131-133).

Ateroprotektivni efekat adiponektin ostvaruje i kao insulinski senzitivator, korigujući efekte insulina na endotel, delujući na vaskularni tonus, koagulaciju, menjajući lipidni profil. Nasuprot ovim rezultatima koji pokazuju značajnu povezanost adiponektina i insulinske rezistencije u sadejstvu na endotel, rezultati nekih studija ukazuju da su efekti adiponektina na smanjenje endotelne funkcije nezavisni od insulinske senzitivnosti (134).

Nalazi brojnih kliničkih studija ukazuju da nivo adiponektina dobro korelira sa razvojem ateroskleroze tako da i adiponektin može da bude dobar marker rizika za aterosklerozu (135).

U kliničkim studijama, povećana učestalost ateroskleroze je pokazana kod gojaznih pacijenata, a pre svega kod osoba sa visceralnom gojaznošću. Smanjena endotelna funkcija korelira sa stepenom gojaznosti i sa stepenom sniženja adiponektina (136).

U uslovima insulinske rezistencije, niži nivo adiponektina ubrzava rano aterosklerotsko oštećenje i redukuje fiziološke funkcije endotelnih ćelija. Adiponektin i SMK nezavisno i u međusobnoj korelaciji regulišu endotelnu funkciju modulišući insulinsku senzitivnost. Hipoadiponektemija smanjuje insulinsku senzitivnost, ubrzava vaskularno oštećenje smanjujući NO sintezu (137,138). Aterosklerotsko oštećenje je izraženije kod osoba sa smanjenom insulinskom senzitivnošću. Pokazano je da je zadebljanje intime na karotidnim arterijama veće a adiponektin značajno niži kod osoba sa insulinskom rezistencijom nego kod zdravih (138).

Nivo adiponektin je niži kod osoba sa KB (kronarna bolest) u poređenju sa ispitanicima bez KB usklađenih po ITM i godinama. Kod ispitanika sa nivoom adiponektina nižim od 4 mg/l dva puta je veća učestalost KB. Kod pacijenata sa T2D i KB adiponektin je značajno niži nego kod pacijenata sa T2D a bez KB. Kod mikroangiopatskih komplikacija ne menja se nivo adiponektina. Takođe, je pokazano da nivo adiponektina signifikantno i nezavisno od drugih faktora korelira sa KB (139).

Studije koje su analizirale ulogu leptina u razvoju kardiovaskularnih bolesti pokazale su da postoji povezanost nivoa leptina i rizika za KB kao i da je nivo leptina povišen kod pacijenata sa akutnim koronarnim sindromom (140-142). Utvrđeno je da leptin smanjuje aktivnost NO sintaze i smanjuje produkciju NO-a. Takođe, leptin povećava ekspresiju PAI-1 i CRP-a u endotelnim ćelijama što takođe doprinosi razvoju kardiovaskularnih komplikacija. U animalnim modelima, kod miševa koji imaju deficit leptina i ekstremno su gojazni, nema kardiovaskularnih oboljenja (143).

Kako je pokazano da rezistin povećava proliferaciju endotelnih ćelija i povećava ekspresiju adhezivnih molekula u endotelu pretpostavilo se da i rezistin ima svoju ulogu u razvoju vaskularnih komplikacija. Takođe, utvrđeno je da adiponektin koji ima antiinflamatorni i antiaterogeni efekte inhibira efekte rezistina (132). Kliničke studije su pokazale da bi i rezistin mogao da bude marker predikcije za razvoj koronarne bolesti (144).

U razvoju ateroskleroze oksidativno modifikovani LDL ima ulogu kroz različite mehanizme koji uključuju: pojačavanje citotoksičnosti, stimulaciju adhezije monocita i procesa hemotakse, preuzimanje od strane makrofaga preko receptora čistača i formiranje penastih ćelija kao inicijalne promene u procesu ateroskleroze. Takođe, je pokazano da oxLDL stimuliše i modulira sekreciju brojnih citokina i faktora rasta koji aktiviraju makrofage, utiču na proliferaciju i migraciju glatko-mišićnih ćelija, kao i na funkciju endotelnih ćelija (131-133). U kliničkim studijama je pokazano da je nivo oxLDL povišen kod pacijenata sa T2D a posebno kod onih sa makrovaskularnim komplikacijama. U tom smislu, oxLDL se pokazao kao dobar marker ateroskleroze kod pacijenata sa T2D (145).

U celini, pokazani su brojni mehanizmi kojim adipocitokini ostvaruju svoje efekte na krvne sudove a ostvaruju ih pre svega utičući na nivo NO-a i NOS-a. Kako se NO u organizmu brzo menja u svoje stabilne oksidovane metabolite, merenjem nivoa ovih produkata u plazmi može se jasno odrediti stanje endotelne funkcije. Patofiziološke promene koje se dešavaju na endotelu u procesu ateroskleroze kod pacijenata sa T2D jasno se mogu meriti određivanjem nivoa NO-a i NOS-a (146).

1.8. Postprandijalne promene lipidskih parametara

Značajan broj studija je pokazao da pacijenti sa manifestnom koronarnom bolešću imaju normalne bazalne vrednosti lipida. Rezultati tih istraživanja su pre više od 30 godina pokrenuli istraživanja o značaju postprandijalnih vrednosti lipida za razvoj ateroskleroze. Nasuprot jasno utvrđenom značaju baznih vrednosti HDL i LDL holesterola za razvoja

ateroskleroze dosta je nedoumica o značaju triglicerida posebno njihovih postprandijalnih vrednosti (147, 148).

Pacijenti sa izuzetno visokim vrednostima Tg većim od 25mmol/l i sa familijarnom hilomikronemijom retko razvijaju aterosklozu, verovatno iz razloga što su lipoproteinske partikule velike i ne mogu da prođu kroz intimu arterija. Međutim, pacijenti sa umerenom hipertrigliceridemijom kod kojih su hilomikronski remanti i LDL lipoproteini prisutni u plazmi u visokim koncentracijama često imaju razvijenu aterosklozu. Lipoproteini bogati trigliceridima a manje veličine lako prolaze u zid arterija. Trigliceridi koji se rutinski mere našte isključuju određivanje lipoproteinskih remanta. Većina osoba sem u nekoliko prvih sati nakon ustajanja su u postprandijanom stanju. Ateroskloza se može definisati kao postprandijalno stanje u kome lipoproteinski remanti igraju dominantnu ulogu. Porast postprandijalnih TG može biti prediktor infarkta miokarda(IM), ishemijske bolesti srca i smrtnog ishoda (149). Postprandijalne vrednosti triglicerida su bolji prediktori aterosklerotskih događaja kod žena nego kod muškaraca (150).

U velikoj danskoj, prospektivnoj studiji, koja je u trajanju od 20 godina analizirala povezanost vrednosti postprandijalnih TG sa razvojem IM, KB i ukupnim mortalitetom, pokazano je da je kumulativna incidenca ispitivanih događaja rasla sa porastom nivoa postprandijalnih TG i da je srazmerna stepenu njihovog povećanja. Visok nivo TG je predstavljao faktor rizika za KB nezavisno od nivoa HDL-a i LDL-a. U ovoj studiji, kod ispitanika koji su imali masni test obrok maksimalne vrednosti triglicerida su bile u 4.-tom satu nakon uzimanja obroka i bile su veće od maksimalnih vrednosti triglicerida nakon uzimanja normalnog obroka. Vrednosti triglicerida su se vraćale na nivo bazalnih vrednosti tek 10 sati nakon obroka (151). U brojnim studijama je pokazano da su povišeni postprandijalni TG, sa visokim pikom i usporenim klirensom nakon masnog obroka povezani sa insulinskom rezistencijom (152,153).

U studijama koje su analizirale postprandijalne lipidske promene kod pacijenata sa metaboličkim sidromom ili sa razvijenim T2D, pokazano je da ovi pacijenti imaju izrazito povišene vrednosti postprandijalnih TG. Postprandijalni odgovor TG na unet masni obrok,

kod ovih ispitanika, uslovljen je dominatno insulinskom rezistencijom (154,155). U studiji Ciarija i saradnika pokazano je da postprandijalni odgovor lipida nije povezan sa ispitivanim adipocitokinima. U ovoj studiji je pokazano da insulinska rezistencija ima značajan uticaj na nivo adipocitokina i njihov postprandijalni odgovor (156).

1.9. Postprandijalne promene adiponektina

Uprkos brojnim kliničkim i patofiziološkim efektima koje ima adiponektin, vrlo malo se zna o regulaciji njegovog nivoa a posebno nakon unosa hrane. Većina zdravih osoba je najveći deo dana u postprandijalnom stanju. Promene adiponektina nakon obroka mogu imati značajne implikacije. Postprandijalno stanje donosi najveće metaboličke promene, uključujući promene nivoa insulina, povezane sa promenama adiponektina. Promene adiponektina nakon obroka utiču na povećanje kardiovaskularnog rizika, koji je već povećan porastom postprandijalne lipidemije i glikemije (157).

Veoma malo i vrlo kontroverznih rezultata je publikovano o efektima hrane na nivo adiponektina. Rezultati jedne od prvih studija, Englisha i saradnika, o postprandijalnom adiponektinu su pokazali da adiponektin četiri puta raste nakon masnog obroka kod ekstremno gojaznih ali ne i kod osoba normalnog ITM. U ovoj studiji je pokazano da se maksimalna vrednost adiponektina beleži u 60 minutu nakon obroka i da ostaje povišena do kraja ispitivanog perioda (158). Rezultati ove studije nisu potvrđeni u drugim studijama gde je pokazano da nema promena u nivou adiponektina ni kod jako gojaznih ni kod kontrolnih ispitanika. U jednoj studiji analizirani su pacijenti sa T2D i nije bilo razlike u nivou postprandijalnog adiponektina između gojaznih i negojaznih pacijenata, a ni različiti terapijski modaliteti nisu uticali na postprandijalni odgovor adiponektina (159). English i saradnici nisu uspeali da ponove rezultate svoje studije primenom eksperimenta u istim uslovima (158,160). Peake i saradnici su u svojoj studiji analizirali 10 morbidno gojaznih i 10 osoba normalne telesne težine i pokazali su da mešoviti obrok nije indukovao signifikantni porast adiponektina (161).

Grupa Italijanskih istraživača koja je analizirala postprandijalni odgovor adiponektina kod gojaznih pacijenata sa T2D, gojaznih ne dijabetičara i zdravih ispitanika, utvrdila je da samo kod pacijenata sa T2D dolazi do pada adiponektina nakon obroka i da se on značajno razlikuje u odnosu na postprandijalni nivo kod ostalih ispitivanih grupa. Akutni odgovor adiponektina nakon obroka (Δ adiponektin, razlika maksimalne postprandijalne vrednosti adiponektina u 6.-om satu i vrednosti bazalnog adiponektin), se nije razlikovao kod T2D u odnosu na ostale grupe usaglašene po količini masnog tkiva. U ovoj studiji je pokazano da su postprandijalne promene adiponektina kod gojaznih T2D uslovljene izmenom genske ekspresije za adiponektin. Postprandijalna promena genske ekspresije za adiponektin nije bila registrovana kod ostalih grupa. Ovaj nalaz ukazuje da je postprandijalni nivo adiponektina uslovljen delovanjem posttranslacionih faktora na gensku ekspresiju i da je nezavisan od metaboličkog stanja (157).

U eksperimentalnim modelima je pokazano da insulin u humanom masnom tkivu dovodi do porasta genske ekspresije za adiponektin (162), a da beta adrenergička stimulacija dovodi do smanjenja genske ekspresije za adiponektin (163,164). Njihovo sadejstvo kod gojaznih ispitanika u uslovima insulinske rezistencije određuje postprandijalni nivo adiponektina.

1.9.1 Postprandijalne promene adiponektina i insulinska rezistencija

Mali broj studija je analizirao povezanost postprandijalnih promena adiponektina i parametara insulinske rezistencije. Pokazano da je kod pacijenata sa T2D postprandijalni nivo adiponektina dominatno povezan sa insulinskom rezistencijom (158,164), a da postprandijalni odgovor adiponektina najčešće prati odgovor insulina (157). U studijama koje su analizirale postprandijalni odgovor adiponektina kod gojaznih osoba, pokazano je da ga određuje sadejstvo aktivnosti autonomnog nervnog sistema i insulinske rezistencije. Pojačana aktivnost beta adrenergičke stimulacije vodi porastu insulinske rezistencije i hiperinsulinemiji. Inicijalno hiperinsulinemija može delimično da utiče na bazalni nivo

adiponektina suprotno beta adrenergičkoj stimulaciji. Postprandijalno se smanjuje koncentracija epinefrina, a raste katabolizam epinefrina u masnom tkivu (164). Može se pretpostaviti da smanjenje simpatikusne aktivnost, pad epinefrina i porast insulina postprandijalno kod gojaznih osoba dovode do porasta adiponektina.

1.9.2 Postprandijalne promene adiponektina i postprandijalne promene lipida

U studijama koje su analizirale postprandijalne promene lipidskih parametara kod pacijenata sa metaboličkim sindromom ili sa razvijenim T2D, pokazano je da ovi pacijenti imaju dominantno povišene vrednosti postprandijalnih TG. Izmenjen postprandijalni odgovor lipida nakon obroka ispoljen je pre svega kod pacijenata sa insulinskom rezistencijom (154,155). U velikoj italijanskoj studiji Ciarija i saradnika, pokazano je da postprandijalne promene lipidnih vrednosti ne koreliraju značajno sa nivoom ispitivanih adipocitokina. U ovoj studiji je pokazano da insulinska rezistencija ima značajan uticaj na nivo adipocitokina i na promene postprandijalnih lipidskih parametara (156).

1.9.3 Postprandijalne promene adiponektina i rani markeri ateroskleroze

U malom broju studija je analizirana povezanost postprandijalnih promena adipocitokina sa endotelnom disfunkcijom odnosno sa ranim markerima ateroskleroze. Rezultati su vrlo oskudni i za opštu populaciju a posebno je retko ispitivana ova povezanosti kod pacijenata sa T2D. O efektima gojaznosti na ovu povezanost kod pacijenata sa T2D i nema rezultata. U jednoj studiji pokazano je da masni obrok dovodi do promena i u adiponektinu i u endotelnoj funkciji. (183). U literaturi ima i suprotnih nalaza u kojima je pokazano da endotelna disfunkcija izmerena nakon obroka nije korelisala sa postprandijalnim promenama adiponektina (184).

2. CILJ

Polazeći od navedenih saznanja, cilj ove doktorske teze je bio da se analizira:

(a) povezanost nivoa adipocitokina sa insulinskom rezistencijom, promenama u metabolizmu lipoproteina, smanjenom fibrinolizom i aktivacijom inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.

(b) uticaj nivoa adipocitokina na promene u nivou ranih markera ateroskleroze kod pacijenata sa T2D.

(c) uticaj gojaznosti na povezanost adipocitokina i ranih markera ateroskleroze u T2D.

(d) povezanost postprandijalnih promena adiponektina, ranih markera ateroskleroze, lipidskih parametara i parametara insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.

Radi ostvarenja navedenog cilja, u ovom radu su postavljeni sledeći zadaci:

Zadaci :

1. Ispitati razliku u nivou adipocitokina između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D i u odnosu na zdrave ispitanike
2. Analizirati povezanost nivoa adipocitokina sa parametrima insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D
3. Proučiti povezanost nivoa adipocitokina sa lipidskim parametrima kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D
4. Analizirati povezanost nivoa adipocitokina sa parametrima fibrinolize kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

5. Istražiti povezanost nivoa adipocitokina sa markerima inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D
6. Proučiti povezanost nivoa adipocitokina sa markerima endotelne disfunkcije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D
7. Ispitati povezanost postprandijalnih promena adiponektina i parametara insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D
8. Analizirati povezanost postprandijalnih promena adiponektina i promena lipidskih parametara kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D
9. Analizirati povezanost promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa markerima endotelne disfunkcije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

3. METODE

3.1. Izbor ispitanika

U ispitivanje u okviru ovog rada je uključeno ukupno 65 pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (T2D) i 15 zdravih osoba, oba pola, starosti 40-70 godina.

Ispitanici su raspoređeni u sledeće grupe: gojazni pacijenti (ITM > 25 kg/m²) sa T2D (grupa A, N=39); negojazni pacijenti sa T2D, ITM < 25 kg/m², (grupa B, N=26) i zdavi ispitanici (grupa C, N=15). Grupe ispitanika su bile usaglašene prema polu, godinama starosti i dužini trajanja dijabetesa. Ispitivanje je sprovedeno u Centru za lipidske poremećaje Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KCS. Ispitanicima je direktno objašnjeno predviđeno ispitivanje i uz njihov pristanak po Helsinškoj deklaraciji (revizija Edinburg, 2000) ispitivanje je dalje sprovedeno.

Pacijenti sa klinički manifestnom kardiovaskularnom bolešću, bubrežnom bolešću, infekcijom urinarnog trakta, poremećajima funkcije jetre, hroničnim inflamatornim bolestima, malignitetima i psihijatrijskim bolestima nisu uključeni u ispitivanje.

3.2. Dijagnoza tipa 2 dijabetesa

Postojanje dijabetesa je utvrđeno po kriterijumima Svetske zdravstvene organizacije a na osnovu vrednosti glikemije > 11.1 mmol/l 2h posle unosa 75g glukoze u oralnom testu tolerancije glukoze (OGTT) ili na osnovu dve uzastopno utvrđene vrednosti glikemije našte ≥ 7.0 mmol/l (165).

3.3 Određivanje indeksa telesne mase (ITM)

U svakog ispitanika obavljeno je merenje telesne težine (TT) i telesne visine (TV) i na osnovu toga izračunat ITM (indeks telesne mase) prema sledećoj formuli:

$$\text{ITM (kg/m}^2\text{)} = \text{TT (kg)} / \text{TV (m)}^2$$

Ispitanici čiji je ITM bio $\geq 25\text{kg/m}^2$ su svrstani u gojazne a oni čiji je ITM bio $<$ od 25kg/m^2 u ispitanike sa normalnom telesnom težinom.

3.4. Određivanje rasporeda masnog tkiva

U svakog ispitanika, u stojećem položaju, obavljeno je merenje obima struka na nivou umbilikusa prema ranije opisanoj metodi (referenca) uz određivanje i količine visceralnog masnog tkiva metodom bioimpedance (TANITA).

3.5. Terapija ispitivanih pacijenata

Pacijetni sa T2D su lečeni isključivo dijetom i/ili oralnim antidijabeticima prema standardnim preporukama vodiča dobre kliničke prakse (166), odnosno niko od ispitivanih pacijenata nije primao insulin.

Terapija statinskim ili fibratnim preparatima koja može uticati na vrednosti lipoproteina ukoliko je pacijentima bila propisana, prekinuta je u trajanju od 48h pre predviđenog ispitivanja.

3.6. Određivanje nivoa glikemije u serumu

Vrednost nivoa glikemije u serumu je određena metodom korišćenja enzima glikozo-oksidade (pribor Beckman).

3.7. Određivanje nivoa glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) u serumu

Vrednost nivoa glikoziliranog hemoglobina A1c (HbA1c) u krvi je određena metodom imuno-inhibicije (pribor Olympus).

3.8. Određivanje nivoa adiponektina u plazmi

Za određivanje nivoa adiponektina u serumu se uzima 5ml venske krvi koja se centrifugira 15 minuta na 4000 obrtaja /min, odvoji se serum u posebnu kivetu i zamrzava. Ovako pripremljen uzorak se može čuvati 14 dana na temperaturi od +2 do +8C ili duži period na temepraturi od –20°C.

Vrednost nivoa adiponektina u serumu je određivana ELISA metodom (konvencionalni set firme Mercodia). ELISA test za određivanje adiponektina je zasnovan na direktnoj sendvič tehnici sa dva monoklonska antitela za dve različite antigenske determinante na molekuli adiponektina. Tokom prve inkubacije, adiponektin iz seruma reaguje sa anti-adiponektin antitelima koja su vezana za prostore za mikrotitraciju. Posle ispiranja, dodaje se kompleks peroskidazom konjugovano anti-adiponektin antitelo koje ostaje vezano za čvrstu fazu, a ponovnim ispiranjem se uklanjaju nereaktivne komponente iz seruma. Vezani konjugati se otkrivaju reakcijom sa 3,3',5,5'-tetrametil benzidinom. Reakcija se zaustavlja dodavanjem kiseline pri čemu se dobijaju obojeni krajni produkti koji se očitavaju spektrofotometrijski.

Ovom metodom se detektuju heksameri adiponektina (LMW 230 kDa) i oligomeri (HMW > 420kDa). Donja granica adiponektina koja može da se detektuje je 1,25ng/ml.

3.9. Određivanje nivoa leptina u plazmi

Za određivanje nivoa leptina u plazmi se uzima 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA i pažljivo se izmeša. Zatim se centrifugira 10 minuta na 3000 obrtaja /min, odvoji se plazma u posebnu kivetu i zamrzava. Ovako pripremljen uzorak se može čuvati 24h na temperaturi od +2 do +8C ili duže na temperaturi od -20°C. Za određivanje leptina koristi se uzorka od 50 do 100 µl plazme.

Vrednost nivoa leptina u plazmi je određivana senzitivnim humanim radioimunim (RIA) kitom (komercijalni set firme Linco). RIA test za određivanje leptina zasnovan je na primeni fiksne koncentracije radioaktivno obeleženog antigena (trejser) sa konstantnim razblaženjem atiseruma tako da je broj vezujućih mesta na antitelu limitiran, tako da samo 50% od ukupne koncentracije trejsera može da se veže za antitelo. Ako se u takav rastvor doda ne obeleženi antigeni tada se razvija kompeticija za vezujuća mesta između obeleženog trejsera i neobeleženog antitega za mesta na antitelu. Tako će koncentracija trejsera vezanog za antitelo da opada ako raste koncentracija ne obeleženog antigena. Nakon odvajanja od antitela koncentracija radioaktivnog trejsera se određuje u gama brojaču. Kalibraciona kriva je napravljena za rastuće koncentracije standardnog neobeleženog antigena i iz njen se izračunava nepoznata koncentracija antigena.

Linco senzitivni leptin RIA esej koristi 125I-obeleženi Humani Leptin i senzitivni humani serum sa antitelima za leptin da bi odredio nivo leptima u plazmi. Kalkulaciju nivoa leptina vrši gama brojač automatski korišćenjem standardnog softvera.

Senzitivnost ovog ejesa je 0,05 ng/ml za uzorak od 100 µl, a maksimalna vrednost je 10,0 ng/ml. Opseg normalnih vrednosti ovako određenog leptina za ITM 18-25kg/ m² je: muškarci $3,8 \pm 1,8$ ng/ml, žene $7,4 \pm 3,7$ ng/ml.

3.10. Određivanje nivoa rezistina u plazmi

Za određivanje nivoa rezistina u plazmi se uzima 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA i pažljivo se izmeša. Zatim se centrifugira 10 minuta na 3000 obrtaja /min, odvoji se plazma u posebnu kivetu i zamrzava. Ovako pripremljen uzorak se može čuvati na temperaturi od -70°C .

Vrednost nivoa rezistina u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Alpc). ELISA test za određivanje ultrasenzitivnog rezistina je zasnovan na primeni monoklonskog antitela za humani rezistin kojim se oblaže svako udubljenje za mikrotitraciju. Tokom inkubacije standari i uzorci se dodaju u udubljenja i rezistin se vezuje za antitelo vezano za zidove. Vezani rezistin se odvaja sa poliklonskim atitelom, biotinitalid anti humani rezistin (HRP). Zatim se dodaje streptavidinom konjugovani HRP. Nakon ispiranja dodaju se hromogeni rastvori I i II za detekciju konjugata. Reakcija se zaustavlja dodavanjem fosforne kiseline, a dobijeni obojeni krajni produkti se očitavaju spektrofotometrijski na 450 nm. Maksimalna vrednost koja može da se odredi ovom metodom je 100 pg/ ml.

3.11 Određivanje nivoa TNF- α u plazmi

Za određivanje nivoa TNF- α a u plazmi se uzima 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA i pažljivo se izmeša. Zatim se centrifugira 10 minuta na 3000 obrtaja /min, odvoji se plazma u posebnu kivetu i zamrzava. Ovako pripremljen uzorak se može čuvati na temperaturi od -70°C .

