

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Љиљана З. Лукић

**АНАЛИЗА МЕТАБОЛИЧКИХ
ДЕТЕРМИНАНТИ НАСТАНКА
АРТЕРИЈСКЕ ХИПЕРТЕНЗИЈЕ КОД
ГОЈАЗНИХ ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПОМ 2
ДИЈАБЕТЕСА**

докторска дисертација

Београд, 2014

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Ljiljana Z. Lukić

**ANALIZA METABOLIČKIH DETERMINANTI
NASTANKA ARTERIJSKE HIPERTENZIJE
KOD
GOJAZNIH PACIJENATA SA TIPOM 2
DIJABETESA**

doktorska disertacija

Beograd, 2014

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Ljiljana Z.Lukić

**ANALYSIS OF METABOLIC DETERMINANTS
OF ARTERIAL HYPERTENSION IN
OVERWEIGHT TYPE 2 DIABETIC PATIENTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014

Mentor: Akademik Nebojša M. Lalić

Profesor interne medicine, Dekan Medicinskog Fakulteta, Univerziteta u Beogradu

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog Centra Srbije

Komisija:

Prof dr Aleksandra Jotić, Dr Sci med

Profesor interne medicine Medicinskog Fakulteta, Univerziteta u Beogradu

Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog Centra Srbije

Prof dr Dragan Simić, Dr Sci med

Profesor interne medicine Medicinskog Fakulteta, Univerziteta u Beogradu

Klinika za kardiologiju, Kliničkog Centra Srbije

Prof dr Miroslava Zamaklar, Dr Sci Med

Profesor Medicinskog Fakulteta Univerziteta u Beogradu, u penziji

Odbrana:

Zahvaljujem se svima koji su mi pomogli u izradi ove doktorske disertacije.

Moj mentor, Akademik Nebojša M. Lalić, kome dugujem najveću zahvalnost, je svojim znanjem i iskustvom rukovodio u planiranju istraživanja i tumačenju rezultata, usmeravao je moj celokupan klinički i naučnoistraživački rad od prvih dana na Klinici do izrade ove doktorske disertacije, a njegova ljudska toplina i ohrabrenje u pravim trenucima su uvek pouzdan oslonac i neiscrpan podsticaj.

Prof dr Aleksandra Jotić mi je pomogla svojim znanjem i iskustvom uz prave sugestije u intepretaciji urađenog i stvaranjem uslova za svakodnevni klinički i naučno-istraživački rad.

Asistent dr Nataša Rajković je učestvovala u svakoj fazi izrade ovog rada, njena prijateljska podrška ne dozvoljava mi da se zadovoljim osrednjim, a kritika me štiti od neuspeha.

Prof dr Miroslavi Zamaklar koja je usmeravala moj klinički rad od samih početaka i sa roditeljskom radošću pratila svaki moj uspeh.

Dugujem posebnu zahvalnost kolegama i medicinskim sestrama za razumevanje kojim sam bila okružena na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizam, što je bilo veliki podsticaj tokom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se predusretljivosti saradnika iz RIA laboratorije Klinike i prof dr Nadi Majkić-Singh sa Instituta za medicinsku biohemiju koji su bili spremni da se uhvate u koštac sa novim izazovima.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici, roditeljima i sestri na neiscrpanoj podršci, oni su moja večna snaga.

Analiza metaboličkih determinanti nastanka arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

REZIME

Arterijska hipertenzija (AH) je dva puta češća kod pacijenta sa tipom 2 dijabetesa (T2D), dok se prisustvo insulinske rezistencije smatra jednim od mogućih metaboličkih poremećaja koji povezuje ova dva klinička stanja. Ostali faktori rizika kao što su visceralna i ukupna gojaznost, hiperinsulinemija, hronična inflamacija, hiperglikemija, dislipidemija, pušenje i godine starosti, takođe doprinose pojavi AH kod pacijenata sa T2D.

Polazeći od saznanja da je sniženi nivo insulinske senzitivnosti značajan faktor rizika za nastanak AH, ali da detaljni mehanizmi kojima poremećena insulinska senzitivnost ostvaruje svoj uticaj u T2D nisu razjašnjeni, u ovoj doktorskoj tezi je postavljen cilj da se ispita povezanost prisustva AH sa stepenom insulinske rezistencije, izmenjenim metabolizmom lipoproteina, poremećajem nivoa adipocitokina, pro-inflamatornih markera, izmenjenim antioksidatnim statusom i markera endotelne disfunkcije kod gojaznih pacijenata sa T2D. Na osnovu definisanog cilja, postavljeni su sledeći istraživački zadaci: (1) utvrditi povezanost insulinske rezistencije i AH kod pacijenata sa T2D; (2) ispitati odnos insulinske rezistencije, stepena ukupne i visceralne gojaznosti i prisustva AH kod pacijenata sa T2D; (3) utvrditi povezanost insulinske rezistencije, nivoa adipocitokina i prisustva AH kod pacijenata sa T2D; (4) analizirati povezanost insulinske rezistencije, lipidskih parametara i AH kod pacijenata sa T2D; (5) analizirati povezanost insulinske rezistencije, parametara inflamacije i prisustva AH kod pacijenata sa T2D; (6) proučiti povezanost insulinske rezistencije, nivoa antioksidantnog statusa i prisustva AH kod pacijenata sa T2D i (7) ispitati odnos insulinske rezistencije i markera endotelne disfunkcije i prisustva AH kod pacijenata sa T2D.

U istraživanje u okviru ove doktorske disertacije uključeno je ukupno 80 ispitanika, oba pola, starosti 40-70 godina, koji su svrstani u sledeće grupe: 30 ispitanika sa T2D, gojaznošću i AH (grupa A), 9 ispitanika sa T2D, gojaznošću bez AH (grupa B), 14

ispitanika sa T2D bez gojaznosti sa AH (grupa C), 12 ispitanika sa T2D bez gojaznosti i bez AH (grupa D) i 15 ispitanika koji su činili zdravu kontrolu (grupa E). Izbor ispitanika je vršen prema postavljenim zadacima istraživanja nakon prethodnog dobijanja informisanog pristanka pacijenta. Nivo insulinemije, stepena glikoregulacije, kao i nivo ukupnog holesterola, njegovih supfrakcija, triglicerida i apolipoproteina, slobodnih masnih kiselina (SMK), parametara inflamacije (C –reaktivnog proteina (CRP) i fibrinogena), potom i nivoa adipocitokina (adiponektina, leptina i rezistina), proinflamatornih citokina (Tumor Necrosis Factor (TNF)-alfa i Interleukin (IL)-6), stepena antioksidantnog statusa (nivo glutation peroksidaze (GSH-PX), superoksid dismutaze (SOD) i totalnog antioksidantnog statusa), kao i markera endotelne disfunkcije (azot oksida (NO) i azot oksid sintetaze (NOS)-a), određivani su standardnim metodama u jasno određenim uslovima za svakog od ispitanika. U svakog ispitanika, nivo insulinske senzitivnosti je evaluiran korišćenjem dve komplementarne metode merenja insulinske senzitivnosti: (a) oralnim testom glukoze tolerancije i kompjuterskom obradom dobijenih rezultata radi određivanja Oralnog Glukoznog indeksa Insulinske Senzitivnosti (OGIS), koji prvenstveno odražava perifernu insulinsku senzitivnost i (b) metodom modela homeostaze, tj. određivanjem bazalnih vrednosti insulinemije i glikemije i izračunavanjem indeksa korišćenjem odgovarajuće formule radi dobijanja parametra insulinske rezistencije HOMA-IR, koji prvenstveno odražava hepaticku komponentu insulinske senzitivnosti. Korišćenje dve komplementarne metode u istog ispitanika je primenjeno zbog sveobuhvatnosti evaluacije insulinske senzitivnosti. U statističkoj obradi dobijenih rezultata korišćeni su adekvatni parametrijski i neparametrijski testovi i testovi korelacije ispitivanih varijabli.