Vrednost nivoa TNF- α u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Alpc). ELISA test za određivanje TNF- α je zasnovana na direktnoj sendvič tehnici. Antitelo za TNF- α oblaže svako udubljenje za mikrotitraciju. Uzorci, standardnog seruma poznate koncentracije TNF- α , kontrolni uzorak i uzorak u kome se određuje koncentracija TNF- α se dodaju u udubljenje za mikrotitraciju.

Tokom prve inkubacije, antigen za TNF- α se vezuje sa anti TNF- α antitelima koja su vezana za prostore za mikrotitraciju. Za drugo mesto za antitelo vezuje se biotinitalid antitelo. Posle ispiranja uklanjaju se višak drugog antitela i dodaje se Streptavidin periksidaza (enzim) i vezuje se za biozinitalid antitelo činiči četvoročlani sendivič. Nakon druge inkubacije i ponovnog ispiranja uklanja se nevezani enzim, dok se vezani konjugati otkrivaju reakcijom sa tetrametil benzidinom. Reakcija se zaustavlja dodavanjem kiseline pri čemu se dobijaju obojeni krajni produkti koji se očitavaju spektrofotometrijski na 450 nm.

Opseg normalnih vrednosti ovako određenog nivoa TNF- α je 0,5-32 pg/ml.

3.12 Određivanje nivoa IL-6 u plazmi

Za određivanje nivoa IL-6 u plazmi se uzima 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA i pažljivo se izmeša. Zatim se centrifugira 10 minuta na 3000 obrtaja /min, odvoji se plazma u posebnu kivetu i zamrzava. Ovako pripremljen uzorak se može čuvati na temperaturi od -70°C .

Vrednost nivoa IL-6 u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Alpc). ELISA test za određivanje IL-6 je zasnovana na direktnoj sendvič tehnici. Antitelo za IL-6 oblaže svako udubljenje za mikrotitraciju. Uzorci, standardnog seruma poznate koncentracije IL-6, kontrolni uzorak i uzorak u kome se određuje koncentracija IL-6 se dodaju u udubljenje za mikrotitraciju.

Tokom prve inkubacije, antigen za IL-6 se vezuje sa anti IL-6 antitelima koja su vezana za prostore za mikrotitraciju. Nakon ispiranja, dodaje se biotinitalid monoklonsko antitelo za IL-6 koje su u toku druge inkubacije veže za fiksirani antigen IL-6. Posle uklanjanja viška drugog antitela, dodaje se Streptavidin periksidaza (enzim) i vezuje se za biozinitalid antitelo činiči četvoročlani sendivič. Nakon treće inkubacije i ponovnog ispiranja uklanja se nevezani enzim, dok se vezani konjugati otkrivaju reakcijom sa

tetrametil benzidinom, koji sa vezanim enzimom prave obojene produkte. Reakcija se zaustavlja dodavanjem kiseline pri čemu se dobijaju obojeni krajni produkti koji se očitavaju spektrofotometrijski na 450 nm.

Opseg normalnih vrednosti ovako određenog nivoa IL-6 je 0,16 -10 pg/ml.

3.13. Određivanje nivoa oksidovanog LDL-a (oxLDL) u plazmi

Za određivanje nivoa oksidovanog LDLa u plazmi se uzima 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA i pažljivo se izmeša. Zatim se centrifugira 10 minuta na 3000 obrtaja /min, odvoji se plazma u posebnu kivetu i zamrzava. Ovako pripremljen uzorak se može čuvati nedelju dana na temperaturi od +2 do +8C ili mesec dana na temperaturi od -70°C.

Vrednost nivoa oksidovanog LDLa u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Mercodia). ELISA test za određivanje oxLDLa je zasnovan na direktnoj sendvič tehnici sa dva monoklonska antitela za dve različite antigenske determinante na molekuli oksidovanog apoproteina B. Tokom inkubacije, oxLDL reaguje sa anti oxLDL antitelima koja su vezana za prostore za mikrotitraciju. Posle ispiranja uklanjaju se nereaktivne komponente iz plazme a antitela koja su prepoznala oxLDL ostaju vezana za čvrstu fazu. Posle druge inkubacije i ponovnog ispiranja uklanjaju se nevezana antitela, dok se vezani konjugati otkrivaju reakcijom sa 3,3',5,5'-tetrametil benzidinom. Reakcija se zaustavlja dodavanjem kiseline pri čemu se dobijaju obojeni krajni produkti koji se očitavaju spektrofotometrijski na 450 nm.

Opseg normalnih vrednosti ovako određenog nivoa oxLDL-a je 30-120mU/l.

3.14 Određivanje nivoa azot oksida (NO) u plazmi

Vrednost nivoa azot oksida u plazmi je određivana kolorimetrijskom metodom (komercijalni set firme Calbiochem).

Kolorimetrijska metoda za određivanje NO u plazmi bazirana je na enzimskoj konverziji nitrata u nitrite u prisustvu nitrat reduktaze, NADH i pufera. U uzorku od 85 μ l plazme dodaje se 10 μ l nitrat reduktaze i 10 μ l 2mM NADH. Inkubacija traje 20 minuta. Po završenoj inkubaciji dodaju se Griess reagensi 1 i 2 u količinama od po 50 μ l zaustavlja se enzimska reakcija a tako izdvojeni nitriti se spektrofotometrijski određuju merenjem intenziteta apsorbovane svetlosti na talasnoj dužini od 540nm.

3.15 Određivanje nivoa azot oksid sintaze (NOS) u plazmi

Vrednost nivoa azot oksida sintaze u plazmi je određivana kolorimetrijskom metodom (komercijalni set firme Calbiochem).

Kolorimetrijska metoda za određivanje NO sintaze u plazmi bazirana je na sposobnosti NO sintaze da preradi NO u nitrite (NO_2^-) i nitrate (NO_3^-), kao stabilnije proizvode koji se reakcijom sa Griessovim reagensom prevode u obojeni azo-proizvod. Ovaj proizvod ima maksimalnu apsorpciju na 540 nm. Merenjem intenziteta apsorbovane svetlosti, koja je direktno proporcionalna aktivnosti NO sintaze, određuje se aktivnost pomenutog enzima. Za reakciju je potrebno uzeti 40 μ l plazme koja se razblažuje puferom do zapremine 60 μ l, dodaje se 10 μ l svežeg rastvora 1mmol/l NaDPH i 10 μ l NO reduktaze. Cela reakciona smeša inkubira se 60 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga dodaje se rastvor kofaktora (NADPH) i LDH i inkubira se 20 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga doda se rastvor Griessovog reagensa (R_1 i R_2) po 50 μ l čime se završava reakcija stvaranjem obojenih azot proizvoda. Tako izdvojeni proizvod se spektrofotometrijski očitava na adsorbanca od 540nm.

3.16. Određivanje nivoa ukupnog holesterola (UH), HDL-h, LDL-h i triglicerida u serumu

Vrednost nivoa ukupnog holesterola, njegovih supfrakcija i triglicerida u serumu je određena našte, nakon 12h gladovanja, metodom hromatografije (pribor Boehringer Mannheim).

3.17. Određivanje nivoa apolipoproteina u serumu

Vrednosti nivoa apolipoproteina (Apo) A1, A2, B i E u serumu su određivane našte, nakon 12h gladovanja, metodom nefelometrije (*pribor Behring*).

3.18. Određivanje insulinemije u serumu

Nivo insulina je određivan metodom radioimunoeseja (pribor Inep).

3.19. Određivanje insulinske senzitivnosti

Insulinska senzitivnost je procenjivana određivanjem indeksa insulinske rezistencije po modelu homeostaze (HOMA-IR) iz bazalnih nivoa insulina i glikemije (167).

$$\text{HOMA-IR} = \text{insulinemija} \times \text{glikemija} / 22,5$$

3.20. Određivanje parametara inflamacije

Vrednost nivoa hsC-reaktivnog proteina (hsCRP) u serumu je određena ELISA metodom a fibrinogena koagulometrijom (pribor ACL-Instrument Laboratory).

3.21. Određivanje nivoa aktivnosti plazminogen aktivator inhibitora 1 (PAI-1) u plazmi

Vrednost nivoa aktivnosti PAI-1 u plazmi određena je metodom hromogenog plazminogen/plazmin substrat eseja (pribor Behring), a princip je sledeći: PAI u uzorku inaktivira urokinazu u reagentu. Preostala aktivnost urokinaze određuje se preko konverzije plazminogena u plazmin, a preostali plazmin se meri na hromogenom substratu, hromotajmerom, na 405 nm.

Opseg normalnih vrednosti ovako određene aktivnosti PAI-1 je 0,3-3,5 U/ml.

3.22. Test opterećenja masnim obrokom

Nakon 12h gladovanja pacijenti su uzimali probni doručak-standardni masni obrok energetske vrednosti 919 kcal, koji se sastoji od 49% masti (51 g; zasićene masne kiseline 30g; mononezasićene masne kiseline 15g i polinezasićene masne kiseline 3g), 14% proteina (33g) i 36% ugljenih hidrata (83g) (36).

Nakon standarnog masnog obroka kod svih pacijenta su u 2., 4., 6. i 8 h određene postprandijalne vrednosti glukoze, insulina, adiponektina, slobodnih masnih kiselina i lipidskih parametri.

3.23. Određivanje nivoa slobodnih masnih kiselina (SMK)

Nivo slobodnih masnih kiselina je određivan kolorimetrijskom metodom (pribor Randox).

3.24. Statistička obrada podataka

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška.

Značajnost razlike je ispitivana Studentovim t-testom, jednosmernom i dvosmernom analizom varijanse, neparametrijskim testovima ili drugim metodama čija je primena naglašena u tekstu.

Značajnost korelacija između varijabli je ispitivana metodom Spirmanove linerane korelacije kao i linearnom regresionom analizom.

Sve statističke analize su urađena primenom kompjuterskog programskog paketa SPSS Windows, verzija 16.0, Microsoft.

4. REZULTATI

Prema postavljenim ciljevima i zadacima istraživanja, a primenom navedenih metoda, ispitivanje je obavljeno kod ukupno 80 ispitanika: 39 gojaznih pacijenata sa T2D (grupa A), 26 pacijenata sa T2D normalne telesne težine (grupa B) koji su sa prethodnom grupom bili usaglašeni prema polu, godinama starosti i dužini trajanja dijabetesa i kod 15 zdravih ispitanika (grupa C). Karakteristike navedenih grupa prikazane su u Tabeli br.1.

Tabela br. 1. Karakteristike ispitivanih grupa

	Grupa A	Grupa B	Grupa C
<i>Broj ispitanika</i>	39	26	15
<i>Pol (muškarci/žene)</i>	21/18	14/12	7/8
<i>Trajanje dijabetesa (godine)</i>	6,84±0,17	6,36±0,58	/
<i>HbA1c (%)</i>	6,47±0,22	6,50±0,31	4,6±0,11
<i>ITM (kg/ m²)</i>	31,1±3,26	23,86±1,54	22,3±3,05
<i>Sistolni pritisak (mm/Hg)</i>	138,21±13,97	128±15,7	121±8,0
<i>Dijastolni pritisak (mm/Hg)</i>	86,41±8,99	82,12±6,3	78,0±4,9

4.1. Analiza povezanosti parametara gojaznosti i indeksa telesne mase kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kao i kod zdravih ispitanika

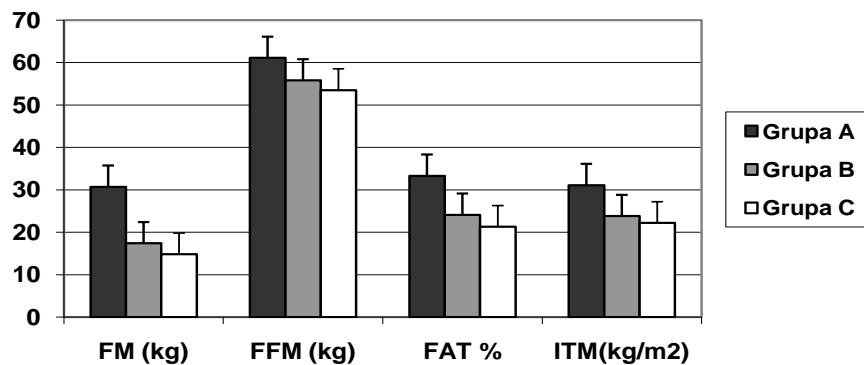
U cilju detaljne analize karakteristika opšte gojaznosti kod svih ispitanika je metodom bioimpedance izmerena telesna masa i količina masnog tkiva, odnosno određene su: količina masnog tkiva (FM, Fat Mass), količina nemasnog tkiva (FFM, Fat Free Mass) kao i procenat masnog tkiva (Fat%). Istovremeno, kao parametar abdominalne gojaznosti je meren obim struka.

4.1.1. Analiza parametara gojaznosti kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Najveća količina masnog tkiva ali i nemasnog tkiva je registrovana kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najmanja kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom razlike nivoa parametara opšte gojaznosti, između svih ispitivanih grupa je utvrđena statistički visoko značajna razlika u količini masnog tkiva (FM), kao i količini nemasnog tkiva (FFM). Takođe, analizom razlika obima struka utvrđena je značajna statistička razlika između svih ispitanika.

Statistički značajna razlika u nivou parametara opšte gojaznosti utvrđena je između grupe A, gojaznih pacijenata sa T2D i grupe B, negojaznih pacijenata sa T2D, a obe grupe dijabetičara su se značajno razlikovale u odnosu na zdrave ispitanike (Grafikon br. 1).



Grafikon br.1. Parametri opšte gojaznosti kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

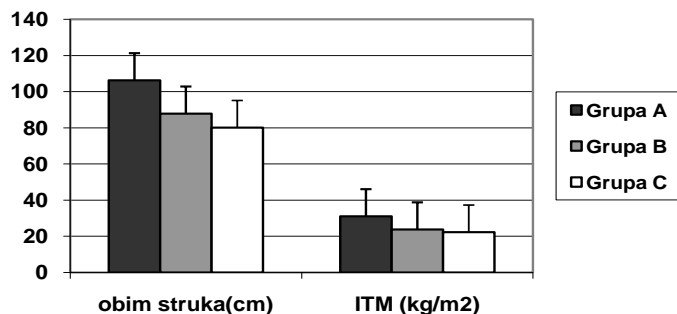
FM: A vs B vs C $p < 0,01$, A vs B $p < 0,01$ B vs C $p < 0,05$ A vs C $p < 0,01$

FFM: A vs B vs C $p < 0,01$, A vs B $p < 0,05$ B vs C $p < 0,05$ A vs C $p < 0,01$

FAT% A vs B vs C $p < 0,01$, A vs B $p < 0,05$ B vs C $p < 0,05$ A vs C $p < 0,01$

Istovremeno, najveći obim struka je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najmanji kod zdravih ispitanika, grupa C.

Statistički značajna razlika u obimu struka je utvrđena između grupe A, gojaznih pacijenata sa T2D i grupe B, negojaznih pacijenata sa T2D, a obe grupe dijabetičara su se značajno razlikovale u odnosu na zdrave ispitanike (Grafikon br. 2.).



Grafikon br. 2. Obim struka kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,01$; B vs C $p < 0,05$; A vs C $p < 0,01$

4.1.2. Analiza povezanosti parametara gojaznosti i indeksa telesne mase kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i B metodom Spirmanove linearne korelacije je utvrđena statistički visoko značajna povezanost nivoa ITM i parametara opšte gojaznosti FFM, FM, Fat%, kao i značajna povezanost sa obimom struka (Tabela br.2). Istovremeno utvrđena povezanost ITM i parametara gojaznosti je bila pozitivnog smera.

Tabela br. 2. Povezanosti parametara gojaznosti i ITM kod pacijenata sa T2D

Parametri gojaznosti	ITM	
	r	p
FFM	0,30	< 0,05
FM	0,89	< 0,01
FAT %	0,69	< 0,01
Obim struka	0,89	< 0,01

4.2. Analiza nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Danas je jasno pokazano da masno tkivo sekretuje brojne hormone i citokine koji su značajni za razvoj insulinske rezistencije, T2D i ateroskleroze (4). Molekularna povezanost adipocitokina i aterosklerotskih bolesti, odnosno njenih ranih markera kod gojaznih pacijenata sa T2D još uvek je nedovoljno razjašnjena.

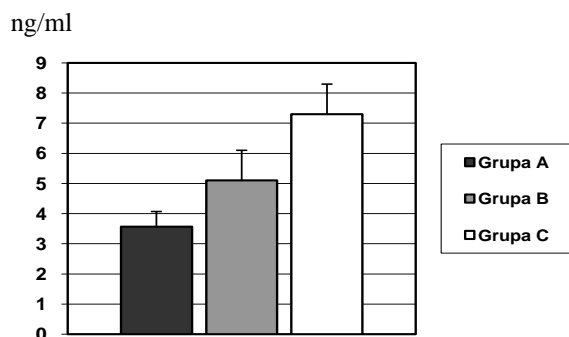
U velikom broju kliničkih i ekperimentalnih studija je utvrđeno da masno tkivo sekretuje brojne hormone koji su povezani sa komplikacijama gojaznosti. U tom smislu je analizirana uloga adiponektina, rezistina, leptina (16), tumor necrosis factor- α (TNF α) (91), Il-6(102), slobodnih masnih kiselina (48), plazminogen aktivator inhibitora 1 (PAI-1) (123). Postoje jasni eksperimentalni dokazi da adipocitokini imaju direktne efekte na kaskadu insulinskog delovanja, na razvoj T2D, fibrinolitički sistem kao i na funkciju endotela (23,123).

4.2.1. Analiza nivoa adiponektina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo adiponektina u ispitivanim grupama, a je zatim analizirana njihova razlika.

Najniži nivo adiponektina je registrovan u grupi A, gojaznih pacijenata sa T2D, a najviši kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa adiponektina je utvrđena statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br. 3).



Grafikon br. 3. Nivo adiponektina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,01$, A vs C $p < 0,01$ B vs C $p < 0,01$ A vs C $p < 0,01$

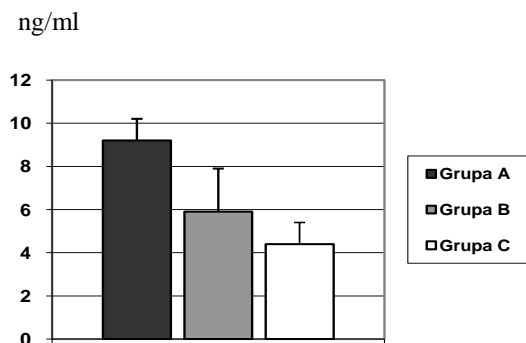
U grupi A nivo adiponektina je bio značajno niži u poređenju sa grupom B. Takođe u obe grupe dijabetičara nivo adiponektina je bio značajno niži nego u grupi zdravih ispitanika (Grafikon br. 3.).

4.2.2 Analiza nivoa rezistina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo rezistina u ispitivanim grupama, a zatim je analizirana njihova razlika.

Najviši nivo rezistina je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa rezistina nije utvrđena statistički značajna razlika između pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika (Grafikon br. 4.).



Grafikon br. 4. Nivo rezistina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B vs C $p < 0,01$; A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p = NS$

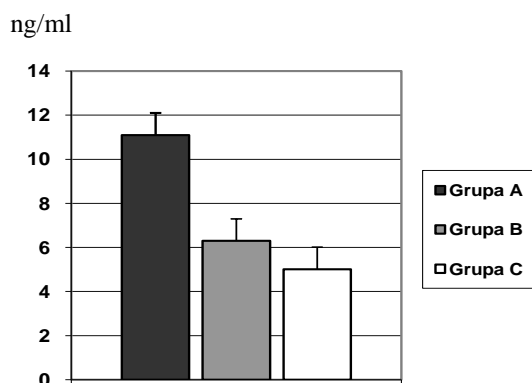
U grupi A nivo rezistina je bio značajno viši u poređenju sa grupom B, a u obe grupe dijabetičara nivo rezistina je bio značajno viši nego u grupi zdravih ispitanika. Međutim, nivo rezistina u grupi B, negojaznih pacijenata sa T2D, se nije statistički značajno razlikovao u poređenju sa grupom C, zdravih ispitanika (Grafikon br.4.).

4.2.3 Analiza nivoa leptina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo leptina u ispitivanim grupama, a zatim njihova razlika.

Najviši nivo leptina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa leptina je utvrđena statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br. 5.).



Grafikon br. 5. Nivo leptina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B vs C $p < 0,01$; A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p = NS$

U grupi A nivo leptina je bio značajno viši u poređenju sa grupom B, a u obe grupe dijabetičara nivo leptina je bio značajno viši nego u grupi C, zdravih ispitanika. Međutim, nivo leptina u grupi B, negojaznih pacijenata sa T2D, se nije statistički značajno razlikovao u poređenju sa grupom C, zdravih ispitanika (Grafikon br. 5.).

4.3. Analiza povezanosti parametara insulinske rezistencije i adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Gojaznost povezana sa insulinskom rezistencijom predstavlja osnovni faktor rizika za razvoj T2D (1). Danas je jasno pokazano da masno tkivo sekretuje brojne hormone i citokine koji su značajni za razvoj insulinske rezistencije i T2D (22,49). U kliničkim studijama je ukazano da postoji povezanost nivoa adipocitokina sa stepenom gojaznosti i parametrima insulinske rezistencije kao i da se njihov nivo značajno razlikuje kod pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave osobe (28).

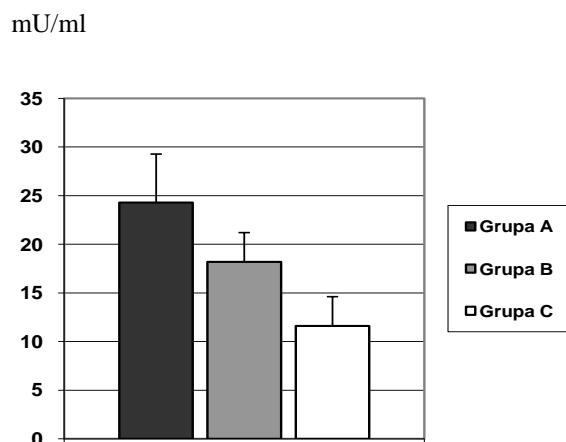
Međutim, molekularna povezanost adipocitokina i insulinske rezistencije kod gojaznih pacijenata sa T2D još uvek je slabo razjašnjena.

U tom smislu ispitivanje je obavljeno u istim grupama pacijenata, poređenjem parametara insulinske rezistencije i nivoa adipocitokina. Insulinska rezistencija je procenjivana određivanjem indeksa insulinske rezistencije po modelu homeostaze (HOMA-IR), (detaljno opisano u poglavlju Metode).

4.3.1. Analiza nivoa insulina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo insulina u ispitivanim grupama, a potom je analizirana njihova razlika.

Najviši nivo insulina je registrovan u grupi A, gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C. Analizom nivoa insulina je utvrđena statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br. 6.).



Grafikon br.6. Nivo insulina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,05$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

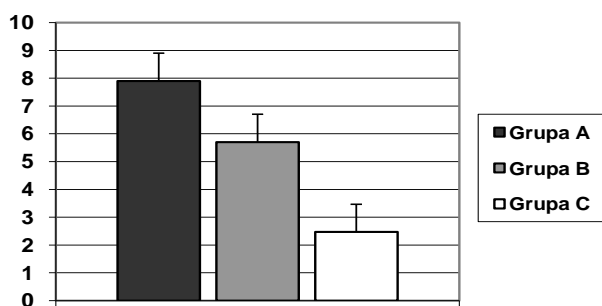
U grupi A, gojazni pacijenti sa T2D, nivo insulina je bio značajno viši u poređenju sa grupom B, negojazni pacijenti sa T2D, a u obe grupe dijabetičara nivo insulina je bio značajno viši nego u grupi zdravih ispitanika, grupa C. Takođe, nivo insulina u grupi B je bio značajno viši u poređenju sa grupom C (Grafikon br.6.).

4.3.2. Analiza vrednosti HOMA-IR kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanom metodom je određivana vrednost HOMA-IR u ispitivanim grupama, a potom je analizirana njihova razlika.

Najviši nivo HOMA-IR je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži nivo kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom vrednosti HOMA-IR je utvrđena statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br. 7.).