Ispitivanje povezanosti poremećaja insulinske senzitivnosti i prisustva AH kod pacijenata sa T2D je pokazalo da je kod pacijenata sa T2D i AH značajno niža insulinska senzitivnost (viši stepen insulinske rezistencije), merena obema navedenim metodama, u poređenju sa pacijentima bez AH, kao i da je postojala značajna korelacija između stepena insulinske rezistencije i prisustva AH. Nivo OGIS indeksa kao parametra insulinske senzitivnosti koji odražava perifernu insulinsku rezistenciju značajnije utiče na prisustvo AH kod pacijenta sa T2D. Analiza povezanosti nivoa insulinemije naše i AH je pokazala

da je kod pacijenata sa T2D nivo insulinemije značajno viši u poređenju sa zdravim ispitanicima, ali da nivo bazalne insulinemije ne utiče na prisustvo AH, već da je u značajnijoj korelaciji sa stepenom gojaznosti kod pacijenata sa T2D. Dobijeni rezultati pokazuju da nema značajnog uticaja ukupne gojaznosti merene indeksom telesne mase (ITM) na prisustvo AH kod pacijenata sa T2D. Međutim, dobijeni rezultati ukazuju da postoji značajan uticaj abdominalne gojaznosti merene obimom struka (OS) na prisustvo AH kod pacijenata sa T2D, koja značajno korelira sa oba parametra insulinske senzitivnosti, ali i nivoom bazalne insulinemije. Značajno je naglasiti da je negativni prediktor prisustva AH kod pacijenata sa T2D masa tela bez masnog tkiva, dok je njen pozitivni prediktor OS. Rezultati u okviru ovoga rada su pokazali da viši nivo insulinske rezistencije sa kompenzatornom hiperinsulinemijom, može amplifikovati poremećaje u metabolizmu lipida, posebno kod gojaznih pacijenata sa T2D dovodeći do pojave AH kod ovih pacijenata. Registrovan je najniži nivo HDL-h u grupi gojaznih pacijenata sa T2D i prisutnom AH, a najviši u grupi negojaznih dijabetičara bez prisutne AH, dok je nivo triglicerida bio najviši u grupi gojaznih pacijenata sa T2D i prisutnom AH, a najniži upravo kod negojaznih pacijenata sa T2D bez prisustva AH. Ovakvi nalazi lipidnih parametara su značajno korelirali sa parametrima insulinske rezistencije, nezavisno od stepena gojaznosti. Dobijeni rezultati u okviru ove disertacije potvrđuju da je niži nivo adiponektina najverovatnije posledica samog prisustva T2D, i insulinske rezistencije, ali ne i gojaznosti. Istovremeno nivo adiponektina nije značajno uticao na prisustvo AH kod pacijenata sa T2D. Za razliku od adiponektina pokazano je da jedino leptin, povezan sa stepenom insulinske rezistencije, a nezavisno od prisustva gojaznosti značajno utiče na pojavu AH kod pacijenata sa T2D. Daljom analizom mogućih determinanti pojave AH kod pacijenata sa T2D analizirani su najpre standardni parametri inflamacije, fibrinogeni CRP, čiji nivo nije značajno uticao na pojavu AH kod pacijenata sa T2D. Međutim registrovana je značajna korelacija između proinflamatornih citokina (TNF-alfa i IL-6) i parametara insulinske senzitivnosti. Ova veza je značajno uslovljena prisustvom gojaznosti, ali ne utiče na pojavu AH kod pacijenata sa T2D. U pogledu izmena antioksidatnog statusa, određivanje nivoa antioksidatnih enzima GSH-PX,SOD i kao i totalnog antioksidatnog

statusa, nije nađena značajna veza između ovih markera, parametara insulinske rezistencije, niti prisustva gojaznosti na pojavu AH kod pacijenata sa T2D. Istovremeno markeri endotelne disfunkcije (NO i NOS) u korelaciji sa parametrima insulinske rezistencije, a nezavisno od prisustva gojaznost, značajno utiču na pojavu AH kod pacijenata sa T2D,