Grafikon br.7. Vrednosti HOMA-IR kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,05$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

U grupi A, gojazni pacijenti sa T2D, vrednosti HOMA-IR su bile značajno više u poređenju sa grupom B, negojazni pacijenti sa T2D, a u obe grupe dijabetičara vrednosti

HOMA-IR su bile značajno više nego u grupi zdravih ispitanika, grupa C. Takođe, vrednosti HOMA- IR u grupi B su bile značajno više u poređenju sa grupom C (Grafikon br. 7.).

4.3.3. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i parametara insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, grupe A i B, analizom povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa insulina i HOMA-IR primenom metode Spirmanove linearne korelacije je utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom insulina i sa vrednostima HOMA-IR, dok nije bilo povezanosti parametara insulinske rezistencije i nivoa leptina (Tabela br.3.). Povezanost nivoa adiponektina sa nivoom insulina kao i sa vrednostima HOMA-IR je bila negativnog smera, a povezanost nivoa rezistina sa nivoom insulina i HOMA-IR je bila pozitivnog smera.

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom insulina i vrednostima HOMA- IR se gubi što ukazuje da ITM ima značajan uticaj na povezanost nivoa adipocitokina sa nivoom insulina i HOMA-IR kod pacijenata sa T2D.

Tabela br.3. Povezanosti nivoa adipocitokina i parametara insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D

	Insulin		HOMA-IR	
	r	p	r	p
<i>Adipocitokini</i>				
<i>Adiponektin</i>	-0,35	< 0,01	-0,36	< 0,01
<i>Leptin</i>	0,13	NS	0,27	NS
<i>Rezistin</i>	0,33	< 0,01	0,37	< 0,01

Takođe, metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom insulina i sa vrednostima HOMA-IR se gubi što ukazuje da obim struka, kao marker abdominalne gojaznosti ima značajan uticaj na povezanost nivoa adipocitokina sa nivoom insulina i HOMA-IR kod pacijenata sa T2D.

4.4. Analiza povezanosti nivoa lipidskih parametara, lipoproteinskih frakcija i slobodnim masnih kiselina sa nivoom adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Dobro je poznato da kod pacijenata sa T2D često postoji i poremećaj u metabolizmu lipida. Epidemiološki podaci, kao i rezultati velikih prospektivnih populacionih studija su pokazali da povišen nivo UH i LDL-a, snižen nivo HDL-a i povišen nivo TG predstavljaju osnovne faktore rizika za razvoj ateroskleroze kod pacijenata sa T2D (113). Istovremeno analizom povezanosti adipocitokina i lipidskih parametara kod gojaznih pacijenata sa T2D je pokazana povezanost adiponektina sa nivoom HDL-a i TG, dok nije utvrđena korelacija sa ukupnim holesterolom i LDL-om. U nekim radovima je pokazana korelacija nivo rezistina sa HDL-om, kao i adiponektina sa nivoom ApoB (113-115). Međusobni odnosi adipocitokina i lipidskih parametara kao i lipoproteinskih frakcija nisu u potpunosti razjašnjeni.

4.4.1 Analiza nivoa lipidskih parametara i frakcija holesterola kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo lipidskih parametara i frakcija holesterola u serumu u bazalnim uslovima u ispitivanim grupama, a potom je ispitivana njihova razlika.

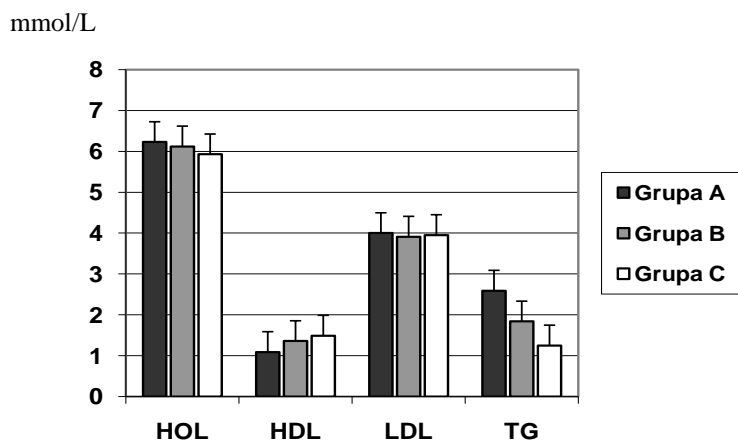
Najviši nivo ukupnog holesterola je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Najviši nivo LDL-a je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Najniži nivo HDL-a je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najviši kod zdravih ispitanika, grupa C.

Najviši nivo triglicerida je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa lipidskih parametara i frakcija holesterola je utvrđena statistički značajna razlika, u nivou HDL-a i TG između grupe A i grupe B, gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, dok nije bilo razlike u nivou UH i LDL-a (Grafikon br. 8.).



Grafikon br.8. Nivo lipidskih parametara kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

UH i LDL: A vs B p=NS; A vs C p=NS; B vs C p=NS

HDL: A vs B p < 0,01; A vs C p < 0,01; B vs C p =NS

TG: A vs B p < 0,05; A vs C p < 0,01; B vs C p < 0,05

Takođe, statistički značajna razlika u nivou HDL-a i TG-a je registrovana između grupe A i grupe C, dok je između grupe B i C utvrđena statistički značajna razlika jedino u nivou TG-a. Nivo HDL-a se nije statistički značajno razlikovao između grupe B, negojaznih pacijenata sa T2D i grupe C zdravih ispitanika (Grafikon br.8.).

4.4.1.1. Analiza povezanosti lipidskih parametara i frakcija holesterola sa nivoom adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, analizom povezanosti nivoa lipidskih parametara i frakcija holesterola sa nivoom adipocitokina, primenom metode Spirmanove linearne korelacije je utvrđena visoko značajna povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom HDL-a i TG- a, a nivoa leptina sa UH i LDL-om (Tabela br. 4.).

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina sa nivoom HDL-a i TG-a se ne menja, što ukazuje da je ova povezanost nezavisna od ITM. Istovremeno, značajna povezanost nivoa rezistina sa nivoom HDL-a i TG-a, nakon korekcije za ITM nestaje, što ukazuje da ITM utiče na povezanost nivoa rezistina sa nivoom HDL-a i TG-a. Takođe, metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrdili smo da je povezanost nivoa leptina sa nivoom UH-a i LDL-a nezavisna od ITM kod pacijenata sa T2D.

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, pokazali smo da značajna povezanost nivoa adiponektina sa nivoom HDL-a i TG-a je nezavisna i od parametra abdominalne gojaznosti. Istovremeno, abdominalna gojaznosti utiče na povezanost nivoa rezistina sa nivoom HDL-a i TG-a. Primenom ove metode uz korekciju za obim struka, utvrdili smo da je povezanost nivoa leptina i nivoa UH-a i LDL-a nezavisna i od abdominalne gojaznosti kod pacijenata sa T2D.

Tabela br.4. Povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa lipidskih parametara i frakcija holesterola kod pacijenata sa T2D

	adiponektin		leptin		rezistin	
	r	p	r	p	r	p
<i>HOL</i>	0,07	NS	0,31	< 0,01	-0,71	NS
<i>HDL</i>	0,54	< 0,01	0,21	NS	-0,31	< 0,01
<i>LDL</i>	0,16	NS	0,27	< 0,05	-0,01	NS
<i>TG</i>	-0,52	< 0,01	0,14	NS	0,264	< 0,05

4.4.2. Analiza nivoa lipoproteinskih frakcija kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo lipoproteinskih frakcija u serumu u bazalnim uslovima u ispitivanim grupama, a potom je ispitivana njihova razlika.

Najviši nivo ApoA1 je registrovan u grupi zdravih ispitanika, grupa C, a najniži kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A.

Najviši nivo ApoB je registrovan u grupi A gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

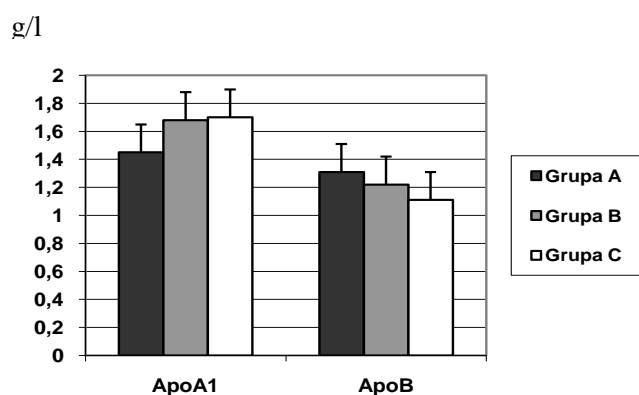
Najviši nivo ApoA2 je registrovan u grupi zdravih ispitanika, grupa C, a najniži kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A.

Najviši nivo ApoE je registrovan u grupi A gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa lipoproteinskih frakcija između gojaznih, grupa A i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B je utvrđena statistički značajna razlika samo u nivou ApoA1.

Nivoi ApoA2, ApoB i ApoE se nisu statistički značajano razlikovali između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D (Grafikoni br. 9. i br. 10.).

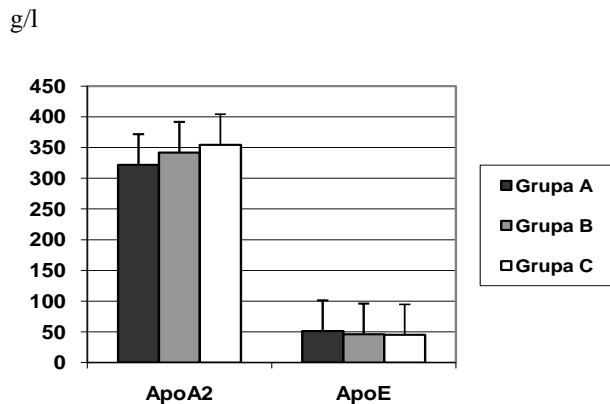
Istovremeno, analizom nivoa lipoproteinskih frakcija nije utvrđena statistički značajna razlika u nivou apolipoproteina između negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B, i grupe zdravih ispitanika, grupa C. Gojazni pacijenti sa T2D, grupa A, i zdravi ispitanici, grupa C, se statistički značajno razlikuju u nivou ApoA1, ApoB i ApoA2, ali ne i u nivou ApoE (Grafikon br. 9. i br. 10.).



Grafikon br. 9. Nivo lipoproteinskih frakcija (Apo A1 i ApoB) kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

Apo A1: A vs B $p < 0,05$, A vs C $p < 0,05$, B vs C $p = NS$

Apo B: A vs B $p = NS$, A vs C $p < 0,05$, B vs C $p = NS$



Grafikon br.10. Nivo lipoproteinskih frakcija (ApoA2 i ApoE) kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

Apo A2: A vs B p=NS, A vs C p< 0,05, B vs C p=NS

Apo E: A vs B p=NS, A vs C p =NS, B vs C p=NS

4.4.2.1. Analiza povezanosti lipoproteinskih frakcija i nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, analizom povezanosti nivoa lipoproteinskih frakcija i nivoa adipocitokina primenom metode Spirmanove linearne korelacije je utvrđena statistički visoko značajna povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom Apo A1, a nivoa leptina sa nivoom ApoB (Tabela br.5). Povezanost nivoa adiponektina sa nivoom ApoA1 i nivoa leptina sa nivoom ApoB je bila pozitivnog smera, a nivoa rezistina sa nivoom ApoA1 negativnog smera. Takođe, utvrđena je povezanost nivoa adiponektina i nivoa ApoB koja teži statističkoj značajnosti (p=0,06) i negativnog je smera.

Tabela br. 5. Povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa lipoproteinskih frakcija kod pacijenata sa T2D

	adiponektin		leptin		rezistin	
	r	p	r	p	r	p
<i>ApoA1</i>	0,42	< 0,01	0,12	NS	-0,30	< 0,01
<i>ApoB</i>	-0,23	0,06	0,27	< 0,05	0,47	NS
<i>ApoA2</i>	0,23	NS	0,20	NS	-0,09	NS
<i>ApoE</i>	-0,21	NS	0,10	NS	0,05	NS

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina sa ApoA1 i ApoB se ne menja, što ukazuje da je ova povezanost nezavisna od ITM. Takođe, metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrdili smo da je povezanost nivoa leptina sa nivoom ApoB nezavisna od ITM. Istovremeno, utvrđena značajna povezanost nivoa rezistina sa nivoom ApoA1, nakon korekcije za ITM se ne menja i govori u prilog da ITM utiče na povezanost nivoa rezistina sa nivoom ApoA1 kod pacijenata sa T2D.

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, značajna povezanost nivoa adiponektina sa nivoom ApoA1 i ApoB se ne menja, što ukazuje da je ova povezanost nezavisna od obima struka. Takođe, metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, utvrdili smo da je povezanost nivoa leptina sa nivoom ApoB nezavisna od parametra abdominalne gojaznosti. Istovremeno, utvrđena značajna povezanost nivoa rezistina sa ApoA1, nakon korekcije za obim struka se gubi i govori u prilog da obim struka utiče na povezanost nivoa rezistina sa nivoom ApoA1 kod pacijenata sa T2D.

4.4.3. Analiza istovremene povezanosti nivoa lipidskih parametara, frakcija holesterola i lipoproteinskih frakcija i nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih modelom multiple regresione analize ispitivan je uticaj gojaznosti na povezanost nivoa svih lipidskih parametara, frakcija holesterola i lipoproteinskih frakcija na nivo adipocitokina. Utvrđena je značajna povezanost nivoa Tg i nivoa Apo B sa nivoom adiponektina, ali ne sa nivoom leptina i rezistina.

Istovremeno kada se u ovaj model kao fiksna varijabla uključi ITM (R^2 0,91) značajnost povezanosti nivoa adiponektina sa Tg i ApoB nestaje što ukazuje da ITM ima vrlo značajan uticaj na ovu povezanost kod pacijenata sa T2D (Tabela br.6.).

Takođe, kada se u ovaj model kao fiksna varijabla uključi obim struka (R^2 0,83) značajnost povezanosti nivoa adiponektina sa Tg i ApoB nestaje što ukazuje da obim struka kao parametar abdominalne gojaznosti, ima vrlo značajan uticaj na povezanost adiponektina sa nivoom Tg i ApoB kod pacijenata sa T2D.

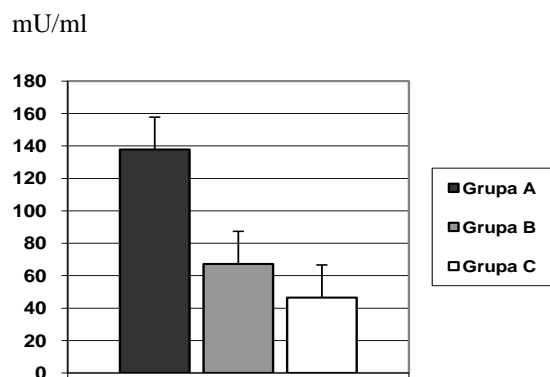
Tabela br. 6. Uticaj nivoa lipidskih parametara, frakcija holesterola i apolipoproteina na nivo adipocitokina kod pacijenata sa T2D

	<i>Adiponek</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>Leptin</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>Rezis</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>
R²	0,42	0,91	0,83	0,069	0,93	0,77	0,07	0,79	0,84
P	P	p	p	p	p	p	p	p	P
HOL	0,06	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
HDL	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
LDL	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
TG	0,03	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ApoA1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ApoB	0,02	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ApoA2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ApoE	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

4.4.4. Analiza nivoa oxLDL-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo oxLDL-a u ispitivanim grupama, a zatim njihova razlika.

Najviši nivo oxLDL-a je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C. Analizom nivoa oxLDL-a je utvrđena statistički značajna razlika između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D. U grupi A, gojaznih pacijenata sa T2D nivo oxLDL-a je bio značajno viši u poređenju sa grupom B, negojaznih pacijenata sa T2D. U obe grupe dijabetičara nivo oxLDL-a je bio značajno viši nego u grupi C, zdravih ispitanika (Grafikon br.11.).



Grafikon br.11. Nivo oxLDL-a kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B vs C $p < 0,01$, A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,05$

4.4.4.1 Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa oxLDL-a kod gojaznih i negojzanih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih gojaznih i negojzanih pacijenata sa T2D, grupa A i B, metodom Spirmanove linearne korelacije je utvrđena statistički visoko značajna povezanost nivoa oxLDL-a i nivoa adiponektina, leptina i rezistina (Tabela br.7). Povezanost nivoa oxLDL-a sa vrednostima adiponektina je negativnog, dok je sa vrednostima rezistina i leptina pozitivnog smera.

Tabela br.7. Povezanost nivoa adipocitokina i nivoa oxLDL-a kod pacijenata sa T2D

	oxLDL	
	r	p
<i>Adipocitokini</i>		
<i>Adiponektin</i>	-0,30	< 0,05
<i>Rezistin</i>	0,89	< 0,01
<i>Leptin</i>	0,69	< 0,01

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina sa oxLDL nestaje, što ukazuje da je ova povezanost zavisna od ITM.

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina sa oxLDL nestaje, sem u korelaciji oxLDL i leptina, što ukazuje da je povezanost adiponektina i rezistina sa ox LDL zavisna od obima struka.

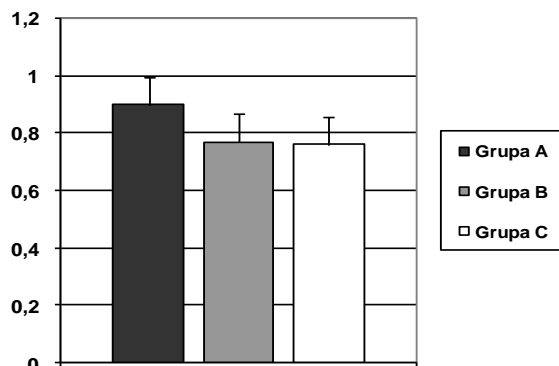
4.4.5. Analiza nivoa slobodnih masnih kiselina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo slobodnih masnih kiselina u serumu u bazalnim uslovima, u ispitivanim grupama, a potom je ispitivana njihova razlika.

Najviši nivo slobodnih masnih kiselina je registrovan u grupi A, gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa slobodnih masnih kiselina nije utvrđena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa. Istovremeno nije utvrđena razlika u nivou SMK između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D kao ni između pacijenata sa dijabetesom i grupe zdravih ispitanika (Grafikon br. 12.).

mmol/l



Grafikon br.12. Nivo slobodnih masnih kiselina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B p=NS ; A vs C p =NS; B vs C p =NS

4.4.5.1 Analiza povezanosti nivoa slobodnih masnih kiselina i nivoa adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih (grupe A i B) analizom povezanosti nivoa slobodnih masnih kiselina i nivoa adipocitokina primenom metode Spirmanove linearne korelacije nije utvrđena značajna povezanost nivoa slobodnih masnih kiselina i ispitivanih adipocitokina (Tabela br.8.).

Tabela br.8. Povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa slobodnih masnih kiselina kod pacijenata sa T2D

	adiponektin		leptin		rezistin	
	r	p	r	p	r	p
SMK	0,17	NS	0,01	NS	0,23	NS

4.5 Analiza povezanosti nivoa adipocitokina sa parametrima fibrinolize kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Smanjenje fibrinolize može biti značajan faktor u formiranju i daljem razvoju ateroskleroze. Pokazano je da je smanjena fibrinoliza najvećim delom posledica povišenog nivoa inhibitora plazminogena, odnosno plazminogen aktivator inhibitora 1 (PAI-1) (125). U nekoliko studija je pokazano da je smanjena fibrinoliza povezana sa gojaznošću (123), ali i da je izmenjena kod pacijenata sa T2D (124). U malom broju radova je analiziran odnos nivoa adipocitokina i PAI-1 kod gojaznih pacijenata sa T2D.

4.5.1. Analiza nivoa PAI-1 kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

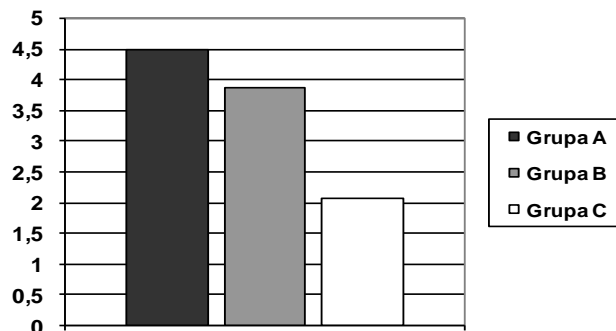
Prethodno opisanom metodom je određivan nivo aktivnosti plazminogen aktivator inhibitora 1 (PAI-1) kao pokazatelja fibrinolitičke aktivnosti u ispitivanim grupama, a potom je analizirana njihova razlika.

Najviši nivo PAI-1 je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika.

Analizom nivoa PAI-1 je utvrđena statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br. 13.).

U grupi A, gojazni pacijenti sa T2D, nivo PAI-1 je bio značajno viši u poređenju sa grupom B, negojaznih pacijenata sa T2D, a u obe grupe dijabetičara nivo PAI-1 je bio značajno viši nego u grupi C, zdravih ispitanika. Takođe, nivo PAI-1 u grupi B je bio značajno viši u poređenju sa grupom C (Grafikon br.13).

U/ml



Grafikon br.13. Nivo PAI-1 kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

4.5.1.1 Analiza povezanost nivoa adipocitokina sa nivoom PAI-1 kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, grupe A i B, analizom povezanosti nivoa PAI-1 i nivoa adipocitokina primenom metode Spirmanove linearne korelacije je utvrđena statistički značajna povezanost nivoa PAI-1 sa nivoima adiponektina, rezistina i leptina (Tabela br.9.). Povezanost nivoa adiponektina i nivoa PAI-1 je bila negativnog smera, a povezanost nivoa leptina i rezistina sa nivom PAI-1 je bila pozitivnog smera.

Tabela br.9. Povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa PAI-1 kod pacijenata sa T2D

	adiponektin		leptin		rezistin	
	r	p	r	p	r	p
<i>PAI-1</i>	-0,47	<0,01	0,25	<0,05	0,35	<0,01

Modelom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrđena značajna povezanost Spirmanovom linearnom korelacijom nivoa PAI-1 i nivoa adipocitokina se gubi, što ukazuje na značajan uticaj ITM na utvrđenu povezanost nivoa adipocitokina i nivoa PAI-1 kod pacijenata sa T2D.

Takođe, primenom modela parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, značajna povezanost nivoa adipocitokina i nivoa PAI-1 se ne održava, što upućuje na značajan uticaj obima struka kao parametra abdominalne gojaznosti na povezanost nivoa adipocitokina i nivoa PAI-1 kod pacijenata sa T2D.

4.6. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i markera inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

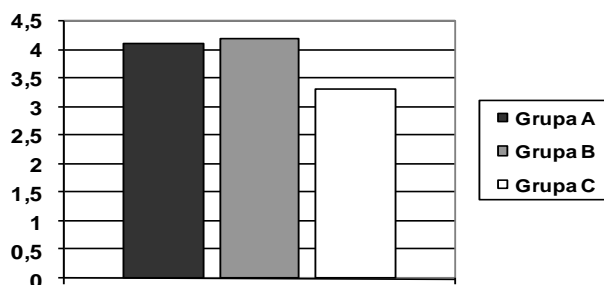
Gojaznost i bolesti povezane sa gojaznošću kao što su dijabetes melitus i aterosklerotske bolesti odlikuju se i stanjem stalno prisutne hronične inflamacije niskog nivoa aktivnosti (70,71). Gojazne osobe sa T2D imaju povišen nivo markera inflamacije kao što su i već pomenuti adipocitokini TNF, IL-6, ali i standardni markeri inflamacije, C reaktivni protein (CRP) i fibrinogen. U razvoju kardiovaskularnih bolesti do sada je dobro proučena uloga CRP i on se smatra nezavisnim faktorom rizika za razvoj KB (80,81). Uloga drugih citokina u inflamaciji i razvoju ateroskleroze kod gojaznih pacijenata sa T2D kao i njihova povezanost sa adipocitokinima nije u potpunosti razjašnjena. Povezanost adipocitokina i parametara inflamacije kod gojaznih pacijenata sa T2D nije još uvek proučena.

4.6.1. Analiza nivoa markera inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u poređenju sa zdravim ispitanicima

Prethodno opisanom metodom je određivan nivo CRP-a u ispitivanim grupama, a potom je analizirana njihova razlika. Najviši nivo CRP-a je registrovan kod gojaznih

pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C. Najviši nivo fibrinogena je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C. Analizom razlike nivoa fibrinogena nije utvrđena statistički značajna razlika između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, a utvrđena je statistički značajna razlika u nivou fibrinogena kod pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike (Grafikon br. 14.).

g/l

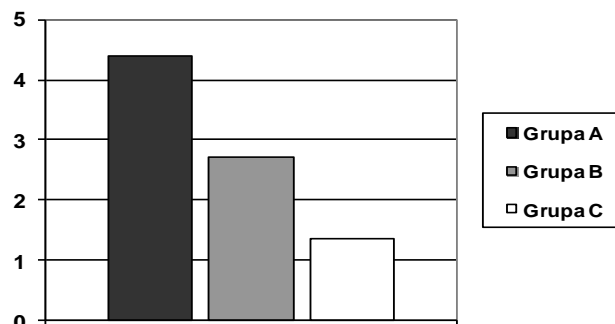


Grafikon br.14. Nivo fibrinogena kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

Istovremeno, analizom nivoa CRP-a između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i B, utvrđena je razlika koja ne dostiže nivo statističke značajnosti $p=0,06$. U obe grupe dijabetičara nivo CRP-a je bio značajno viši nego u grupi C, zdravih ispitanika (Grafikon br.15.).

mg/ml



Grafikon br.15. Nivo CRP-a kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p = 0,06$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

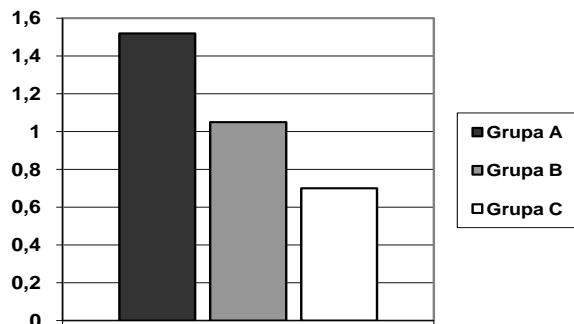
4.6.2. Analiza nivoa TNF- α kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanom metodom je određivan nivo TNF- α u ispitivanim grupama, a potom je analizirana njihova razlika.

Najviši nivo TNF- α je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa TNF- α utvrđena je statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br.16.).

pg/ml



Grafikon br.16. Nivo TNF- α kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,05$

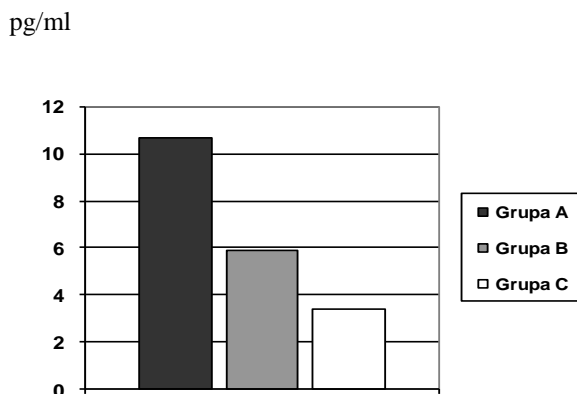
Analizom nivoa TNF- α utvrđena je statistički značajna razlika između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i B. Istovremeno, utvrđena je statistički značajna razlika kako između grupe gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i zdravih ispitanika, grupa C, tako i između grupe negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B i zdravih ispitanika, grupa C (Grafikon br. 16).

4.6.3. Analiza nivoa IL-6 kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanom metodom je određivan nivo IL-6 u ispitivanim grupama, a potom je analizirana njihova razlika.

Najviši nivo IL-6 je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najniži kod zdravih ispitanika, grupa C.

Analizom nivoa IL-6 utvrđena je statistički značajna razlika između svih ispitivanih grupa (Grafikon br.17.).



Grafikon br.17. Nivo IL-6 kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p = NS$

Analizom nivoa IL-6 utvrđena je statistički značajna razlika između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i B, ali nije bilo statistički značajne razlike u nivou IL-6 između grupe negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B i zdrave kontrole, grupa C (Grafikon br. 17.).

4.6.4. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i markera inflamacije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, analizom povezanosti nivoa CRP-a, fibrinogena, TNF- α i IL-6 i nivoa adipocitokina primenom metode Spirmanove linearne korelacije je utvrđena značajna povezanost nivoa adiponektina sa nivoom fibrinogena i TNF- α , nivoa leptina sa nivoom CRP-a i IL-6, a nivoa rezistina sa nivoom TNF- α i IL-6. Utvrđena povezanost nivoa adiponektina sa nivoom TNF- α i fibrinogena je bila negativnog smera, a povezanost nivoa leptina i rezistina sa parametrima hronične inflamacije je bila pozitivnog smera (Tabela br. 10.).

Tabela br.10. Povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa markera inflamacije kod pacijenata sa T2D

	adiponektin		leptin		rezistin	
	r	p	r	p	r	p
<i>CRP</i>	-0,08	NS	0,43	< 0,01	-0,01	NS
<i>Fibrinogen</i>	-0,26	< 0,05	0,14	NS	-0,15	NS
<i>TNF-α</i>	-0,34	< 0,01	0,21	NS	0,26	< 0,05
<i>IL-6</i>	-0,10	NS	0,30	< 0,05	0,39	< 0,05

Modelom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrđena značajna povezanost markera inflamacije i nivoa adipocitokina se ne održava, što ukazuje da ITM ima značajan uticaj na povezanost nivoa adipocitokina i markera inflamacije kod pacijenata sa T2D.

Takođe, modelom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, utvrđena značajna povezanost markera inflamacije i nivoa adipocitokina se gubi, što ukazuje da i obim struka kao parametar abdominalne gojaznosti, ima značajan uticaj na povezanost nivoa adipocitokina i markera inflamacije kod pacijenata sa T2D.

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, primenom metode linearne regresije, kada je zavisna varijabla adiponektin utvrdili smo da je nivo TNF- α nezavisni prediktor njegovog nivoa, dok ostali markeri inflamacije nemaju uticaja na nivo adiponektina. Kada smo u ovaj model linearne regresije uvrstili i ITM značajnost ove povezanosti se ne održava i ukazuje na značajan uticaj ITM na povezanost nivoa adiponektina i nivoa TNF- α kod pacijenata sa T2D. Takođe, kada se u ovaj model uključi i obim struka pokazan je njegov značajan uticaj na povezanosti nivoa adiponektina i nivoa TNF- α kod pacijenata sa T2D.

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, primenom metode linearne regresije, kada je zavisna varijabla leptin, utvrdili smo da su nivoi TNF- α i CRP-a nezavisni prediktori njegovog nivoa. Kada smo u ovaj model linearne regresije uvrstili i ITM kao i obim struka pokazano je da i ITM i obim struka značajno utiču na povezanost nivoa leptina i nivoa TNF- α , dok nemaju uticaja na povezanost nivoa leptina i nivoa CRP-a kod pacijenata sa T2D.

Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, primenom metode linearne regresije, kada je zavisna varijabla rezistin, utvrdili smo da se nijedan od ispitivanih markera inflamacije ne izdvaja kao njegov nezavisni prediktor.

4.6.5. Analiza uticaja nivoa parametara inflamacije na nivo adipocitokina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Modelom multiple regresione analize smo ispitivali istovremeni uticaj nivoa svih ispitivanih parametara inflamacije na nivo adipocitokina i utvrdili smo da samo nivo TNF- α značajno određuje nivo adiponektina i leptina, kao i da nivo CRP-a određuje nivo leptina. Istovremeno, utvrdili smo da nivoi IL-6 i fibrinogena u ovom modelu ne utiču na nivo adipocitokina. Kada smo u ovaj ispitivani model uvrstili i ITM kao i obim struka, pokazali smo da se utvrđena značajna povezanost ne održava, odnosno da ITM i obim struka imaju značajan uticaj na povezanost markera inflamacije i nivoa adipocitokina kod pacijenata sa T2D (Tabela br. 11.).

Tabela br.11. Uticaj parametara inflamacije na nivo adipocitokina kod pacijenata sa T2D

	<i>Adiponek</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>Rezistin</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>Leptin</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>
R²	0,21	0,89	0,79	0,11	0,74	0,85	0,33	0,80	0,73
	p	p	p	p	p	p	p	p	p
CRP	NS	NS	NS	NS	NS	NS	<0,01	NS	NS
Fibrinogen	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
TNF-α	<0,05	NS	NS	NS	NS	NS	<0,05	NS	NS
IL-6	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

4.7. Analiza povezanosti nivoa adipocitokina i ranih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Poslednjih godina pažnja istraživača je usmerena na izučavanje i definisanje ranih markera ateroskleroze. U brojnim radovima je pokazano da je nivo oxLDL povišen kod pacijenata sa koronarnom bolešću. U eksperimentalnim radovima je pokazano da adiponektin suprimira proaterogene efekte oxLDL-a i koriguje endotelnu disfunkciju. Istovremeno, u malom broju radova je pokazana inverzna korelacija adiponektina i oxLDL-a kod gojaznih pacijenata sa T2D (145). S druge strane u radovima vaskularne biologije je ukazano na značaj azot oksida (NO) za endotelnu funkciju, odnosno pokazana je njegova protektivna uloga u procesu ateroskleroze. Međutim u kliničkim studijama je nedovoljno istražena povezanost nivoa adipocitokina i ranih markera ateroskleroze (146).

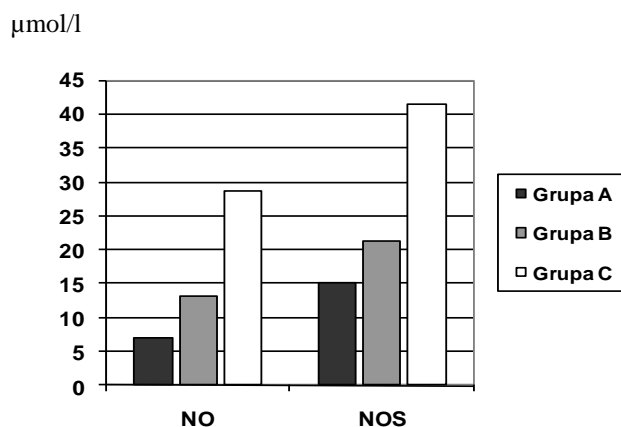
Složeni odnosi adipocitokina i ranih markera ateroskleroze, kao i uticaj gojaznosti na tu povezanost kod pacijenata sa T2D i dalje nisu u potpunosti razjašnjeni.

4.7.1. Analiza nivoa NO-a i NOS-a kod gojaznih i negojaznih pacijenta sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Prethodno opisanim metodama je određivan nivo NO-a i nivo NOS-a u ispitivanim grupama, a zatim je analizirana njihova razlika.

Najniži nivo NO-a kao i NOS-a je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, a najviši kod zdravih ispitanika, grupa C. Analizom nivoa NO-a kao i nivoa NOS-a je utvrđena statistički značajna razlika između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.

U grupi A, gojaznih pacijenata sa T2D nivo NO-a i nivo NOS-a je bio značajno niži u poređenju sa grupom B, negojaznih pacijenata sa T2D. U obe grupe pacijenata sa T2D nivo NO-a i NOS-a je bio značajno viši nego u grupi C, zdravih ispitanika (Grafikon br. 18.).



Grafikon br.18. Nivo NO-a i NOS-a kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

NO: A vs B vs C $p < 0,01$, A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

NOS: A vs B vs C $p < 0,01$, A vs B $p < 0,05$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$

4.7.1.1 Analiza povezanosti nivoa adipocitokina sa nivoom NO-a i NOS-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Primenom metode Spirmanove linearne korelacije, kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B je utvrđena statistički značajna povezanost nivoa NO-a sa nivoom adiponektina, leptina i rezistina, kao i značajna povezanost nivoa NOS-a sa vrednostima leptina i rezistina (Tabela br.12.). Kod ovih ispitanika utvrđena povezanost nivoa NO-a sa nivoom adiponektina je bila pozitivnog smera, dok je povezanost nivoa NO-a i NOS-a sa nivoom rezistina i leptina bila negativnog smera.

Tabela br.12. Povezanosti nivoa adipocitokina i nivoa NO-a i NOS-a kod pacijenata sa T2D

	NO		NOS	
	r	p	r	p
<i>Adiponektin</i>	0,354	< 0,05	0,13	NS
<i>Rezistin</i>	- 0,40	< 0,05	-0,307	< 0,01
<i>Leptin</i>	-0,316	< 0,01	-0,360	< 0,05

U modelu linearne regresione analize kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kada je NO zavisna varijabla nivoi adiponektina, rezistina i leptina su bili nezavisni prediktori njegovog nivoa, a kada je NOS zavisna varijabla utvrdili smo da su samo nivoi rezistina i leptina nezavisni prediktori njegovog nivoa.

Kada smo u model linearne regresije (backward) uključili i ITM značajnost ove povezanosti nestaje za leptin i rezistin, a ne menja se za adiponektin što ukazuje da ITM značajno utiče na povezanost nivoa leptina i rezistina sa nivoom NO-a i NOS-a, dok ITM ne utiče na povezanost nivoa adiponektina i NO-a kod pacijenata sa T2D

Kada smo u model linearne regresije (backward) uključili obim struka značajna povezanost adipocitokina i NO-a se gubi, kao i značajna povezanost nivoa leptina i rezistina sa nivoom NOS-a, što ukazuje da abdominalna gojaznost značajno utiče na povezanost nivoa adipocitokina i NO-a i NOS-a.

4.7.2. Analiza uticaja nivoa adipocitokina na nivo ranih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih analiziran je istovremeni uticaj svih ispitivanih adipocitokina na nivoe NO-a i NOS-a modelom multiple regresione analize ali je u model uključen i oxLDL kao parametar koji povezuje klasične biohemijske markere arteroskleroze i druge markere endotelne disfunkcije.

Utvrđeno je da nivoi leptina i rezistina značajno određuju nivo oxLDL-a, dok nivoi svih ispitivanih adipocitokina utiču na nivo NO-a, istovremeno na nivo NOS-a utiče samo nivo leptina (Tabela br. 13.)

Istovremeno kada se u ovaj model kao fiksna varijabla uključi ITM značajnost povezanosti nivoa oxLDL-a, NO-a i NOS-a sa nivoom adipocitokina nestaje što ukazuje da ITM ima vrlo značajan uticaj na povezanost biohemijskih markera ateroskleroze i endotelne disfunkcije i nivoa adipocitokina kod pacijenata sa T2D (Tabela br. 13.).

Takođe, kada se u ovaj model kao fiksna varijabla uključi obim struka značajnost povezanosti nivoa oxLDL-a, NO-a i NOS-a sa nivoom adipocitokina se gubi, što ukazuje da obim struka kao parametar abdominalne gojaznosti, ima vrlo značajan uticaj na povezanost biohemijskih markera ateroskleroze i endotelne disfunkcije sa nivoom adipocitokina kod pacijenata sa T2D (Tabela br. 13.).

Tabela br.13. Uticaj nivoa adipocitokina na nivo ranih markera ateroskleroze kod pacijenata sa T2D

	<i>oxLDL</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>NO</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>NOS</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>
R²	0,377	0,96	0,82	0,269	0,94	0,77	0,185	0,77	0,69
	p	p	p	p	p	p	p	p	p
Adiponektin	NS	NS	NS	<0,05	NS	NS	NS	NS	NS
Leptin	<0,01	NS	NS	<0,05	NS	NS	<0,05	NS	NS
Rezistin	<0,05	NS	NS	<0,05	NS	NS	NS	NS	NS

4.8. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa promenama postprandijalnih vrednosti standardnih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

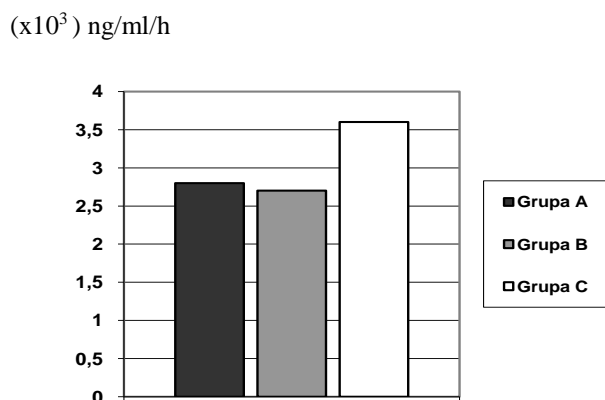
Novije kliničke studije su ukazale na značaj postprandijalnog porasta nivoa glukoze i lipidskih parametara, nezavisno od njihovih vrednosti našte, kao prediktora mortaliteta kod pacijenata sa T2D, ali i kod gojaznih osoba (147,148). U do sada objavljenim studijama u kojima su analizirane postprandijalne vrednosti adiponektina kao i njegova povezanost sa vrednostima glikemije i lipidskim parametrima dobijeni su oprečni rezultati. U studiji Ciarija i saradnika pokazano je da postprandijalna lipemija nema značajnog efekta na nivoe ispitivanih adipocitokina. Promene adiponektina nakon obroka utiču na povećanje kardiovaskularnog rizika, koji je već povećan porastom postprandijalne lipidemije i glikemije (157).

U tom smislu u navedenim grupama sproveden je test opterećenja masnim obrokom u cilju ispitivanja postprandijalnih nivoa adipocitokina, glikemije, insulinemije i lipidskih parametara i to u 2., 4., 6. i 8. satu nakon standardnog masnog obroka.

4.8.1. Analiza postprandijalnog nivoa adiponektina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na zdrave ispitanike

Nivo postprandijalnog adiponektina je predstavljen površinom ispod krive (PIK), a izračunat standardnim trapezoidnim metodom.

Analizom razlike u nivou postprandijalnog adiponektina, određenog PIK-om između ispitivanih grupa utvrdili smo statistički značajnu razliku. Takođe, statistički značajna razlika je utvrđena u vrednostima postprandijalnih adiponektina određenih PIK-om između grupa A i C, kao i između grupa B i C. Međutim, statistički značajna razlika u postprandijalnim vrednostima adiponektina određenog PIK-om nije utvrđena između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i B (Grafikon br.19.).



Grafikon br.19. Postprandijalne vrednosti adiponektina (PIK) kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

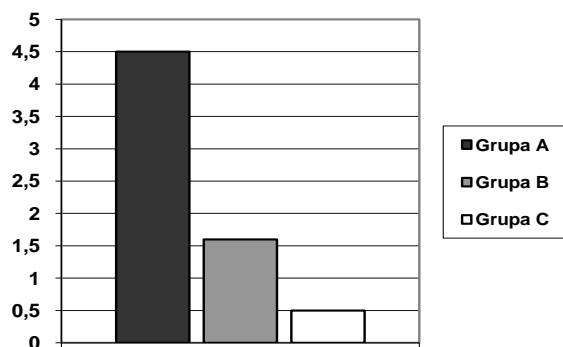
A vs B p=NS ; A vs C p < 0,05; B vs C p < 0,01

S obzirom da analizom razlike vrednosti postprandijalnog adiponektina, određenih PIK-om, između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D nije utvrđena statistički značajna razlika, urađena je i dodatna analiza razlike nivoa promene adiponektina (Δ adiponektin)

nakon obroka. Δ adiponektin je određen kao razlika maksimalne vrednosti postprandijalnog adiponektina (vrednost određena u 3. merenju, 6 sati nakon standardnog masnog obroka) i vrednosti bazalnog adiponektina.

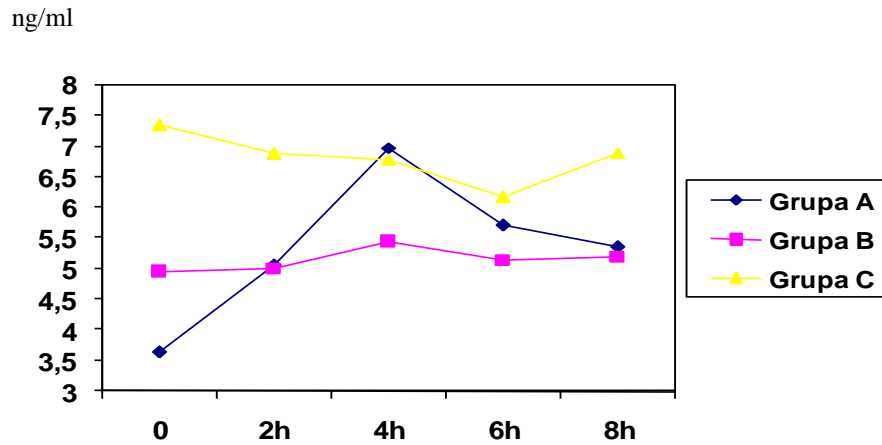
Analizom razlike vrednosti Δ adiponektina između grupa A i B utvrđena je visoko statistički značajna razlika. Pokazano je da je vrednost Δ adiponektina značajno veća u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B (Grafikon br.20)

ng/ml



Grafikon br.20. Nivo promene adiponektina (Δ adiponektin) nakon obroka kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B $p < 0,01$; A vs C $p < 0,01$; B vs C $p < 0,01$



Grafikon br.21. Nivoo adiponektina nakon obroka kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

bazalne vrednosti: A vs B $p < 0,01$, A vs C $p < 0,01$, B vs C $p < 0,01$

2.sat: A vs B $p = NS$, A vs C $p < 0,01$, B vs C $p < 0,01$

4. i 6. sat: A vs B $p = NS$, A vs C $p = NS$, B vs C $p = NS$

8.sat: A vs B $p = NS$, A vs C $p < 0,05$, B vs C $p < 0,01$

Detaljnijom analizom, metodom multivarijantne analize za vezane uzorke registrovana je značajna razlika u nivou postprandijalnog adiponektina između ispitivanih grupa kao i između pojedinačnih merenja unutar grupa.

Analizom nivoa adiponektina u baznim uslovima između svih grupa postoji statistički značajna razlika.

Analizom nivoa adiponektina u 2.-om satu nakon mešovitoog obroka, između gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B nije utvrđena statistički značajna razlika. Statistički značajna razlika u nivou adiponektina je utvrđena

između gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A, i zdravih ispitanika grupa C, kao i između negojaznih pacijenata sa T2D grupa B i grupe C zdravih ispitanika.

Analizom nivoa adiponektina u 4.-om satu kao i u 6.-om satu nakon mešovitoг obroka, između gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B, nije utvrđena statistički značajna razlika. Statistički značajna razlika u nivou adiponektina nije utvrđena ni između gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i grupe C zdravih ispitanika, kao i ni između negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B i grupe C zdravih ispitanika.

Analizom nivoa adiponektina u 8.-om satu nakon mešovitoг obroka, između gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i negojaznih pacijenata sa T2D grupa B, nije utvrđena statistički značajna razlika. Statistički značajna razlika u nivou adiponektina je utvrđena između gojaznih pacijenata sa T2D, grupa A i grupe C, zdravih ispitanika, kao i između negojaznih pacijenata sa T2D, grupa B i grupe C, zdravih ispitanika.

Metodom multivarijantne analize za vezane uzorke u grupi A, gojaznih pacijenata sa T2D utvrđeno je da se nivo adiponektina: u prvom merenju (bazalni uslovi) značajno razlikovao u odnosu na nivoe adiponektina u svim ostalim merenjima nakon mešovitoг obroka. U drugom merenju (2 sata nakon obroka) nivo adiponektina raste i statistički se značajno razlikuje u odnosu na treće merenje (4 sata nakon obroka) i četvrto merenje (6 sati nakon obroka), ali statistički značajne razlike u odnosu na 5. merenje (8 sati nakon obroka) nema. U trećem merenju (4 sata nakon obroka) nivo adiponektina dostiže maksimalne vrednosti i statistički se značajno razlikuje u odnosu na sva ostala merenja. U četvrtom merenju (6 sati nakon obroka) nivo adiponektina se smanjuje u odnosu na 3. merenje i statistički se značajno razlikuje u odnosu na sva ostala merenja. U petom merenju (8 sati nakon obroka) nivo adiponektina se i dalje smanjuje, ali ne dostiže početne vrednosti i statistički se značajno razlikuje u odnosu na 1.,3., i 4. merenje, ali se ne razlikuje u odnosu na nivo adiponektina u drugom merenju.