Na osnovu dobijenih rezultata proističu sledeći zaključci: (1) postoji povezanost između nivoa periferne i hepatične insulinske rezistencije, kao i nivoa bazalne insulinemije i prisustva AH kod pacijenta sa T2D; (2) stepen visceralne gojaznosti značajno utiče na prisustvo AH kod pacijenata sa T2D posredstvom insulinske rezistencije; (3) nivo adiponektina i rezistina kod pacijenata sa T2D nije povezan sa prisustvom AH već sa stepenom insulinske rezistencije, dok je nivo leptina značajno povezan sa prisustvom AH kod pacijenata sa T2D posredstvom insulinske rezistencije; (4) stepen insulinske rezistencije povezan sa sniženjem nivoa HDL-holesterola i porastom nivo triglicerida utiče na prisustvo AH kod pacijenata sa T2D; (5) nivo slobodnih masnih kiselina nije povezan sa prisustvom AH kod pacijenata sa T2D već samo sa stepenom insulinske rezistencije; (6) nivo TNF-alfa i IL-6 nije povezan sa prisustvom AH kod pacijenata sa T2D, već sa stepenom insulinske rezistencije i (7) markeri endotelne disfunkcije (NO i NOS) su povezani sa prisustvom AH kod pacijenata sa T2D posredstvom insulinske rezistencije.

Značajan doprinos ove disertacije je ostvaren detaljnom analizom specifičnosti odnosa povezanosti insulinske rezistencije i drugih metaboličkih faktora rizika, dislipidemije, stepena gojaznosti, nivoa adipocitokina, proinflamatornih citokina, antioksidantnog statusa i markera endotelne disfunkcije na prisustvo AH u T2D, posebno u uslovima gojaznosti.

Ključne reči: tip 2 dijabetesa, gojaznost, arterijska hipertenzija, insulinska rezistencija, dislipidemija, adipocitokini, pro-inflamatorni citokini, antioksidantni status, endotelna disfunkcija

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: interna medicina-endokrinologija

UDK broj:

Analysis of metabolic determinants of development of arterial hypertension in obese type 2 diabetes patients

Abstract

Arterial hypertension (AH) is two times more frequent in patients with type 2 diabetes (T2D), while the presence of insulin resistance is one of the possible metabolic disorders, which connects these two clinical conditions. Other risk factors such as total and visceral obesity, hyperinsulinemia, chronic inflammation, hyperglycemia, dyslipidemia, smoking and age, also contribute to the appearance AH in T2D patients.

Starting from the knowledge that the reduced level of insulin sensitivity signify risk factor for AH, but that the detailed mechanisms by which impaired insulin sensitivity exerts its influence in T2D have not yet been clarified aim of this thesis was to study the relationship between the presence of AH with the degree of insulin resistance, altered lipoprotein metabolism, disturbance levels of adipocytokines, pro - inflammatory cytokines, changed antioxidant status and markers of endothelial dysfunction in obese T2D patients. The research for this dissertation included a total of 80 subjects both sexes, aged 40-70 years, who were divided into the following groups: 30 patients with T2D, obesity and AH (group A), 9 patients with T2D, obesity without AH (group B), 14 patients with T2D without obesity and AH (group C), 12 patients with T2D without obesity and without AH (group D) and 15 healthy control subjects (group E). The selection of subjects was carried out according to the set tasks of research with the prior informed consent of the patient. Insulin levels, the degree of glycaemic control as well as the level of total cholesterol, its subfractions, triglycerides and apolipoproteins, free fatty acids (FFA), the parameters of inflammation (C - reactive protein (CRP) and fibrinogen), and then the levels of adipocytokines (adiponectin, resistin and leptin), proinflammatory cytokines (Tumor Necrosis Factor (TNF) - alpha, and interleukin (IL) -6), the level of antioxidant status (level of glutathione peroxidase (GSH - PX), superoxide dismutase (SOD) and total antioxidant status), and markers of endothelial dysfunction (nitric oxide (NO) and nitric oxide synthase (NOS) - a) were determined by standard methods in clearly defined terms