Metodom multivarijantne analize za vezane uzorke u grupi B, negojaznih pacijenata sa T2D utvrđeno je da se nivo adiponektina u prvom merenju (bazalni uslovi)

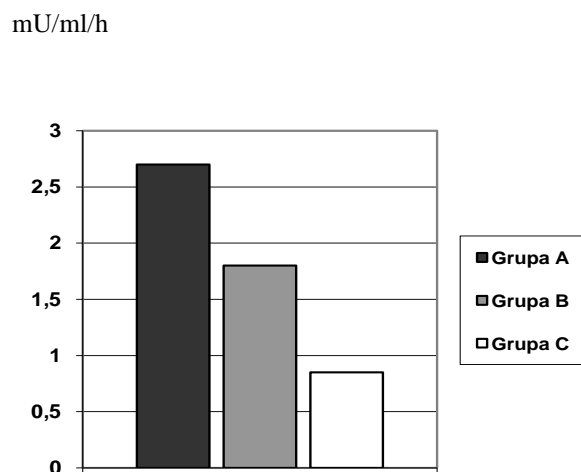
značajno razlikovao u odnosu na nivo adiponektina samo u 3.merenju (6 sati nakon obroka), dok se sa nivoom adiponektina u ostalim merenjima nije statistički razlikovao. U drugom merenju (2 sata nakon obroka) nivo adiponektina raste i statistički se značajno razlikovao u odnosu na nivo adiponektina samo u 3. merenju, dok se sa nivoom adiponektina u ostalim merenjima nije statistički razlikovao. U trećem merenju (4 sata nakon obroka) nivo adiponektina dostiže maksimalne vrednosti i statistički se značajno razlikuje u odnosu na sva ostala merenja. U četvrtom merenju (6 sati nakon obroka) nivo adiponektina opada i statistički se značajno razlikovao u odnosu na nivo adiponektina samo u 3. merenju, dok se u odnosu na nivo adiponektina u ostalim merenjima nije statistički razlikovao. U petom merenju (8 sati nakon obroka) nivo adiponektina se i dalje smanjuje i dostiže početne vrednosti, a statistički se značajno razlikuje samo u odnosu na 3. merenje.

Metodom multivarijantne analize za vezane uzorke u grupi C zdravih ispitanika utvrđeno je da se nivo adiponektina u prvom merenju (bazalni uslovi) nije statistički razlikovao u odnosu na nivo adiponektina u ostalim merenjima. U drugom merenju (2 sata nakon obroka) nivo adiponektina opada i statistički se ne razlikuje u odnosu na nivo adiponektina u ostalim merenjima. U trećem merenju (4 sata nakon obroka) nivo adiponektina raste i dostiže maksimalne vrednosti i statistički se značajno razlikuje u odnosu na 4. i 5. merenje. U četvrtom merenju (6 sati nakon obroka) nivo adiponektina opada i statistički se značajno razlikuje samo u odnosu na nivo adiponektina u 3. merenju. U petom merenju (8 sati nakon obroka) nivo adiponektina se i dalje smanjuje i dostiže početne vrednosti i statistički se značajno razlikuje samo u odnosu na 3.merenje.

4.8.2. Analiza povezanosti postprandijalnih promena adiponektina i promena postprandijalnog nivoa insulina kao i baznih vrednosti HOMA-IR kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Nivo postprandijalnog insulina je predstavljen površinom ispod krive (PIK), a izračunat je standardnim trapezoidnim metodom.

Ispitivane grupe gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, se statistički značajno razlikuju po vrednostima PIK-a za insulin (Grafikon br. 22.).



Grafikon br.22. Postprandijalne vrednosti (PIK) insulina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B < 0,01; A vs C p< 0,01; B vs C p< 0,01

Metodom Spirmanove linearne korelacije utvrđena je statistički značajna povezanost negativnog smera vrednosti PIK-a za adiponektin sa HOMA-IR i bazalnom insulinemijom, kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B. Nije bilo značajne povezanosti vrednosti Δ adiponektina sa vrednostima PIK-a za insulin i parametara insulinske rezistencije (Tabela br. 14.).

Tabela br.14. Povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa promenama postprandijalnih vrednosti insulina i baznim parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D

	PIK adiponektina		Δ adiponektin	
	r	p	r	p
<i>PIK insulin</i>	-0,09	NS	0,24	NS
<i>HOMA-IR</i>	-0,282	<0,05	0,109	NS
<i>Insulin</i>	-0,242	<0,05	0,09	NS

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, utvrđena značajna povezanost nivoa PIK-a za adiponektin sa vrednostima insulina i HOMA-IR se održava što ukazuje da ITM nema značajan uticaj na ovu povezanost kod pacijenata sa T2D.

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za obim struka, sve utvrđene povezanosti se održavaju, što ukazuje da obim struka ne utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D.

U modelu linearne regresione analize kada je zavisna varijabla nivo PIK-a za adiponektin kao nezavisni prediktor se izdvaja vrednost HOMA-IR, a vrednosti postprandijalnih insulina teže statistički značajnoj predikciji nivoa PIK-a za adiponektin, p je 0,06.

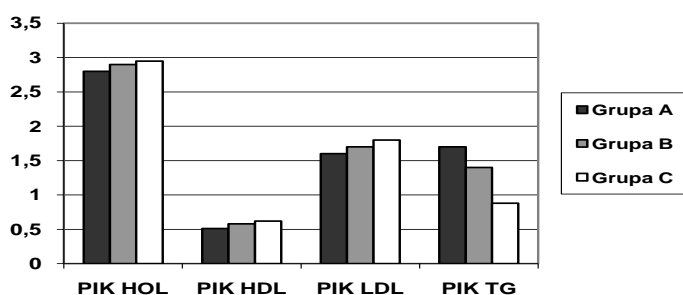
4.8.3 Analiza povezanost postprandijalnih promena adiponektina i lipidskih parametara, lipoproteinskih frakcija i slobodnih masnih kiselina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

4.8.3.1. Analiza povezanosti postprandijalnog nivoa adiponektina sa promenama postprandijalnih nivoa lipidskih parametara kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Nivo postprandijalnih lipidskih parametara je predstavljen površinom ispod krive (PIK), a izračunat standardnim trapezoidnim metodom.

Ispitivane grupe gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, se statistički značajno razlikuju po vrednostima PIK-a za HDL i PIK-a za Tg, ali ne i za PIK za UH i PIK za LDL (Grafikon br. 23.).

mmol/l/h



Grafikon br.23. Postprandijalne vrednosti (PIK) standardnih lipidskih parametara kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

PIK HOL: A vs B =NS; A vs C p =NS B vs C p =NS

PIK HDL: A vs B < 0,05; A vs C p< 0,05; B vs C p=NS

PIK LDL : A vs B =NS; A vs C p =NS B vs C p =NS

PIK TG: A vs B < 0,05; A vs C p< 0,01; B vs C p< 0,05

Metodom Spirmanove linearne korelacije kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, je utvrđena statistički značajna povezanost nivoa PIK-a za adiponektin sa PIK-om za HDL i TG. Međutim, nije bilo značajne povezanosti PIK-a standardnih lipidskih parametara i Δ adiponektina (Tabela br. 15.). Kod ovih ispitanika je utvrđena povezanost nivoa PIK-a HDL-a sa PIK-om za adiponektin je bila pozitivnog smera a PIK-a za Tg sa PIK-om za adiponektin je bila negativnog smera.

Tabela br.15. Povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa promenama postprandijalnih vrednosti lipidskih parametara kod pacijenata sa T2D

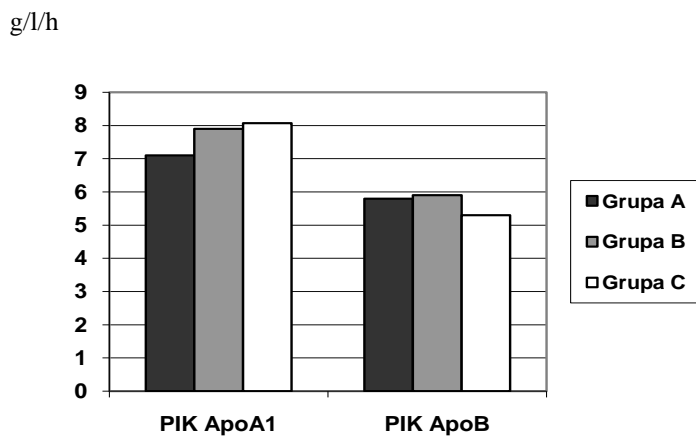
	PIK adiponektina		Δ adiponektin	
	r	p	r	p
<i>PIK HOL</i>	0,05	NS	0,02	NS
<i>PIK HDL</i>	0,39	< 0,01	- 0,10	NS
<i>PIK LDL</i>	0,15	NS	0,13	NS
<i>PIK TG</i>	-0,25	< 0,05	0,19	NS

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, kao i sa korekcijom za obim struka, utvrđena značajna povezanost nivoa PIK-a za adiponektin sa PIK-om za HDL i TG se gubi što ukazuje da ITM i obim struka imaju značajan uticaj na ovu povezanost.

4.8.3.2. Analiza povezanosti promena postprandijalnog nivoa adiponektina sa promenama postprandijalnih nivoa lipoproteinskih frakcija kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Nivo postprandijalnih lipidskih frakcija je predstavljen površinom ispod krive (PIK), a izračunat je standardnim trapezoidnim metodom.

Ispitivane grupe gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B se statistički značajno razlikuju po vrednostima PIK-a za ApoA1 i ApoA2, ali ne i za vrednosti PIK-a za ApoB i ApoE (Grafikoni br. 24. i br. 25.)

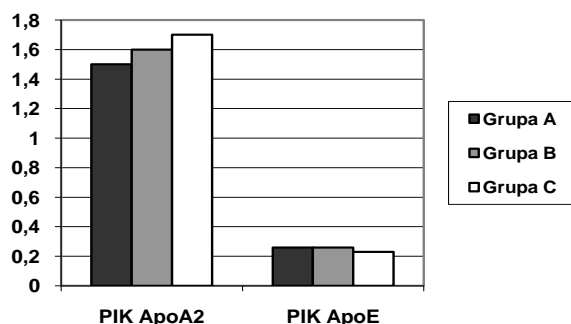


Grafikon br.24. Postprandijalne vrednosti (PIK) lipoproteinskih frakcija (ApoA1 i ApoB) kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

PIK ApoA1: A vs B < 0,05; A vs C p< 0,05; B vs C p=NS

PIK ApoB: A vs B =NS ; A vs C p=NS; B vs C p=NS

g/l/h



Grafikon br. 25. Postprandijalne vrednosti (PIK) lipoproteinskih frakcija (ApoA2 i ApoE) kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

PIK ApoA2: A vs B < 0,05; A vs C p< 0,05; B vs C p=NS

PIK ApoE: A vs B =NS ; A vs C p< 0,05; B vs C p=NS

Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, metodom Spirmanove linearne korelacije, nije utvrđena statistički značajna povezanost nivoa PIK-a za adiponektin sa PIK-om za apolipoproteine, dok je utvrđena značajna povezanost negativnog smera, Δ adiponektina sa vrednostima PIK-a za Apo2 (Tabela br. 16.).

Tabela br.16. Povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa promenama postprandijalnih vrednosti lipoproteinskih frakcija kod pacijenata sa T2D

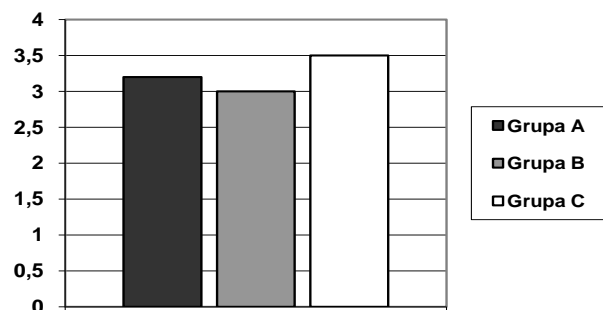
	PIK adiponektina		Δ adiponektin	
	r	p	r	p
<i>PIK Apo A1</i>	0,15	NS	- 022	NS
<i>PIK ApoB</i>	-0,14	NS	- 0,05	NS
<i>PIK ApoA2</i>	-0,10	NS	-0,37	<0,05
<i>PIK ApoE</i>	-0,10	NS	0,06	NS

Metodom parcijalne korelacije sa korekcijom za ITM, kao i sa korekcijom za obim struka, utvrđena značajna povezanost nivoa Δ adiponektin sa vrednostima PIK-a za Apo2 se održava što ukazuje da ITM i obim struka nemaju značajan uticaj na ovu povezanost kod pacijenata sa T2D.

4.8.3.3 Analiza povezanosti promena postprandijalnih nivoa adiponektina sa promenama postprandijalnih nivoa slobodnih masnih kiselina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Nivo postprandijalnih slobodnih masnih kiselina je predstavljen površinom ispod krive (PIK), a izračunat je standardnim trapezoidnim metodom. Ispitivane grupe gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, se statistički značajno ne razlikuju po vrednostima PIK-a za slobodne masne kiseline (Grafikon br. 26.)

mmol/l/h



Grafikon br. 26. Postprandijalne vrednosti (PIK) slobodnih masnih kiselina kod pacijenata sa T2D i zdravih ispitanika

A vs B =NS ; A vs C p=NS; B vs C p=NS

Takođe, metodom Spirmanove linearne korelacije kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, nije utvrđena statistički značajna povezanost nivoa PIK-a za adiponektin i Δ adiponektin sa PIK-om za slobodne masne kiseline (Tabela br 17.).

Tabela br.17. Povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa promenama postprandijalnih vrednosti SMK kod pacijenata sa T2D

	PIK adiponektina		Δ adiponektin	
	r	p	r	p
<i>PIK SMK</i>	-0,17	NS	0,11	NS

4.8.4. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa ranim markerima ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

4.8.4.1. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa nivoom bazalnih vrednosti NO-a i NOS-a kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Metodom Spirmanove linearne korelacije je utvrđena visoko statistički značajna povezanost negativnog smera između nivoa NO-a i NOS-a sa vrednostima Δ adiponektina između ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B. Međutim, nije bilo značajne povezanosti nivoa NO-a i NOS-a sa PIK-om adiponektina (Tabela br. 18.).

Tabela br.18. Povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa ranim markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D

	NO		NOS	
	r	p	r	p
<i>PIK adiponektina</i>	- 0,04	NS	-0,03	NS
<i>Δ adiponektin</i>	- 0,56	< 0,01	-0,31	< 0,01

U modelu linearne regresione analize kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kada je NO, odnosno NOS, zavisna varijabla nivoi PIK-a adiponektina i Δ adiponektin su bili nezavisni prediktori i nivoa NO-a i nivoa NOS-a.

Kada smo u ovaj model linearne regresije uvrstili i ITM značajnost ove povezanosti se održava i ukazuje da ITM nema značajan uticaj na povezanost nivoa PIK-a adiponektina i Δ adiponektin sa nivoom NO-a i NOS-a kod pacijenata sa T2D.

Kada smo u ovaj model linearne regresije uvrstili i obim struka značajnost ove povezanosti se održava i ukazuje da obim struka nema značajan uticaj na povezanost nivoa PIK-a adiponektina i Δ adiponektin sa nivoom NO-a ni nivoom NOS-a sa kod pacijenata sa T2D.

4.8.4.2. Analiza povezanosti promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa nivoom bazalnih vrednosti ox-LDL kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D

Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, metodom Spirmanove linearne korelacije je utvrđena statistički visoko značajna povezanost pozitivnog smera između nivoa oxLDL-a sa vrednostima Δ adiponektin. Istovremeno nije utvrđena značajna povezanost između PIK-a adiponektina nivoa oxLDL-a (Tabela br. 19.).

Tabela br.19. Povezanost promena postprandijalnih vrednosti adiponektina sa nivoom bazalnih vrednosti oxLDL-a kod pacijenata sa T2D

	oxLDL	
	r	p
<i>PIK adiponektina</i>	0,09	NS
<i>Δ adiponektin</i>	0,52	< 0,01

U modelu linearne regresione analize kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, grupe A i B, kada je oxLDL zavisna varijabla i nivoi PIK-a adiponektina i Δ adiponektin su bili nezavisni prediktori nivoa oxLDL-a.

Kada smo u ovaj model linearne regresije uvrstili i ITM značajnost ove povezanosti se održava i ukazuje da ITM nema značajan uticaj na povezanost nivoa PIK-a adiponektina i Δ adiponektina sa nivoom oxLDL-a kod pacijenata sa T2D.

Kada smo u ovaj model linearne regresije uvrstili i obim struka značajnost ove povezanosti se održava i ukazuje da obim struka nema značajan uticaj na povezanost nivoa PIK-a adiponektina i Δ adiponektina sa nivoom oxLDL-a kod pacijenata sa T2D.

4.8.4.3. Analiza uticaja promena postprandijalnih vrednosti adiponektina na nivo ranih markera ateroskleroze kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.

Kod pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih analiziran je istovremeni uticaj nivoa PIK-a adiponektina i Δ adiponektin na nivoe oxLDL-a, NO-a i NOS-a modelom multiple regresione analize. Utvrđeno je da nivo PIK-a adiponektina značajno određuju nivo oxLDL-a i nivo NO-a, dok nivo Δ adiponektin određuje nivoe svih ispitivanih markera ateroskleroze (Tabela br. 20.).

Tabela br.20. Uticaj promena postprandijalnih vrednosti adiponektina na nivo ranih markera ateroskleroze kod pacijenata sa T2D

	<i>oxLDL</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>NO</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>	<i>NOS</i>	<i>ITM</i>	<i>struk</i>
R²	0,453	0,95	0,84	0,33	0,94	0,79	0,10	0,90	0,61
	p	p	p	p	p	p	p	p	p
PIK adiponektina	<0,01	NS	NS	<0,05	NS	NS	NS	NS	NS
Δ adiponektin	<0,01	NS	NS	<0,01	NS	NS	<0,05	NS	NS

Istovremeno kada se u ovaj model kao fiksna varijabla uključi ITM značajnost povezanosti nivoa oxLDL-a, NO-a i NOS-a sa nivoom PIK-a adiponektina i Δ adiponektin nestaje što ukazuje da ITM ima vrlo značajan uticaj na povezanost biohemijskih markera ateroskleroze i postprandijalne promene adiponektina kod pacijenata sa T2D (Tabela br. 20.).

Takođe, kada se u ovaj model kao fiksna varijabla uključi obim struka značajnost povezanosti nivoa oxLDL-a, NO-a i NOS-a sa nivoom PIK-a adiponektina i Δ adiponektin se gubi, što ukazuje da obim struka kao parametar abdominalne gojaznosti, ima vrlo značajan uticaj na povezanost biohemijskih markera ateroskleroze i nivoa postprandijalnih promena adiponektina kod pacijenata sa T2D (Tabela br. 20.).

5. DISKUSIJA

U kliničkim studijama pokazana je povezanost nivoa adipocitokina i razvoja ateroskleroze, odnosno povezanosti adipocitokina i endotelne disfunkcije kao prve manifestacije u razvoju ateroskleroze. Ova povezanost je pokazana i kod gojaznih pacijenata sa T2D kod kojih je ispoljena insulinska rezistencija i visceralna gojaznost (135,136). Oksidovani LDL, NO i NOS su pokazani kao dobri markeri ateroskleroze ali njihova povezanost sa adipocitokinima kao i uticaj gojaznosti na ovu povezanost kod pacijenata sa T2D nisu još uvek dovoljno proučeni.

Rezultati ove doktorske teze su pokazali da su adipocitokini značajno povezani sa markerima endotelne disfunkcije kao ranim markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D a gojaznost ima značajan uticaj na ovu povezanost. Analizirajući povezanost adipocitokina sa klasičnim faktorima rizika za razvoj ateroskleroze pokazali smo da su adipocitokini povezani sa parametrima insulinske rezistencije, lipidskim parametrima, lipoproteinskim frakcijama, parametrima fibrinolize i hronične inflamacije. Gojaznost kod pacijenata sa T2D utiče na nivo adipocitokina. Takođe, u ovoj doktorskoj tezi smo pokazali da su postprandijalne promene vrednosti adiponektina bile povezane sa markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D. Gojaznost ne utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina i ranih markera ateroskleroze. Postprandijalne promene adiponektina su bile značajno povezane sa parametrima insulinske rezistencije i postprandijalnim promenama standardnih lipidskih parametara.

U ovoj doktorskoj tezi smo pokazali da je kod svih ispitivanih pacijenata sa T2D, utvrđena značajna povezanost ITM i parametara opšte gojaznosti FFM, FM, Fat%, kao i značajna povezanost sa obimom struka kao parametra abdominalne gojaznosti (Tabela br.2.) te smo ITM koristili kao parameter gojaznosti u daljoj analizi.

Pokazali smo da je gojaznost značajno uticala na nivo adipocitokina kod pacijenata sa T2D. Postojanje dijabetesa, odnosno samo dijabetesno stanje je bilo povezano sa nižim nivoom adiponektina ali nije imalo uticaja na nivo leptina i rezistina. Prisustvo gojaznosti

kod pacijenata sa T2D je bilo povezano sa daljim promenama nivoa adiponektina, leptina i rezistina.

Najniži nivo adiponektina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najviši kod zdravih ispitanika. Samo prisutvo dijabetesa je uticalo na nivo adiponektina jer je u grupi zdravih, negojaznih ispitanika nivo adiponektina bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D. U obe grupe dijabetičara nivo adiponektina je bio značajno niži nego u grupi zdravih ispitanika. Takođe, prisutvo gojaznosti kod pacijenata sa T2D je uticalo na dalju promenu već sniženog nivo adiponektina. Nivo adiponektina je bio značajno niži u grupi gojaznih pacijenata sa T2D u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D (Grafikon br.3.). Najviši nivo rezistina je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Dijabetes sam po sebi nije uticao na nivo rezistina i leptina jer se nivo rezistina i leptina nije razlikovao kod negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na negojazne zdrave ispitanika. Gojaznost kod pacijenata sa T2D je uticala na nivo rezistina i leptina jer je u grupi gojaznih pacijenata sa T2D bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih T2D (Grafikoni br.4. i br.5.).

U brojnim studijama je pokazano da je nivo adiponektina niži kod gojaznih osoba u poređenju sa osobama normalne telesne težine. Pokazana je negativna korelacija adiponektina sa ITM, procentom masti, odnosom stuka i intrabdominalnim masnim tkivom. Nivo adiponektina raste nakon redukcije telesne težine (23). Rezultati ovih studija se slažu sa našim nalazima, kojima smo pokazali da gojaznost utiče na nivo adiponektina. Takođe, kao što je u našoj studiji nivo adiponektina kod pacijenata sa T2D niži u odnosu na zdrave ispitanike u studijama je pokazano da prisustvo dijabetesa snižava vrednosti adiponektina (28). Takođe, pokazano je da pacijenti sa T2D imaju niži nivo adiponektina u odnosu na nedijabetičare nezavisno od ITM. U saglasnosti sa našim rezultatima u literaturi je pokazano da je adiponektin niži kod gojaznih dijabetičara u odnosu na negojazne pacijente, a ta razlika je izraženija kod žena (29).

U brojnim radovima je pokazana jasna povezanost nivoa leptina i ITM (31) kao što smo i mi utvrdili da gojaznost ima značajan uticaj na nivo leptina. Kod pacijenata sa T2D u

nekim studijama je pokazan povišen nivo leptina a u nekima nije bilo promene u njegovom nivou (34,35). Pokazano je da je nivo leptina korelira sa insulinskom rezistencijom (36,37). U našoj studiji samo postojanje dijabetesa nije menjalo nivo leptina ali je gojaznost kod pacijenata sa T2D imala jak uticaj na nivo leptina.

U humanim studijama povezanost gojaznosti i rezistina je kontradiktorna, u nekim studijama je pokazana povišena vrednost rezistina kod gojaznih osoba (39-41), a u nekim snižen nivo rezistina ili nije utvrđena povezanost rezistina i ITM (42,43). U našoj studiji kod pacijenata sa T2D prisustvo gojaznosti dodatno utiče na povišenje nivoa rezistina. Kako je niska ekspresija rezistina u adipoznom tkivu predpostavljalo se da rezistin nema velikog značaja u insulinskoj rezistenciji i dijabetesu. Međutim, u studijama postoje rezultati koji ukazuju na povezanost rezistina i insulinske rezistencije ali ima i suprotnih nalaza, kao što je i utvrđen različit odgovor na primenu insulinskih senzitaizera. Nivo rezistina je značajno povišen kod pacijenata sa dijabetesom (44,45) u nekim studijama, a kod drugih autora nije utvrđena korelacija između rezistina i dijabetesa (46). U našoj studiji samo prisustvo dijabetesa nije uticalo na nivo rezistina jer smo uvrđili da nije bilo razlike u nivou rezistina između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika.

U cilju proučavanja efekata izmenjenih adipocitokina kod pacijenata sa T2D a pre svega njihovu povezanost sa markerima endotelne disfunkcije, u daljem ispitivanju analizirali smo najpre povezanost adipocitokina sa standardnim faktorima rizika za razvoj ateroskleroze kao što su insulinska rezistencija, parametri hronične inflamacije, lipidni parametri i parametri fibrinolize, kao i uticaj gojaznosti na tu povezanost.

Analizom povezanosti adipocitokina i insulinske rezistencije, pokazali smo da su nivoi adiponektina i rezistina povezani sa parametrima insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, a nivo leptina nije bio povezan sa insulinemijom i HOMA-IR indeksom. Samo prisustvo dijabetesa je uticalo na parametre insulinske rezistencije a gojaznost kod pacijenata sa T2D ih je dodatno pogoršavala. Utvrdili smo da su u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, nivo insulina (Grafikon br. 6.) i vrednosti HOMA-IR (Grafikon br.7.) bile značajno više u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata

sa T2D, a u obe grupe dijabetičara značajno više nego u grupi zdravih ispitanika. Takođe, nivo insulina i HOMA-IR su bile u grupi negojaznih T2D značajno više u poređenju sa grupom zdravih ispitanika. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, utvrdili smo značajnu povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom insulina i sa vrednostima HOMA-IR, dok nije bilo povezanosti parametara insulinske rezistencije i nivoa leptina (Tabela br. 3.). Takođe, utvrdili smo da je gojaznost kod pacijenata sa T2D imala značajan uticaj na povezanost adipocitokina i parametara insulinske rezistencije.

U brojnim studijama je pokazano da su niži nivo adiponektina i povišen nivo ostalih adipocitokina povezani sa povećanim rizikom za razvoj dijabetesa ne samo kroz povećanje insulinske rezistencije nego i kroz direktni efekat na smanjenje sekrecije insulina u beta ćelijama pankreasa (53,54). Studije koje su analizirale povezanost adiponektina i insulinske rezistencije su pokazale da kao i u našoj studiji adiponektin negativno korelira sa insulinemijom i pozitivno korelira sa insulinskom senzitivnošću (58,59). U najvećem broju radova koji su prezentovali nalaze studija in vitro i nalaze kliničkih studija pokazano je da gojaznost ima jak uticaj na povezanost adiponektina i insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D kao što smo i mi pokazali. U nekim studijama nasuprot našim rezultatima povezanost adiponektina i parametara insulinske rezistencije su bili nezavisni od uticaja gojaznosti (28). U studijama preseka pokazano je da i nivo leptina korelira sa insulinskom rezistencijom (62). Povećan nivo leptina kao i leptinska rezistencija u gojaznosti vode povećanju insulinske rezistencije kao i izmenjenoj toleranciji glukoze (63). Međutim, u nekim studijama je pokazano da snižen nivo leptina u T2D rezultira progresijom insulinske rezistencije i izmenjenim metabolizmom glukoze (64). U našoj studiji nismo pokazali značajnu povezanost nivoa leptina i parametara insulinske rezistencije. Povezanost rezistina i insulinske rezistencije je pokazana u nekim studijama (68,69) a u drugim nije pokazana veza između rezistina i IR i insulinemije (42,68). U našoj studiji, kod pacijenata sa T2D smo pokazali vezu između rezistina i IR kao i značajan uticaj gojaznosti na ovu vezu.

Ispitivanjem povezanosti adipocitokina sa lipidnim parametrima, u našoj studiji smo pokazali da je nivo adipocitokina bio povezan sa standardnim lipidnim parametrima,

lipoproteinskim frakcijama kao i sa nivoom oksidovanog LDL-a kod pacijenata sa T2D. Nismo pokazali povezanost nivoa adipocitokina i slobodnih masnih kiselina.

Naši rezultati su pokazali da gojaznost kod pacijenata sa T2D nije uticala na nivoe UH i LDL-a, i ispitavane grupe se nisu razlikovale u njihovom nivou. Nivoi HDL-a i TG su se značajno razlikovali između grupe gojaznih pacijenata sa T2D i grupe negojaznih pacijenata sa T2D (Grafikon br. 8.). Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, utvrdili smo povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom HDL-a i TG-a, a nivoa leptina sa UH i LDL-om (Tabela br.4.). Povezanost nivoa adiponektina i leptina sa holesterolom i njegovim subfrakcijama su bile nezavisne od gojaznosti kod pacijenata sa T2D. Istovremeno, gojaznost je imala uticaja na povezanost nivoa rezistina sa nivoom HDL-a i TG-a. Analizirajući lipoproteinske frakcije kod ispitivanih pacijenata utvrdili smo da gojaznost kod pacijenata sa T2D ima uticaja samo na nivo ApoA1 i da se gojazni pacijenti sa T2D i negojaznih pacijenata sa T2D razlikuju samo u nivou lipoproteinske frakcije ApoA1 (Grafikon br.9. i Grafikon br 10.) Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, utvrdili smo povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom Apo A1, a nivo leptina je bio povezan sa nivoom ApoB (Tabela. br 5.). Takođe, utvrdili smo da na povezanost nivoa rezistina sa lipoproteinskim frakcijama utiče gojaznost, a gojaznost nema uticaja na povezanost adiponektina i leptina sa lipoproteinskim frakcijama (Tabela br. 6).

U studijama je utvrđena pozitivna korelacija adiponektina sa HDL-om i negativna korelacija sa trigliceridima i ITM. Povezanost adiponektina sa HDL-om, trigliceridima i ApoB je pokazana i kod pacijenata sa T2D i kod nedijabetičara (72-75). Pokazano je da kod ispitanika sa normalnom telesnom težinom ali smanjenom insulinskom senzitivnošću postoji jasna korelacija između nivoa adiponektina, insulinske senzitivnosti i nivoa lipida a pre svega triglicerida dok kod ispitanika sa normalnom insulinskom senzitivnošću ta veza nije utvrđena (77). U našoj studiji, u skladu sa rezultatima prethodnih studija, pokazano je da adiponektin i rezistin kod pacijenata sa T2D koreliraju sa vrednostima HDL-a i TG ali leptin ne korelira sa nivoom HDL-a i TG. U nekim studijama je pokazana inverzna povezanost leptina sa trigliceridima (75,77). U malom broju studija sa humanom populacijom je analizirana povezanost nivoa rezistina i lipidnih vrednosti. U nekim

studijama je pokazana negativna korelacija rezistina sa HDL-om i pozitivna korelacija sa LDL-om. Pokazano je da povezanost rezistina i lipidnih parametara kod pacijenata sa T2D ne zavisi od gojaznosti niti od glikoregulacije (79,80). Nasuprot našim rezultatima, u nekim studijama koje su analizirale povezanost leptina i drugih tradicionalnih faktora rizika za kardiovaskularna oboljenja, pokazano je da kod pacijenata sa T2D leptin pozitivno korelira sa nivoom triglicerida, Lp(a), ApoA1, a negativno sa nivoom HDL-a (75,77). U kliničkim studijama je potvrđeno da povezanost adiponektina i lipidskih frakcija ne zavisi od ITM, niti od parametara gojaznosti. I u našoj studiji je pokazano da je povezanost adipocitokina i holesterolskih frakcija nezavisna od gojaznosti. Utvrđena povezanost adiponektina sa lipidnim parametrima, u našoj studiji, ne zavisi niti od insulinemije niti od HOMA-IR indeksa. Ovaj nalaz ukazuje da povezanost adiponektina i lipidskih parametara određuju i drugi mehanizmi sem insulinske rezistencije i gojaznosti (28,79).

Naši rezultati su pokazali da gojaznost kod pacijenata sa T2D nije imala uticaja na nivo SMK. Nije bilo razlike u nivou SMK između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D kao ni između pacijenata sa dijabetesom i zdravih ispitanika (Grafikon br.12). Takođe, kod pacijenata sa T2D, nismo utvrdili povezanosti nivoa SMK i adipocitokina (Tabela br.8.). Za razliku od naših rezultata, rezultati brojnih studija su pokazali da je nivo SMK povišen kod gojaznih osoba i kod pacijenata sa T2D, a utvrđena je i važna patofiziološka uloga SMK (53,168). U nedavno objavljenoj studiji koja je analizirala gojazne pacijente sa T2D i gojazne pacijente sa normalnom glikoregulacijom, pokazano je da gojazni pacijenti sa T2D imaju viši nivo SMK u odnosu na gojazne ispitanike bez dijabetesa (169).

Ispitujući povezanost adipocitokina i parametara fibrinolize kao i efekte gojaznosti na tu povezanost, naši rezultati su pokazali da je nivo adipocitokina bio povezan sa parametrima fibrinolize kod pacijenata sa T2D i da je gojaznost imala značajan uticaj na nju. Kod ispitivanih pacijenata samo prisustvo dijabetesa je uticalo na povišenje nivoa PAI-1, a prisustvo gojaznost kod ovih pacijenata ga je dodatno povećavala. Najviši nivo PAI-1 je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D i je bio značajno viši nego kod negojaznih. Nivo PAI-1 kod negojaznih T2D je bio značajno viši u poređenju sa nivoom PAI-1 kod negojaznih zdravih ispitanika (Grafikon br.13.). Kod pacijenata sa T2D, utvrdili

smo značajnu povezanost nivoa PAI-1 sa nivoima adiponektina, rezistina i leptina kao i da je na ovu povezanost gojaznost značajno uticala (Tabela br. 9). U saglasnosti sa našim rezultatima u literaturi je pokazano da je nivo PAI-1 povišen kod gojaznih osoba (83, 170) a posebno kod onih kod kojih postoji insulinska rezistencija ili je već razvijen T2D. Pokazano je, kao i u našoj studiji da gojazni pacijenti sa T2D imaju tri puta više vrednosti PAI-1 od gojaznih ispitanika bez dijabetesa (171).

Danas je jasno prihvaćeno da se gojaznost, T2D i kardiovaskularna oboljena odlikuju stanjem hronične inflamacije niskog stepena (88,89).

U okviru ove studije pokazali smo da je nivo adipocitokina bio značajno povezan sa parametrima inflamacije kod pacijenta sa T2D. Prisustvo dijabetesa je uticalo na nivo fibrinogena i CRP-a a ali gojaznost kod ovih pacijenata nije dodatno povećavala njihov nivo (Grafikoni br. 14. i br. 15.). Istovremeno, utvrdili smo da prisustvo dijabetesa utiče na povećavanje nivoa TNF- α ali ne i nivoa IL-6. Gojaznost kod pacijenata sa T2D dodatno utiče na nivo TNF-a (Grafikon br. 16.) I IL-6 (Grafikon br.17.). Kod ispitivanih pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost nivoa adiponektina sa nivoom fibrinogena i TNF- α , nivoa leptina sa nivoom CRP-a i IL-6, a nivoa rezistina sa nivoom TNF- α i IL-6 (Tabela br.10.). Pokazali smo da gojaznost značajno utiče na povezanost nivoa adipocitokina i parametara inflamacije.

Nasuprot našim rezultatima, u literaturnim podacima je pokazano da vrednosti CRP jasno koreliraju sa ITM i smanjuju se nakon redukcije telesne težine a te promene su posredovane visokim adiponektinom (103,105). Putz i saradnici su analizirajući adipocitokine i CRP kod gojaznih osoba i pacijenata sa T2D pokazali da je nivo CRP-a značajno povezan sa procentom masti i totalnom masom masnog tkiva (108). Kao i u našoj studiji pokazano je da su kod pacijena sa sa KB i T2D vrednosti CRP-a povišene i da sa adiponektinom negativno koreliraju (104). Kliničke studije kao i studije in vitro pokazale su da CRP utiče na razvoj leptinske rezistencije i da je u korelaciji sa nivoom leptina kao i u našoj studiji (106).

Nekoliko studija pokazale su povezanost TNF- α sa gojaznošću, insulinskom rezistencijom i komponentama metaboličkog sindroma (114,115). U studijama u kojima je analiziran nivo TNF- α kod pacijenata sa dijabetesom ili izmenjenom glukoznom tolerancijom dobijeni su diskrepantni rezultati. U nekim od njih, kao što je pokazano i u našoj studiji, pokazan je povišen nivo TNF- α kod pacijenata sa T2D a kod nekih ne (116,117). IRAS (The Insulin Resistance Atherosclerosis Study) studija je potvrdila da je TNF- α povišen kod T2D i da je ta povezanost nezavisna od gojaznosti (118). U našoj studiji je gojaznost kod pacijenata sa T2D dodatno uticala na povišen nivo TNF- α .

U studijama je pokazan povišen nivo IL-6 kod gojaznih osoba a takođe i kod pacijenata sa T2D (121-123). Neki autori su pokazali povezanost IL-6 i insulinske rezistencije (124). U našoj studiji je pokazano da gojaznost kod pacijenata sa T2D utiče na povišen nivo IL-6. Takođe, publikovani su i rezultati koji nisu pokazali povezanosti IL-6, gojaznosti i insulinske rezistencije (127). Kod gojaznih pacijenata sa T2D se smatra da snižen nivo adiponektina utiče na povećanu sekreciju IL-6 (128).

U daljoj analizi u našoj studiji ispitivali smo povezanost nivoa adipocitokina i ranih markera ateroskleroze. Polazeći od literaturnih podataka, u našoj studiji smo kao rane markere ateroskleroze određivali markere endotelne disfunkcije i analizirali smo nivoe oxLDL-a, NO-a i NOS-a, kao i njihovu povezanost sa adipocitokinima.

U brojnim kliničkim studijama je pokazano da je nivo oxLDL-a povišen kod gojaznih osoba kao i kod ispitanika sa metaboličkim sindromom i insulinskom rezistencijom (172,173). Povišen nivo oxLDL-a je zabeležen i kod pacijenata sa T2D a posebno kod onih sa makrovaskularnim komplikacijama. U tom smislu, oxLDL se izdvojio i kao dobar parametar smanjene edotelne funkcije kod pacijenata sa T2D (145). Takođe, u literaturi je pokazano da su brojni mehanizmi kojim adipocitokini deluju na krvne sudove, a da svoje efekte ostvaruju pre svega utičući na nivo NO-a i NOS-a. Kako se NO u organizmu brzo menja u svoje stabilne oksidovane metabolite, merenjem nivoa ovih produkata u plazmi može se jasno odrediti stanje endotelne funkcije. Pokazano je da se

patofiziološke promene koje se dešavaju na endotelu u procesu ateroskleroze kod pacijenata sa T2D jasno mogu meriti određivanjem nivoa NO-a i NOS-a (146).

Povezanost adipocitokina sa oxLDL-om kao i efekti gojaznosti na nivo oxLDL-a i na povezanost sa adipocitokinima, kod pacijenata sa T2D nisu još uvek razjašnjeni. Kod naših ispitivanih pacijenata sa T2D, kao i u prikazanim studijama, prisustvo dijabetesa je uticao na nivo oxLDL-a a gojaznost je uticala na dalje povišavanje nivo oxLDL-a. Najviši nivo oxLDL-a smo registrovali kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika (Grafikon br.11.). Takođe, kod ispitivanih pacijenata sa T2D utvrdili smo povezanost nivoa oxLDL-a i nivoa adiponektina, leptina i rezistina (Tabela br.7.). Istovremeno, utvrdili smo da gojaznost utiče na povezanost nivoa oxLDL-a sa adipocitokinima. Naši rezultati o značaju gojaznosti na nivo oxLDL kod pacijenata sa T2D su slični rezultatima italijanske studije, skoro publikovane, koja je pokazala da gojaznost i insulinska rezistencija kod pacijenata sa T2D dodatno utiču na oksidativni stres i doprinose povišenju nivoa oxLDL-a (174).

U našem ispitivanju utvrdili smo da je nivo adipocitokina bio značajno povezan i sa nivoima NO-a i NOS-a kao markerima endotelne disfunkcije, kako kod gojaznih tako i kod negojaznih pacijenata sa T2D. Rezultati naše studije su u skladu sa nalazom drugih studija, pokazali smo da samo prisustvo dijabetesa utiče na snižavanje nivoa NO-a i NOS-a a gojaznost kod ovih pacijenata ih dodatno snižava. Najniži nivo NO-a kao i NOS-a je bio kod gojaznih pacijenata sa T2D a najviši kod zdravih ispitanika. Gojazni pacijenti sa T2D su imali niže vrednosti NO-a i NOS-a u poređenju sa normalno uhranjenim pacijentima (Grafikon br. 18.). Kod pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost nivoa NO-a sa nivoom adiponektina, leptina i rezistina, kao i povezanost nivoa NOS-a sa vrednostima leptina i rezistina (Tabela br.12.). Gojaznost utiče na povezanost adiponektina i rezistina sa nivoom NO-a i NOS-a, ali ne utiče na povezanost leptina i markera ateroskleroze.

U našoj studiji smo analizirali i istovremeni uticaj adipocitokina na markere endotelne disfunkcije (Tabela br. 13) i utvrdili smo kod ispitivanih pacijenata sa T2D, da su nivoi leptina i rezistina značajno određivali nivo oxLDL-a, dok su nivoi svih ispitivanih

adipocitokina uticali na nivo NO-a. Istovremeno je na nivo NOS-a uticao samo nivo leptina. Gojaznost je uticala na povezanost adipocitokina i markera endotelne disfunkcije.

U kliničkim studijama, endotelna disfunkcija je pokazana kod gojaznih pacijenata sa insulinskom rezistencijom i visceralnom gojaznošću. Smanjena endotelna funkcija korelira sa stepenom gojaznosti i sa stepenom hipoadiponektinemije (136). Niži nivo adiponektina smanjuje insulinsku senzitivnost, ubrzava vaskularno oštećenje smanjujući NO sintezu i značajno korelira sa vrednostima NOS-a i NO-a (137,138). Pokazano je da gojaznost, insulinska rezistencija i T2D kao i prisustvo endotelne disfunkcije značajno povišavaju nivo oxLDL-a (172,173). Takođe, je pokazano da nivo adiponektina signifikantno i nezavisno od drugih faktora korelira sa KB i parametrima endotelne disfunkcije kod pacijenata sa T2D (139). U skladu sa prikazanim literaturnim podacima i mi smo utvrdili značajnu povezanost nivoa adiponektina sa nivoom oxLDL-a i NO-a. Istovremeno, pokazali smo da gojaznost značajno utiče na povezanost adiponektina i markera endotelne disfunkcije kod pacijenata sa T2D.

Studije koje su analizirale ulogu leptina u razvoju endotelne disfunkcije i ateroskleroze, pokazale su da je nivo leptina povišen kod pacijenata koji imaju dokazane aterosklerotske promene (140). Gojaznost i hiperleptinemija utiču na insulinsku rezistenciju koja deluje na funkciju endotela ali je utvrđeno da leptin ima i direktna dejstva na endotel, delujući na smanjenje produkcije NO-a i smanjenje aktivnost NO sintaze. Pokazana je povezanost nivoa leptina i parametara endotelne disfunkcije (141,142). Leptin ima značajnu ulogu u ranim promenama na endotelu, inicirajući aktivaciju leukocita i makrofaga u zidu krvnog suda (175). Pokazano je da leptin dovodi do povećanog stvaranja slobodnih kiseoničnih radika, koji smanjuju aktivnost NOS-a i snižavaju nivo NO-a dovodeći do endotelne disfunkcije (176). Takođe, leptin povećava ekspresiju PAI-1 i CRP-a u endotelnim ćelijama što doprinosi razvoju kardiovaskularnih komplikacija. Utvrđeno je da je povišeni nivo leptina značajan faktor rizika za KB i moždani udar i da su ti efekti nezavisni od gojaznosti (177). U našem ispitivanju, u skladu sa literaturnim nalazima, utvrdili smo da nivo leptina korelira sa svim ispitivanim parametrima endotelne disfunkcije.

Istovremeno smo pokazali, da su efekti leptina na endotelnu disfunkciju odnosno njegova povezanost sa markerima ateroskleroze nezavisni od gojaznost kod pacijenata sa T2D.

Kako je u studijama pokazano da rezistin povećava proliferaciju endotelnih ćelija i povećava ekspresiju adhezivnih molekula u endotelu pretpostavilo se da i rezistin ima svoju ulogu u razvoju vaskularnih komplikacija. Takođe, utvrđeno je da adiponektin koji ima antiinflamatorne i antiaterogene efekte inhibira efekte rezistina (132). U kliničkim studijama koje su analizirale povezanost nivoa rezistina i endotelne disfunkcije, pokazano je da bi i rezistin mogao da bude marker predikcije za razvoj ateroskleroze (144). Povezanost povišenog nivoa rezistina i kardiovaskularnog rizika je pokazana u opštoj populaciji (178) ali su rezultati kod pacijenata sa T2D kontradiktorni ili su se odnosili na Azijsku populaciju (179). Prošle godine je prvi put publikovana studija koja je na evropskoj populaciji pacijenata sa T2D pokazala da je kod njih nivo rezistina povišen i da predstavlja značajan faktor rizika za kardiovaskularne bolesti (180). U našoj studiji u skladu sa nalazima drugih studija pokazali smo značajnu povezanost nivoa rezistina sa markerima endotelne disfunkcije odnosno sa nivoom oxLDL-a i NO-a. Takođe utvrdili smo da gojaznost značajno određuje ovu povezanost kod ispitivanih pacijenata sa T2D.

U završnom delu našeg ispitivanja, analizirali smo postprandijalne promene adiponektina, nakon standardnog mešovito obroka i njegovu povezanost sa ranim markerima ateroskleroze. Takođe, analizirali smo i povezanost postprandijalnih promena lipidskih parametara i insulina kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D sa postprandijalnim promenama adiponektina.

Prisustvo dijabetesa je uticalo na postprandijalne promene adiponektina, a gojaznost je uticala dodatno na maksimalnu promenu adiponektina (Δ adiponektin, razlika maksimalne postprandijalne vrednosti i bazalne vrednosti adiponektina) nakon obroka ali nije imala uticaja na ukupan nivo postprandijalnih promena adiponektina (PIK za adiponektin). Nivo ukupnog postprandijalnog adiponektina, razlikovao se između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika ali nije bilo značajne razlike između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D (Grafikon. br.19). Vrednosti maksimalne promene adiponektina značajno se razlikovala između negojaznih pacijenata sa T2D i

negojaznih zdravih ispitanika kao i između gojaznih T2D i negojaznih T2D (Grafikon br. 20). U našoj studiji registrovan je porast nivoa adiponektina nakon obroka kod gojaznih pacijenata sa T2D za razliku od nalaza u drugim studijama. Samo su English i saradnici u nekim ranim radovima zabeležili postprandijalni skok adiponektina kod gojaznih osoba (158). Rezultati ove studije nisu potvrđeni u drugim studijama gde je pokazano da nema promena u nivou adiponektina ni kod jako gojaznih ni kod kontrolnih ispitanika. U jednoj studiji analizirani su pacijenti sa T2D i nije bilo razlike u nivou postprandijalnog adiponektina, između gojaznih i negojaznih pacijenata. Takođe je u ovoj studiji pokazano da različiti terapijski modaliteti koji pre svega utiču na insulinsku senzitivnost nisu uticali na postprandijalni odgovor adiponektina (159). Peake i saradnici su u svojoj studiji analizirali 10 morbidno gojaznih i 10 osoba normalne telesne težine i pokazali su da mešoviti obrok nije indukovao signifikantni porast adiponektina (161).