for each of the subjects. In each patient, the level of insulin sensitivity was evaluated by using two complementary methods of measuring insulin sensitivity: (a) an oral glucose tolerance test, and the computer processing of the results obtained in order to determine the Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS) index, which preferably reflects a peripheral insulin sensitivity and (b) homeostasis model method, i.e. determining the value of basal glycemia and insulinemia and calculating the index using the appropriate formula to obtain the parameter of insulin resistance HOMA - IR, which preferably reflects a component of hepatic insulin sensitivity. In statistical analysis, we used the appropriate parametric and non-parametric tests and tests the correlation of variables.

We have found significantly lower insulin sensitivity (higher degree of insulin resistance), both measured by the aforementioned methods in T2D patients with AH, when compared to patients without the AH, and that there is significant correlation between the degree of insulin resistance and the presence of AH. OGIS index as a parameter of peripheral insulin resistance significantly impact the presence of AH in patients with T2D. Despite significantly higher levels of insulin and its significant correlation with the degree of obesity in T2D patients than the healthy subjects, the levels of basal insulin did not affect the presence of AH in patients with T2D. The results have shown that there is no overall significant effect of obesity measured with body mass index (BMI) for the presence of AH in T2D patients. However, the results have shown that there is a significant influence of the abdominal obesity, measured with waist circumference (WC), for the presence of AH in T2D patients, which correlates closely with the two parameters of the insulin sensitivity, as well as the level of the insulin. It is important to stress that a negative predictor of the presence of AH in T2D patients was body mass without fat, while its positive predictor was WC. The results in the framework of this work indicated that higher levels of insulin resistance with compensatory hyperinsulinaemia, amplify the disturbances in lipid metabolism, especially in obese T2D patients, leading to the appearance of AH in these patients. The lowest level of HDL - c were found in a group of obese patients with T2D and AH and the highest in the nonobese diabetic patients without AH, while triglyceride levels were highest in the group of obese patients with T2D and AH and lowest precisely in non-obese T2D patients without AH. Regardless of the degree of obesity lipid parameters

correlated with the parameters of insulin resistance. The results obtained in the framework of this thesis confirmed that the low level of adiponectin is probably the consequence of the presence of the T2D itself and insulin resistance, not the obesity. At the same time the level of adiponectin did not significantly affected the presence of AH in T2D patients. In contrast to that leptin levels associated with the degree of insulin resistance, but independently of the obesity significantly influence the occurrence of AH in T2D patients. Standard parameters of inflammation i.e. CRP and fibrinogen, did not significantly affect the occurrence of AH in T2D patients. However, a significant correlation was found between the pro-inflammatory cytokines (TNF - alfa and IL - 6) and the parameters of insulin sensitivity. This relationship is substantially conditioned by the presence of obesity, but does not affect the appearance of AH patients with T2D. We have not found any significant relationship between antioxidant status, i.e. GSH -PX, SOD and total antioxidant status, and parameters of insulin resistance, or the presence of obesity on the occurrence of AH in T2D patients. At the same time markers of endothelial dysfunction (NO and NOS) correlates with parameters of insulin resistance, independently of the presence of obesity, and significant influence the presence of AH in patients T2D.