U našem istraživanju, kod ispitivanih pacijenata sa T2D analizirali smo i povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama insulina kao i sa bazalnim vrednostima parametara insulinske rezistencije. Utvrdili smo da su postprandijalne promene adiponektina bile značajno povezane sa parametrima insulinske rezistencije kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D. Kod ispitivanih pacijenata i prisustvo dijabetesa i prisustvo gojaznosti su uticali na postprandijalne promene insulina (Grafikon br.22). Kod pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost vrednosti postprandijalnog adiponektin sa vrednostima HOMA-IR indeksa i vrednostima bazalnog insulina, a nije bilo povezanosti sa postprandijalnim promenama insulina. Kod pacijenata sa T2D nije utvrđena niti povezanost nivoa Δ adiponektina sa postprandijalnim promenama insulina niti sa vrednostima HOMA-IR i bazalnim insulinom. Takođe, pokazali smo da gojaznost nema uticaja na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa vrednostima HOMA-IR indeksa i insulina kod pacijenata sa T2D.

Razlike zabeležene u našim nalazima sa literaturnim podacima mogu da budu uslovljene sastavom obroka jer se u nekim studijama vršila analiza nakon obroka u kome su bili samo ugljeni hidrati ili nakon standardnog obroka a mi smo primenili mešoviti masni obrok (181). Ispitivani postprandijalni period u većini studija je kratak i nedovoljan

da se zabeleže sve razlike posebno nakon masnog obroka kod pacijenata sa T2D koji imaju odloženi odgovor lipida nakon obroka. U takvim okolnostima teško je i zaključiti da li su postprandijalne promene vezane za promene u nivou lipida ili odgovoru insulina, kakav je utičaj gojaznosti. U našoj studiji, kod pacijenata sa T2D gojaznost je uticala na postprandijalni odgovor insulina ali nije utvrđena povezanost promena postprandijalnog insulina i promena postprandijalnog adiponektina što takođe može da objasni paradoksalni odgovor adiponektina kod gojaznih pacijenata sa T2D. U studijama je pokazano da je kod pacijenata sa T2D postprandijalni odgovor adiponektina dominantno povezan sa insulinskom rezistencijom (182) što smo i mi pokazali, ali postprandijalni odgovor adiponektina najčešće prati odgovor insulina. Kod gojaznih osoba pojačana aktivnost beta adrenergičke stimulacije vodi porastu insulinske rezistencije i hiperinsulinemiji. Inicijalno hiperinsulinemija može delimično da utiče na nivo adiponektina suprotno beta adrenergičkoj stimulaciji. Postprandijalno se smanjuje koncentracija epinefrina, a raste turnover epinefrina u masnom tkivu (164). Može se pretpostaviti da smanjenje simpatikusne aktivnosti, pad epinefrina i porast insulina postprandijalno kod gojaznih mogu da dovedu do porasta adiponektina. Ovaj postprandijalni odgovor adiponektina je naglašen kod gojaznih ispitanika i kod pacijenata sa insulinskom rezistencijom.

Rezultati naših istraživanja pokazali su da su postprandijalne promene adiponektina bile povezane sa postprandijalnim promenama standardnih lipidskih parametara kod pacijenata sa T2D, ali nisu bile povezane sa postprandijalnim promenama apolipoproteina i SMK. Gojaznost kod pacijenata sa T2D utiče na postprandijalne vrednosti HDL-a i TG, ali ne i na postprandijalne vrednosti UH i LDL-a (Grafikon br. 23.). Kod pacijenata sa T2D je bila značajna povezanost nivoa postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama HDL-a i TG (Tabela br. 15.) a gojaznost je imala uticaja na ovu povezanost. Nismo utvrdili značajnu povezanost nivoa postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama apolipoproteina kod ispitivanih pacijenata sa T2D. Postprandijalne vrednosti SMK nisu se razlikovale kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D (Grafikon br. 26.) i nisu bile značajno povezane sa postprandijalnim promenama adiponektina.

U studijama koje su analizirale postprandijalne promene lipida kod pacijenata sa metaboličkim sindromom ili sa razvijenim T2D, pokazano je kao i u našoj studiji, da ovi pacijenti imaju dominantno povišene vrednosti postprandijalnih triglicerida. Izmenjen postprandijalni odgovor na unet obrok ispoljen je kod pacijenata sa insulinskom rezistencijom (154,155). Nasuprot našim rezultatim u kojima je pokazana povezanost postprandijalnih vrednosti adiponektina sa postprandijalnim vrednostima TG i HDL-a, u studiji Ciarija i saradnika je pokazano da postprandijalna lipemija nije značajno povezana sa ispitivanim adipocitokinima. U ovoj studiji je pokazano da insulinska rezistencija ima značajan uticaj na nivo adipocitokina, kao i na postprandijalne promene i lipidskih parametara i adipocitokina (156).

Analizirajući povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa ispitivanim ranim markerima ateroskleroze, utvrdili smo njihovu značajnu povezanost kod pacijenata sa T2D. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost između nivoa oxLDL-a, NO-a i NOS-a sa vrednostima maksimalne promene adiponektina postprandijalno. Međutim, nije bilo značajne povezanosti markera endotelne disfunkcije sa ukupnom promenom postprandijalnog adiponektina (Tabele br. 18. i br 19.). Gojaznost nije uticala na povezanost između postprandijalnih promena adiponektina i nivoa oxLDL-a, NO-a i NOS-a. U malom broju studija koje su analizirale povezanost postprandijalnih promena adiponektina i promena u edotelnoj funkciji, pokazano je da masni obrok dovodi do promena i u adiponektinu i do endotelne disfunkcije kao i u našim rezultatima. Takođe, pokazana je značajna povezanost ukupnih postprandijalnih promena adiponektina sa endotelnom disfunkcijom (183). Međutim, u literaturi ima i suprotnih nalaza u kojima endotelna disfunkcija nije korelirala sa postprandijalnim promenama adiponektina (184).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. *Postojanje dijabetesa je bilo povezano sa nivoom adiponektina ali nije uticalo na nivo leptina i rezistina, a gojaznost je značajno uticala nivo adipocitokina kod pacijenata sa T2D.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Najniži nivo adiponektina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najviši kod zdravih ispitanika. U grupi zdravih, negojaznih ispitanika nivo adiponektina je bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D. U obe grupe dijabetičara nivo adiponektina je bio značajno niži nego u grupi zdravih ispitanika. Takođe, nivo adiponektina je bio značajno niži u grupi gojaznih pacijenata sa T2D u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D.
- b. Najviši nivo rezistina je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Nivoa rezistina u grupi negojaznih pacijenata sa T2D nije se razlikovao u odnosu na negojazne zdrave ispitanika. U grupi gojaznih pacijenata sa T2D nivo rezistina je bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih T2D.
- c. Najviši nivo leptina je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Nivo leptina u grupi negojaznih pacijenata sa T2D nije se razlikovao u odnosu na negojazne zdrave ispitanika. U grupi gojaznih pacijenata sa T2D nivo leptina je bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih T2D.

2. *Nivoi adiponektina i rezistina su bili povezani sa parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D i gojaznost je uticala na tu povezanost, dok nivo leptina nije bio povezan sa parametrima insulinske rezistencije.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. U grupi gojaznih pacijenata sa T2D, nivo insulina i vrednosti HOMA-IR su bile značajno više u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D, a u obe grupe dijabetičara nivo insulin i vrednosti HOMA-IR su bile značajno više nego u grupi zdravih ispitanika. Takođe, nivo insulin i HOMA-IR u grupi negojaznih T2D su bile značajno više u poređenju sa grupom negojaznih zdravih ispitanika.
- b. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, utvrđena je značajna povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom insulina i sa vrednostima HOMA-IR, dok nije bilo povezanosti parametara insulinske rezistencije i nivoa leptina. Povezanost nivoa adiponektina sa nivoom insulina kao i sa vrednostima HOMA-IR je bila negativnog smera, a povezanost nivoa rezistina sa nivoom insulin i HOMA-IR je bila pozitivnog smera.
- c. Gojaznost ima značajan uticaj na povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D.

3. *Nivoi adipocitokina su bili povezani sa lipidskim parametrima, lipoproteinskim frakcijama, oksidovanim LDL-om ali ne sa slobodnim masnim kiselinama kod pacijenata sa T2D, a gojaznost utiče samo na povezanost rezistina sa lipidskim parametrima i lipoproteinskim frakcijama.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Najviši nivo UH, LDL-a i TG je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Nivoi HDL-a i TG su se značajno razlikovali između grupe gojaznih pacijenata sa T2D i grupe negojaznih pacijenata sa T2D, dok se ove dve grupe nisu razlikovale u nivou UH i LDL-a.
- b. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, je utvrđena povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom HDL-a i TG- a, a nivoa leptina sa UH i LDL-om.
- c. Povezanost nivoa adiponektina sa nivoom HDL-a i TG-a je nezavisna od gojaznosti. Istovremeno, na povezanost nivoa rezistina sa nivoom HDL-a i TG-a, utiče gojaznost. Takođe, utvrdili smo da je povezanost nivoa leptina sa nivoom UH-a i LDL-a nezavisna od gojaznosti kod pacijenata sa T2D.
- d. Gojazni pacijenti sa T2D i negojaznih pacijenata sa T2D razlikuju se samo u nivou lipoproteinske frakcije ApoA1.
- e. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, utvrđena je povezanost nivoa adiponektina i rezistina sa nivoom Apo A1, a nivoa leptina sa nivoom ApoB.
- f. Na povezanost nivoa rezistina sa lipoproteinskim frakcijama utiče gojaznost, a povezanost adiponektina i leptina sa lipoproteinskim frakcijama je nezavisna od gojaznosti.
- g. Najviši nivo oxLDL-a je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Nivo oxLDL-a se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kao i između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika. U obe grupe dijabetičara nivo oxLDL-a je bio značajno viši nego u grupi zdravih ispitanika.
- h. Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D je utvrđena značajna povezanost nivoa oxLDL-a i nivoa adiponektina, leptina i rezistin. Gojaznost utiče na povezanost nivoa oxLDL-a sa vrednostima adipocitokina.
- i. Najviši nivo slobodnih masnih kiselina je registrovan u gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Nije bilo razlike u nivou SMK između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D kao ni između pacijenata sa dijabetesom i grupe zdravih ispitanika.

- j. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, nije bilo povezanosti nivoa slobodnih masnih kiselina i ispitivanih adipocitokina.
4. *Nivo adipocitokina je bio povezan sa vrednostima PAI-1, parametrom fibrinolize, kod pacijenata sa T2D, a gojaznost utiče na povezanost nivoa adipocitokina i nivoa PAI-1.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Najviši nivo PAI-1 je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. U grupi gojaznih pacijenta sa T2D, nivo PAI-1 je bio značajno viši u poređenju sa grupom negojaznih pacijenata sa T2D, a u obe grupe dijabetičara nivo PAI-1 je bio značajno viši nego u grupi zdravih ispitanika. Takođe, nivo PAI-1 u grupi negojaznih T2D je bio značajno viši u poređenju sa nivoom PAI-1 kod negojaznih zdravih ispitanika.
- b. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, je utvrđena značajna povezanost nivoa PAI-1 sa nivoima adiponektina, rezistina i leptina. Gojaznost utiče na povezanost nivoa adipocitokina i nivoa PAI-1.
5. *Nivo adipocitokina je bio značajno povezan sa parametrima inflamacije kod pacijenata sa T2D, a gojaznost utiče na povezanost adipocitokina i parametara inflamacije kod pacijenata sa T2D.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Nivo fibrinogena nije se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, bila je značajna razlika u nivou fibrinogena kod negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na negojazne zdrave ispitanike.

- b. Nivo hsCRP-a nije se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, bila je razlika u nivou CRP-a kod negojaznih pacijenata sa T2D u odnosu na negojazne zdrave ispitanike.
 - c. Nivo TNF- α se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D. Istovremeno, u nivou TNF- α je bila razlika između grupe negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika.
 - d. Nivoa IL-6 se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, ali nije bilo razlike u nivou IL-6 između grupe negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika.
 - e. Kod ispitivanih pacijenata sa T2D, je utvrđena povezanost nivoa adiponektina sa nivoom fibrinogena i TNF- α , nivoa leptina sa nivoom CRP-a i IL-6, a nivoa rezistina sa nivoom TNF- α i IL-6.
 - f. Gojaznost značajno utiče na povezanost nivoa adipocitokina i parametara inflamacije.
6. *Nivoa adipocitokina je bio značajno povezan sa nivoom NO-a, NOS-a, oxLDL-a, markerima endotelne disfunkcije, kod pacijenata sa T2D a gojaznost utiče na povezanost adipocitokina i ranih markerima ateroskleroze.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Najniži nivo NO-a kao i NOS-a je bio kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najviši kod zdravih ispitanik. Nivo NO-a kao i nivo NOS-a je bio različit između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kao i između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika.
- b. Kod pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost nivoa NO-a sa nivoom adiponektina, leptina i rezistina, kao i povezanost nivoa NOS-a sa vrednostima leptina i rezistina.

- c. Gojaznost utiče na povezanost adiponektina i rezistina sa nivoom NO-a i NOS-a.
 - d. Najviši nivo oxLDL-a je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdravih ispitanika. Nivoa oxLDL-a se razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kao i između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika. U obe grupe dijabetičara nivo oxLDL-a je bio značajno viši nego u grupi zdravih ispitanika.
 - e. Kod ispitivanih gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D je utvrđena značajna povezanost nivoa oxLDL-a i nivoa adiponektina, leptina i rezistina. Gojaznost utiče na povezanost nivoa oxLDL-a sa vrednostima adipocitokina.
 - f. Kod pacijenata sa T2D, gojaznih i negojaznih, utvrđeno je da nivoi leptina i rezistina značajno određuju nivo oxLDL-a, dok nivoi svih ispitivanih adipocitokina utiču na nivo NO-a, istovremeno na nivo NOS-a utiče samo nivo leptina.
 - g. Gojaznost utiče na povezanost adipocitokina i ranih markera ateroskleroze.
7. *Postprandijalne promene adiponektina su bile značajno povezane sa parametrima insulinske rezistencije kod pacijenata sa T2D, a gojaznost ne utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina i parametara insulinske rezistencije.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Nivo postprandijalnog adiponektina predstavljen površinom ispod krive (PIK), nije se značajno razlikovao između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, a razlikovao se između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih ispitanika.

- b. Nivo postprandijalnog insulina predstavljen površinom ispod krive (PIK) je bio različit između gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D, kao i između negojaznih pacijenata sa T2D i negojaznih zdravih kontrola.
 - c. Kod pacijenata sa T2D je utvrđena povezanost vrednosti PIK-a za adiponektin sa vrednostima HOMA-IR i bazalnog insulina, a nije bilo povezanosti sa vrednostima PIK-a za insulin.
 - d. Gojaznost nema uticaja na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa vrednostima HOMA-IR i vrednostima bazalnog insulina kod pacijenata sa T2D.
8. *Postprandijalne promene adiponektina su bile povezane sa postprandijalnim promenama standardnih lipidskih parametara a nisu bile povezane sa postprandijalnim promenama apolipoproteina i slobodnih masnih kiselina kod pacijenata sa T2D i gojaznost utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama HDL-a i TG.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- a. Gojazni i negojazni pacijenata sa T2D se značajno razlikuju po postprandijalnim promenama HDL-a i TG, ali ne i po postprandijalnim vrednostima UH i LDL-a.
- b. Utvrđena je značajna povezanost nivoa postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama HDL-a i TG kod pacijenata sa T2D. Gojaznost ima uticaja na povezanost PIK-a za adiponektin sa PIK-om za HDL i TG.
- c. Gojazni i negojazni pacijenata sa T2D se značajno razlikuju po postprandijalnim vrednostima ApoA1 i ApoA2, ali ne i po postprandijalnim vrednostima ApoB i ApoE.

- d. Nije bilo značajne povezanost nivoa postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama apolipoproteina kod svih pacijenata sa T2D.
 - e. Postprandijalne vrednosti slobodnih masnih kiselina nisu se razlikovale kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa T2D.
 - f. Nije bilo značajne povezanost nivoa postprandijalnih promena adiponektina sa postprandijalnim promenama slobodnih masnih kiselina kod pacijenata sa T2D.
9. *Postprandijalne promene vrednosti adiponektina su bile povezane sa markerima endotelne disfunkcije kod pacijenata sa T2D a gojaznost ne utiče na povezanost postprandijalnih promena adiponektina sa ranim markerima ateroskleroze.*

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatim:

- a. Kod svih pacijenata sa T2D je bila povezanost između nivoa NO-a i NOS-a sa vrednostima maksimalne postprandijalne promene adiponektina. Međutim, nije bilo značajne povezanosti nivoa NO-a i NOS-a sa PIK-om adiponektina.
- b. Gojaznost ne utiče na povezanost između postprandijalnih promena adiponektina i nivoa NO-a i NOS-a.
- c. Kod svih pacijenata sa T2D je bila povezanost između nivoa oxLDL-a sa vrednostima maksimalne postprandijalne promene adiponektina. Međutim, nije bilo značajne povezanosti nivoa oxLDL-a sa PIK-om adiponektina.
- d. Gojaznost ne utiče na povezanost između postprandijalnih promena adiponektina i nivoa oxLDLa.
- e. Nivo PIK-a adiponektina značajno određuju nivo oxLDL-a i nivo NO-a, dok nivo maksimalne postprandijalne promene adiponektina nivoa svih ispitivanih ranih markera ateroskleroze.

U celini,

kod pacijenata sa T2D adipocitokini su značajno povezani sa ranim markerima ateroskleroze, a gojaznost ima uticaja na ovu povezanost. Istovremeno, adipocitokini su bili povezani sa parametrima insulinske rezistencije, lipidskim parametrima, lipoproteinskim frakcijama, parametrima fibrinolize i inflamacije.

Postprandijalne promene adiponektina su bile značajno povezane sa parametrima insulinske rezistencije i postprandijalnim promenama standardnih lipidskih parametara. Postprandijalne promene adiponektina su bile povezane sa ranim markerima ateroskleroze kod pacijenata sa T2D, a gojaznost ne utiče na ovu povezanost.

7. LITERATURA

1. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11: 85–97, 2011.
2. Taube N, Schlich R, Sell H. Inflammation and metabolic dysfunction: links to cardiovascular diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012. 302:2148–2165.
3. Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J* 29: 2959–2971, 2008.
4. Gualillo O, Gonzalez-Juanatey JR, Lago F. The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med* 17: 275–283, 2007.
5. Lamers D, Famulla S, Wronkowitz N et al.: Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes* 60:1917–1925, 2011.
6. Alvarez-Llamas G, Szalowska E, de Vries MP et al: Characterization of the human visceral adipose tissue secretome. *Mol Cell Proteomics* 6: 589–600, 2007.
7. Karalis KP, Giannogonas P, Kodela E et al: Mechanisms of obesity and related pathology: linking immune responses to metabolic stress. *FEBS J* 276: 5747–5754, 2009.,
8. Wood IS, de Heredia FP, Wang B, Trayhurn P. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. *Proc Nutr Soc* 68: 370–377, 2009.
9. Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al: Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 112: 1821–1830, 2003.
10. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 1023–1033, 2007.
11. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltier AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest* 2007;117:175-84.
12. Canello R, Henegar C, Viguerie N et al: Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery induced weight loss. *Diabetes* 2005; 54:2277-86.
13. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Body mass index, waist circumference, and health risk: evidence in support of current National Institutes of Health guidelines. *Arch Intern Med* 162: 2074–2079, 2002.
14. Lofgren I, Herron K, Zern T et al: Waist circumference is a better predictor than body mass index of coronary heart disease risk in overweight premenopausal women. *J Nutr* 134: 1071–1076, 2004.
15. Schmidt MD, Dwyer T, Magnusson CG, Venn AJ. Predictive associations between alternative measures of childhood adiposity and adult cardio-metabolic health. *Int J Obes (Lond)* 35: 38–45, 2011.
16. Mattu HS, Randeva HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. *Journal of endocrinology*. 2013; 216: 17–36.
17. Ouchi N, Ohishi M, Kihara S, et al. Association of hypoadiponectinemia with impaired vaso reactivity. 2003; *Hypertension* 42:231–234

18. Kadowaki T & Yamauchi T 2005 Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocrine Reviews* 26 439–451.
19. Hajer GR, Van de Graaf T, Olijhoek JK et al: Low plasma levels of adiponectin are associated with low risk for future cardiovascular events in patients with clinical evident vascular disease. *Am Heart J* 2007;154:750e.1-7.
20. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *Journal of Biological Chemistry*. 2003, 278: 2461–2468.
21. Hug C, Wang J, Ahmad NS, et al. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *PNAS*. 2004. 101: 10308–10313.
22. Goldstein BJ and Scalia R: Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab*: 2004;89:2563-68.
23. Ouchi N, Kihara Sh, Funahashi T et al: Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Current Opinion in Lipidology* 2003(14):561-66.
24. Stefan N, Stumvoll M: Adiponectin-its role in metabolism and beyond. *Horm Metab Res*, 2002; 34:469-74.
25. Shetty G.K., Economides P.A., Horton E.S. et al: Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care*. 2004 (27): 2450-57.
26. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2007;18: 313–325.
27. Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clinica Chimica Acta* 2007; 344: 1–12.
28. J.V. Silha, Krsekt M., Skrha J.,: Plasma resistin, leptin and adiponectin levels in non diabetic and diabetic obese subjects. *Diabetes UK, Diabetic Medicine* 2004. 21, 497-501.
29. Hotta K, Funahashi T, Arita Y et al: Plasma concentrations of a novel, adipose-specific proteins, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1595-9.
30. Nonogaki K., Kumano H., Ootsuka Y et al: Clinical Worth of adiponectin levels in obesity and glycemic control of Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes care*. 2003; 26(11): 3198.
31. Brennan AM, Li TY, Kelesidis I et al: Circulating leptin levels are not associated with cardiovascular morbidity and mortality in women with diabetes : prospective cohort study *diabetes: Diabetologia* (2007) 50:1178–1185
32. Ahima RS, Flier JS. 2000. Leptin. *Ann Rev Physiol*, 62:413-37.
33. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. 1996. *N Engl J Med*, 334:292-5.
34. Hajer GD, van Haeften TW, Visseren LJR. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes and vascular diseases. *Eur Heart J* (2008) 29 (24): 2959-2971.
35. Hartge M.M., Unger T., Kontscher U. The endothelium and vascular inflammation in diabetes. *Diab Vasc Res* 2007; 4:84-88.

36. Morton GJ, Gelling RW, Niswender KD et al: Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. *Cell Metab* 2005;2:411-20.
37. German PJ, Wisse BE, Thaler JP et al. Leptin deficiency causes insulin resistance induced by uncontrolled diabetes. *Diabetes*.2010.59:1626-1634.
38. Paco E Bravo, Stephen Morse, David M Borne, Leptin and hypertension in obesity *Vascular Health and Risk Management* 2006;2(2) 163–169
39. Shetty G.K., Economides P.A., Horton E.S. et al: Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes. *Diabetes Care*. 2004 (27): 2450-57
40. Qi Q, Wang J, Li H et al: Associations of resistin with inflammatory and fibrinolytic markers, insulin resistance, and metabolic syndrome in middle-aged and older Chinese. *European Journal of Endocrinology*. 2008; 159 585–593.
41. Vozarova de Courten B, Degawa-Yamauchi M et al.: High serum resistin is associated with an increase in adiposity but not a worsening of insulin resistance in Pima Indians. *Diabetes*. 2004; 53: 1279–1284
42. Azuma K, Katsukawa F, Oguchi S et al.: Correlation between serum resistin level and adiposity in obese individuals. *Obesity* 2003; 11: 997–1001
43. Youn BS, YU KY, Park HJ et al Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89: 150–156.
44. Mc Ternan PG, Fisher FM, Valsamakis G 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. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 88: 6098–6106.
45. Heilbronn LK, Rood J, Janderova L et al.: Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89: 1844–1848.
46. Hasegawa G, Ohta M, Ichida Y et al: Increased serum resistin levels in patient with type 2 diabetes are not linked with markers of insulin resistance and adiposity. *Acta Diabetol*,2005.(42):104-109.
47. McPherson R, Jones PH: The metabolic syndrome and type 2 diabetes: role of the adipocyte. *Current Opinion in Lipidology* 2003;14:549-553.
48. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S et al: Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes close association with insulin resistance and hyperinsulinemia . *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 1930-35.
49. Ruan H, Hacohen N, Golub TR, Van Parijs L, Lodish HF. Tumor necrosis factor α suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes:Nuclear factor κ B activation byTNF- α is obligatory. *Diabetes* 2002;51:1319–1336.

50. Filippi E, Sentinelli F, Romeo S et al: The adiponectin gene SNP \uparrow 276G. The associates with early-onset coronary artery disease and with lower levels of adiponectin in younger coronary artery disease patients (age \leq 50 years). *J Mol Med* 2005;83:711–719.
51. Vasseur F, Helbecque N, Dina C et al.: Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet* 2002;11:2607–2614.
52. Xu A, Wang Y, Keshaw H et al.: The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003;112:91–100.
53. Morioka T, Asilmaz E, Hu J et al.: Disruption of leptin receptor expression in the pancreas directly affects beta cell growth and function in mice. *J Clin Invest* 2007;117:2860–2868.
54. Rakatzi I, Mueller H, Ritzeler O et al.: Adiponectin counteracts cytokine- and fatty acid-induced apoptosis in the pancreatic beta-cell line INS-1. *Diabetologia* 2004;47:249–258.
55. Zhao YF, Feng DD, Chen C. Contribution of adipocyte-derived factors to beta cell dysfunction in diabetes. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:804–819.
56. Nolan CJ, Madiraju MS, Delghingaro-Augusto V et al.: Fatty acid signaling in the beta-cell and insulin secretion. *Diabetes* 2006;55(Suppl. 2):S16–S23.
57. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon W, Strynadka K, Ju Q, Edelstein D, Brownlee M, Korbitt GS, Rajotte RV. Transfection of human pancreatic islets with an antiapoptotic gene (bcl-2) protects beta-cells from cytokine-induced destruction. *Diabetes* 1999;48:1223–1229
58. Tschritter O, Fritsche A, Thamer C et al: Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes*, 2003, Vol 52: 239-243.
59. Plasma levels of adiponectin are associated with insulin resistance and serum levels of triglyceride in Japanese metabolically obese, normal weight men with normal glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2003;26(10):2964-65.
60. Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al: The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat med* 2001; 7: 941-6.
61. Schulze M.B, Rimm E.B., Shai I et al: Relationship between adiponectin and glycemic control, blood lipids and inflammatory markers in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*; 2004(27):1680-87.
62. Morton GJ, Gelling RW, Niswender KD et al: Leptin regulates insulin sensitivity via phosphatidylinositol-3-OH kinase signaling in mediobasal hypothalamic neurons. *Cell Metab* 2005;2:411-20.
63. German PJ, Wisse BE, Thaler JP et al. Leptin deficiency causes insulin resistance induced by uncontrolled diabetes. *Diabetes*. 2010.59:1626-1634.
64. Wannamethee SG, Tchernova J, Whincup P, et al: Plasma leptin: associations with metabolic, inflammatory and haemostatic risk factors for cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2007; 191: 418-426.
65. Reilly MP, Iqbal N, Schutta M, et al Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 3872-3878.

66. Asakawa H, Tokunaga K and Kawakami F: Relationship of leptin level with metabolic disorders and hypertension in Japanese type 2 diabetes mellitus patients. *J Diabetes Complications*. 2001, 15: 57-62.
67. Thorand B, Zierer A, Baumert J et al: Associations between leptin and the leptin/adiponectin ratio and incident type 2 diabetes in middle-aged men and women: results from the MONICA/KORA Augsburg study 1984-2002. *Diabet Med* 27: 1004-1011, 2010.
68. Youn BS, YU KY, Park HJ et al Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89: 150–156.
69. Mc Ternan PG, Fisher FM, Valsamakis G 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. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 88: 6098–6106.
70. Gualillo O, González-Juanatey JR and Lago F: The emerging role of adipokines as mediators of cardiovascular function: physiologic and clinical perspectives. *Trends Cardiovasc Med* 17: 275-283, 2007.
71. Li S, Shin HJ, Ding EL and van Dam RM: Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 302: 179-188, 2009.
72. Lautamäki R, Rönnemaa T, Huupponen R, Lehtimäki T, Iozzo P, Airaksinen KE, Knuuti J and Nuutila P: Low serum adiponectin is associated with high circulating oxidized low-density lipoprotein in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Metabolism* 56: 881-886, 2007.
73. Jaleel F, Jaleel A, Aftab J and Rahman MA: Relationship between adiponectin, glycemic control and blood lipids in diabetic type 2 postmenopausal women with and without complication of ischemic heart disease. *Clin Chim Acta* 370: 76-81, 2006.
74. Vergès B, Petit JM, Duvillard L, Dautin G, Florentin E, Galland F and Gambert P: Adiponectin is an important determinant of apoA-I catabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26: 1364-1369, 2006.
75. Uslu S, Kebapci N, Kara M, Bal C. Relationship between adipocytokines and cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus. *Experimental and Therapeutical medicine*. 2012; 4: 113-120
76. Lautamäki R, Rönnemaa T, Huupponen R et al: Low serum adiponectin is associated with high circulating oxidized low-density lipoprotein in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Metabolism*. 2007; 56: 881-886.
77. Maenhaut N and van de Voorde J: Regulation of vascular tone by adipocytes. *BMC Med* 16: 9-25, 2011.
78. Theodore W.K., Watts G.F, Fravid M: Adipocytokines and VLDL metabolism. Independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics. *Diabetes* 54, 2005, 795-802.

79. Lau CH and Muniandy S: Novel adiponectin-resistin (AR) and insulin resistance (IRAR) indexes are useful integrated diagnostic biomarkers for insulin resistance, type 2 diabetes and metabolic syndrome: a case control study. *Cardiovasc Diabetol.*2011; 10: 8.
80. Al-Daghri N, Chetty R, McTernan PG et al: Serum resistin is associated with C-reactive protein and LDL cholesterol in type 2 diabetes and coronary artery disease in a Saudi population. *Cardiovasc Diabetol* 4: 1-6, 2005.oto Y,Kihara S, Ouchi N et al: adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Circulation* 2002; 106:2767-70.
81. Skurk T and Hauner H: Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. *Int J Obes Relat Metab Disord.*2004; 28: 1357-1364.
82. Zhao R, Ma X and Shen GX: Transcriptional regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in vascular endothelial cells induced by oxidized very low density lipoproteins. *Mol Cell Biochem.*2008; 317: 197-204.
83. Ho CH and Jap TS: Relationship of plasminogen activator inhibitor-1 with plasma insulin, glucose, triglyceride and cholesterol in Chinese patients with diabetes. *Thromb Res.*1993; 69: 271-277.
84. Festa A, Williams K, Tracy RP et al: Progression of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrinogen levels in relation to incident type 2 diabetes. *Circulation.*2006; 113: 1753-1759.
85. Madan R, Gupt B, Saluja S, Kansra UC, Tripathi BK and Guliani BP: Coagulation profile in diabetes and its association with diabetic microvascular complications. *J Assoc Physicians India.*2010; 58: 481-484.
86. Trost S, Pratley R and Sobel B: Impaired fibrinolysis and risk for cardiovascular disease in the metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Curr Diab Rep.*2006; 6: 47-54.
87. Grant PJ: Diabetes mellitus as a prothrombotic condition. *J Intern Med.*2007; 262: 157-172.
88. Hotamisligil GS. Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. *Diabetes.* 2005;54(Suppl 2):S73-8.
89. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006;116:1793-801.
90. Weisberg SP, McCann D, Desai M et al: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112:1796-808.
91. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res.* 2005;46:2347-55.
92. West M. Dead adipocytes and metabolic dysfunction: recent progress. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16:178-82.
93. Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Tromb.*2010;17:332-341.
94. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Applied Physiol* 2005;98:1154-62.

95. Wang B, Wood IS, Trayhurn P. Hypoxia induces leptin gene expression and secretion in human preadipocytes: differential effects of hypoxia on adipokine expression by preadipocytes. *J endocrinol* 2008;198:127–34.
96. Wood IS, De Heredia FP, Wang B, Trayhurn P. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity. *Proc Nutr Soc* 2009;68:370–7.
97. Peppas M, Stavroulakis P, Raptis SA. Advanced glycoxidation products and impaired diabetic wound healing. *Wound Repair Regen* 2009;17:461–72.
98. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem* 2009;55:229–38.
99. Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, et al.: Inflammatory process in type 2 diabetes: the role of cytokines. *Ann NY Acad Sci* 2006;1084:89–117.
100. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165–8.
101. Pasceri V, Chang J, Willerson JT, Yeh ETH. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001;103:2531–4.
102. Pannacciulli N, Cantatore FP, Minenna A et al. C-reactive protein is independently associated with total body fat, central fat, and insulin resistance in adult women. *Int J Obesity* 2001;25:1416–20.
103. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *New Engl J Med* 2008;359:2195–207.
104. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107:671–4.
105. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Chrysohoou C, Skoumas E, Stefanadis C. Five-year incidence of cardiovascular disease and its predictors in Greece: the ATTICA study. *Vasc Med* 2008;13:113–21.
106. Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, et al. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. *Nat Med* 2006;12:425–32.
107. Saiso Y., Hirose H., Yamamoto Y et al.: Combination of C reactive Protein and High Molecular Weight (HMW)-adiponectin reflects further metabolic abnormalities compared with each of them alone in Japanese type 2 diabetic subjects. *Endocrin Journal*; 2008(55):331-338.
108. Putz DM, Goldner WS, Bar RS et al: Adiponectin and C reactive protein in obesity, type 2 diabetes and monodrug therapy. *Metabolism*; 2004 (53): 1454-1461.
109. Murphy K, Travers P, Walport M. *Janeway's immunobiology*. 7th ed. New York: Garland Science; 2008.
110. 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.

111. Wang B, Trayhurn P. Acute and prolonged effects of TNF- α on the expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture. *Pflugers Arch* 2006;452:418–27.
112. Murray DR, Freeman GL. Proinflammatory cytokines. Predictors of a failing heart? *Circulation* 2003;107:1460–2.
113. Qin B, Anderson RA, Adeli K. Tumor necrosis factor- α directly stimulates the overproduction of hepatic apolipoprotein B100-containing VLDL via impairment of hepatic insulin signaling. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;294:G1120–9.
114. Plomgaard P, Nielsen AR, Fischer CP et al: Associations between insulin resistance and TNF- α in plasma, skeletal muscle and adipose tissue in humans with and without type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2007, 50:2562–2571.
115. de Rekeneire N, Peila R, Ding J et al: Diabetes, hyperglycemia, and inflammation in older individuals: the health, aging and body composition study. *Diabetes Care*.2006; 29:1902–1908
116. Zinman B, Hanley AJ, Harris SB et al: Circulating tumor necrosis factor- α concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*.1999. 84:272–278
117. Miyazaki Y, Pipek R, Mandarino LJ, DeFronzo RA Tumor necrosis factor α and insulin resistance in obese type 2 diabetic patients. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003. 27:88–94.
118. Olson C.N., Callas W.P., Hanley A.J.G. et al. Circulating levels of TNF are associated with impaired glucose tolerance, increased insulin resistance, and ethnicity: the insulin resistance atherosclerosis study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012, 97(3),1032–1040
119. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005;115:1111–9.
120. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*2006;444:860–7.
121. Sola E, Jover A, López-Ruiz A et al: Parameters of Inflammation in Morbid Obesity: Lack of Effect of Moderate Weight Loss. *Obes Surg* (2009) 19:571–576.
122. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3338–42.
123. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002;105:804–9.
124. Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med* 2008;14:222–31.
125. Carley A.L., Bruce C.R., Sacchetti M. et al. Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α are not increased in patients with type 2 diabetes: evidence that plasma interleukin-6 is related to fat mass not insulin responsiveness. *Diabetologia* 2004, 47, 1029-1037.
126. Cartier, A.; Lemieux, Almeras, N. et al.: Visceral obesity and plasma glucose-insulin homeostasis: contributions of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2008, 93, 1931-1938.

127. Skalicky J, Muzakova V, Kandar R, et al. Evaluation of oxidative stress and inflammation in obese adults with metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:499–505.
128. Schober F, Neumeier M, Weigert J et al: Low molecular weight adiponectin negatively correlates with the waist circumference and monocytic IL-6 release. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 361 (2007) 968–973.
129. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M et al: An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res* 2000;32:47-50.
130. Goldstein BJ and Scalia R: Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab*:2004;89:2563-68.
131. Motoshima H., Wu X., Mahadev K, Golsdein B: Adiponectine suppresses proliferation and superoxide generation and enhances eNOS and endothelial cells treated with oxidized LDL. *Biochemical and Biophysical research communication*.2004(315).264-71.
132. Tan KCB., Xu A, Chow WS et al: Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation: *J Clin Endocrinol Metab* 2004(89): 765-69.
133. Tschritter O, Fritsche A, Thamer C et al: Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes*, 2003, Vol 52: 239-243.
134. Fernandez-Real JM, Castro A, Vazquez G et al: Adiponectin is associated with vascular function independent of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2004(27). 739-45.
135. Shimabuko M, Higa N, Asahi T et al: Hypoadiponectinemia is closely linked to endothelial dysfunction in man. *J Clin Endocrinol Metab*; 2003(88): 3236-40.
136. Comuzzie AG, Funahashi T, Sonnenberg G et al: The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 :4321-5.
137. Chen H, Montagnani M, Funahashi T et al: Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2003; 278:45021-6.
138. Jansson PA, Pellme F, Hammarstedt A et al: A novel cellular marker of insulin resistance and early atherosclerosis in humans is related to impaired fat cell differentiation and low adiponectin. *FASEB J* 2003; 17: 1434-40.
139. Kumada M, Kihara S, Sumitjusi S et al: association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:85-9.
140. Johnson S J, Corral RA, Jimenez LF et al: Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population: . *Am J Cardiol* 2007;100: 234–239..
141. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ et al: Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation*.2001: 104: 3052–3056.
142. Wolk R, Berger P, Lennon RJ, Brilakis ES et al: Plasma leptin and prognosis in patients with established coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*,2004: 44: 1819–1824.
143. Taube A, Schlich R, Sell Het al: Inflammation and metabolic dysfunction: links to cardiovascular diseases *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.2012. 302: 148-165.
144. Reilly M.P., Lehrke M., Wolfe M.L et al: Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005, 111: 932–939.

145. Tousoulis D, Papageorgiou N, Androulakis E et al: Diabetes mellitus-associated vascular impairment: novel circulating biomarkers and therapeutic approaches. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Aug 20;62(8):667-76.
146. Ayub SG, Ayub T, Khan ST et al: Reduced nitrate level in individuals with hypertension and diabetes. *Journal of Cardiovascular Disease Research* Vol. 2 / No 3:172-176.
147. Zilversmit DB. Athereogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*.1979;60(3):473-85.
148. Kim HS, Abbasi F, Lamndola C et al: Effect of insulin resitance on postprandial elevations of remnant lipoprotein concentrations in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(5):592-95.
149. Kolovou GD., Anagnostopoulou KK, Dasklaopoulou SS et al. Clicnical relevance of postprandial lipaemia.*Curr Med Chem*2005;12(17):1931-1945.
150. Bansal S, Buring J, Rifai et al: Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women.*JAMA* 2007;298(3):309-316
151. Nordestagaard B.G., Benn M., Schnohr P et al: Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction,ishemic heart disease and death in men and women:*JAMA*.2007;298(3):299-308.
152. Chen YD,Swami S, Skowrovski R et al: Differences in postprandial lipemia between patients with normal glucose tolerance and non-insulin-dpendent diabetes mellitus.*J Clin Endocrinol Metab*.1993;76(1):172-77.
153. Malmstrom R, Packard CJ, Caslake M e al: Defective regulation of triglyceride metabolism by insulin in the liver in NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40(4):454-462.
154. Boquist S, Ruotolo G, Tang R et al: Alimentarylipemia, postprandial trygliceride-rich lipoproteins and common carotid intima-media tickness in healthy, middle-age men. *Circulation* 1999;100(7):723-28.
155. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pavlidis N et al: Postprandial lipemia in men with metabolic syndrome, hypertensives and healthy subjects.*Lipids health Dis*. 2005; 4:21.
156. Ciardi C, Tatarczyk T, Tschoner A et al: Effect of postprandial lipemia on plasma concentrations of A-FABP, RBP-4 and visfatin. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010 Nov;20(9):662-8.
157. Annuzzia G, Bozzetto L, Pattia L et al: Type 2 diabetes mellitus is characterized by reduced postprandial adiponectin response: a possible link with diabetic postprandial dyslipidemia. *Metabolism Clinical and Experimental* 59 (2010) 567–574.
158. English PJ, Coughlin SR, Hazden K et al: Plasma adiponect increases postprandially in obese, but not in lean subjects: *Obes Res*2003. 11:839-44.
159. Karlsson FA, Engstrom BE, Lind L, Ohrvall M: No postprandial increase of plasma adiponectin in obese subjects. *Obesity Research* 2004: 12(6): 1073.
160. English PJ, Coughlin SR, Hayden K. Response: postprandial adiponectin revisited. *Obes Res* 2004;12:1032-4.
161. Peake PW, Kriketos AD, Denyer GS et al: The postprandial response od adiponectin to a high-fat meal in normla and insulin –resistnat subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*.2003; 27:657-62.

162. Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML et al: Secretion of adiponectin and regulation of apM Gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 288: 1102-7.
163. Fasshauer M., Klein J, Neumann S et al: Adiponectin gene expression is inhibited by beta adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett.* 2001; 507:142-6.
164. Patel J, Coppack SW, Rawesh A. Regional and total body changes in sympathoadrenal activity in response to eating. In *J Obes Relat Metab Disord.*2000. 24 (Suppl 2): S:156-7.
165. World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia: *Report of a WHO/IDF Consultation.* Geneva, World Health Org., 2006.
166. Nacionalni Komitet za izradu kliničkih vodiča dobre kliničke prakse. Grupa za dijabetes (Lalic N.M. i saradnici): *Nacionalni vodič dobre kliničke prakse Diabetes mellitus,* Beograd, 2012.
167. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski, A.S. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985,13,412–419.
168. Rachek LI. Free fatty acids and skeletal muscle insulin resistance. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2014;121:267-92.
169. van Beek L, Lips MA, Visser A et al: Increased systemic and adipose tissue inflammation differentiates obese women with T2DM from obese women with normal glucose tolerance. *Metabolism.* 2013 doi: 10.1016/j.metabol.
170. Samad F, Ruf W. Inflammation, obesity, and thrombosis. *Blood.* 2013 Nov 14;122(20):3415-22.
171. Schneider DJ, Sobel BE. PAI-1 and diabetes: a journey from the bench to the bedside. *Diabetes Care.* 2012 Oct;35(10):1961-7.
172. Colas R, Sassolas A, Guichardant M et al: LDL from obese patients with the metabolic syndrome show increased lipid peroxidation and activate platelets. *Diabetologia.* 2011 Nov;54(11):2931-40.
173. Holvoet P. Relations between metabolic syndrome, oxidative stress and inflammation and cardiovascular disease. *Verh K Acad Geneesk Belg.* 2008;70(3):193-219.
174. D'Archivio M, Annuzzi G, Vari R et al: Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. *Eur J Clin Invest.* 2012 Jan;42(1):70-8.
175. Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL et al: Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein 1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *Journal of Biological Chemistry* 2001. 276: 25096-25100.
176. Hare JM, Stamler JS. NO redox disequilibrium in the failing heart and cardiovascular system. *Journal of clinical investigation.*2005. 115: 509-517.
177. Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Lopez-Jimenez F et al: Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population. *American Journal of Cardiology.*2007. 100:234–239.

178. Lubos E, Messow CM, Schnabel R et al. Resistin, acute coronary syndrome and prognosis results from the AtheroGene study. *Atherosclerosis*.2007. 193: 121–128.
179. Lim S, Koo BK, Cho SW et al. Association of adiponectin and resistin with cardiovascular events in Korean patients with type 2 diabetes: the Korean atherosclerosis study (KAS):a 42 months prospective study. *Atherosclerosis*.2008.196:398-404.
180. Menzaghi C, Bacci S, Salvemini L et al. Serum Resistin, Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS ONE*.2013. 8(6):1-9.
181. Esposito K., Nappo F., Giugliano F. et al. Meal modulation of circulating interleukin 18 and adiponectin concentrations in healthy subjects and in the patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2003;78:1135-40.
182. Annuzzi G, De Natale C, Iovine C, et al. Insulin resistance is independently associated with postprandial alterations of triglyceriderich lipoproteins in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:2397-402.
183. Stirban A, Negrean M, Götting C. et al: Dietary advanced glycation endproducts and oxidative stress: in vivo effects on endothelial function and adipokines. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Apr;1126:276-9
184. Shimabukuro M, Chinen I, Higa N et al: Effects of dietary composition on postprandial endothelial function and adiponectin concentrations in healthy humans: a crossover controlled study. *Am J Clin Nutr*. 2007 Oct;86(4):923-8

Mr sci dr Nataša Rajković

BIOGRAFIJA

Rođena je 27. oktobra 1969. godine u Zaječaru.

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je školske 1988/89. godine, a diplomirala 07. juna 1994. godine, sa prosečnom ocenom 9,52.

U toku obaveznog lekarskog staža započela je volonterski rad u Institutu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije.

U periodu od 1994. do 1998. godine bila je stipendista Ministarstva za nauku Republike Srbije i bila angažovana na projektu «*Funkcionalna izučavanja inkapsuliranih ostrvaca endokrinog pankreasa*». Kasnije je bila angažovana kao istraživač u nekoliko projekata Ministarstva.

Specijalistički ispit iz Interne medicine položila je januara 2000. godine sa odličnim uspehom.

Od avgusta 2000. godine je u stalnom radnom odnosu, kao lekar specijalista u Centru za lipidske poremećaje i vaskularne komplikacije u dijabetesu, Klinike za endokrinologiju. Sertifikovana je za primenu LDL afereze u terapiji familijarnih hiperholesterolemija metodom H.E.L.P. u Frankfurtu, 2004, a metodom DALI u Drezdenu, 2006.

Magistarski rad iz oblasti endokrinologije sa temom "*Ispitivanje promena cistoloških i histoloških osobina humanih fetalnih ostrvaca u toku izolacije i purifikacije u pretransplantacionoj pripremi*" odbranila je juna 2002. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu.

Rad iz uže specijalizije iz endokrinologije sa temom "*Ispitivanje lipidskih parametara i aterogenih indeksa kao pokazatelja prisustva oksidovanog LDL-a kod pacijenata sa tipom 2 dijabetes*" odbranila je novembra 2005. godine

Do sada je autor ili koautor u 330 publikovana rada (prvi autor u 27 radova) objavljenih kao poglavlja u monografijama nacionalnog značaja (6), radovi u celini u međunarodnim časopisima (10), radovi u celini u domaćim časopisima (3) radovi izlagani na međunarodnim (220) i domaćim (99) naučnim skupovima objavljeni u izvodu.

Član je Endokrinološke sekcije Srpskog lekarskog društva, Mediteranske grupe za studiju dijabetesa (MGSD), Evropske asocijacije za studije u dijabetesu (EASD,) Evropske istraživačke grupe za ispitivanje insulinske rezistencije (EGIR), kao i Udruženja profesionalnih kliničkih istraživača (ACRP). Pohađala je više poslediplomskih kurseve MGSD i EASD.

Govori engleski jezik.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а НАТАША РАЈКОВИЋ

број уписа _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ АДИПОЦИТОКИНА, РОЈАЗНОСТИ
И РАНИХ МАРКЕРА АТЕРОСКЛЕРОЗЕ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА
ТИПОМ 2 ДИЈАБЕТЕСА

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 18. 10. 2013.

Наташа Рајковић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора НАТАША РАЈКОВИЋ

Број уписа _____

Студијски програм ДОКТОРСКЕ СТУДИЈЕ - МЕДИЦИНА

Наслов рада АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ АДИПОЦИТОКИНА, РОЗАЗНОСТИ
И РАНИХ МАРКЕРА АТЕРОСКЛЕРОЗЕ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА
ТИПОМ 2Д УРАБЕТЕСА

Ментор ПРОФ. ДР МИРОСЛАВА ЗАМАКЛАД

Потписани НАТАША РАЈКОВИЋ

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 18. 10. 2013

Наташа Рајковић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ АДИПОЦИТОКИНА, ПОЈАВНОСТИ
И РАНИХ МАРКЕРА АТЕРОСКЛЕРОСЕ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПОМ 2

која је моје ауторско дело.

ДУШАБЕТЕСА

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 18. 10. 2013

Наташа Рајић

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.