Based on these results we have derived the following conclusions: (1) there is a correlation between the level of peripheral and hepatic insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia and the presence of AH in patients with T2D; (2) visceral obesity substantially affecting the presence of AH patients with T2D through insulin resistance; (3) the levels of adiponectin and resistin in patients with T2D is not associated with the presence of AH, but with the degree of insulin resistance, while the leptin levels significantly influence the presence of AH in T2D patients through insulin resistance; (4) insulin resistance associated with decreased HDL - cholesterol and increased triglyceride levels influence the presence of AH in T2D patients; (5) the level of free fatty acids is associated with insulin resistance, but not with the presence of AH in T2D patients; (6) the level of TNF - alpha and IL - 6 is associated with insulin resistance not with the presence of AH in T2D patients, and (7) markers of endothelial dysfunction (NOS and NO) are associated with the presence of AH in T2D patients through insulin resistance.

This thesis made a significant contribution with detailed analysis of the relationship between the insulin resistance and other metabolic determinants, i.e. dyslipidemia, obesity, adipocytokines levels, proinflammatory cytokines, antioxidant status and markers of endothelial dysfunction, for the development of AH in T2D, especially in the conditions of obesity.

Keywords: type 2 diabetes, obesity, hypertension, insulin resistance, dyslipidemia, adipocytokines, pro-inflammatory cytokines, antioxidant status, endothelial dysfunction

Scientific field: Medicine

Field of Academic Expertise: Internal Medicine-Endocrinology

UDC number:

SADRŽAJ

1. UVOD	1.
1.1. Arterijska hipertenzija: definicija i epidemiologija	2.
1.2. Arterijska hipertenzija kao faktor rizika za kardiovaskularne bolesti	3.
1.2.1. Insulinska senzitivnost i pojava arterijske hipertenzije	4.
1.2.2. Gojaznost i arterijska hipertenzija	11.
1.2.3. Dislipidemija i arterijska hipertenzija u tipu 2 dijabetesa	14.
1.2.4. Adipocitokini i pojava arterijske hipertenzije	16.
1.2.4.1. Leptin i arterijska hipertenzija	17.
1.2.4.2. Adiponektin i arterijska hipertenzija	19.
1.2.4.3. Rezistin i arterijska hipertenzija	21.
1.2.4.4. Drugi adipocitokini i arterijska hipertenzija	23.
1.2.5. Proinflamatorni citokini i arterijska hipertenzija	25.
1.2.5.1. Tumor necrosis factor- α i arterijska hipertenzija	27.
1.2.5.2. Interleukin-6 i arterijska hipertenzija	29.
1.2.5.3. C-reaktivna protein i arterijska hipertenzija	31.
1.2.6. Antioksidantni status i arterijska hipertenzija	33.
1.2.7. Endotelna disfunkcija i arterijska hipertenzija	35.
2. CILJ RADA	38.
3. METODE	40.
3.1. Izbor ispitanika	40.
3.2. Plan testiranja ispitivanih grupa pacijenata	40.
3.3. Dijagnoza dijabetesa	42.
3.4. Dijagnoza arterijske hipertenzije	42.
3.5. Određivanje indeksa telesne mase	42.

3.6. Određivanje telesnog sastava	43.
3.7. Određivanje rasporeda masnog tkiva	43.
3.8. Utvrđivanje stepena insulinske senzitivnosti metodom oralne tolerancije glukoze-OGIS	43.
3.9. Utvrđivanje stepena insulinske senzitivnosti homeostaznim modelom HOMA-IR	49.
3.10. Oralni test tolerancije na glukozu	49.
3.11. Određivanje nivoa insulinemije u serumu	49.
3.12. Određivanje nivoa glikemije u serumu	50.
3.13. Određivanje nivoa glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) u serumu	50.
3.14. Određivanje nivoa adiponektina u serumu	50.
3.15. Određivanje nivoa leptina u serumu	51.
3.16. Određivanje nivoa rezistina u plazmi	51.
3.17. Određivanje standarnih parametara inflamacije	52.
3.18. Određivanje nivoa TNF- α u plazmi	52.
3.19. Određivanje nivoa IL-6 u plazmi	53.
3.20. Određivanje nivoa antioksidantnog statusa u plazmi	54.
3.21. Određivanje nivoa azot oksida (NO) u plazmi	54.
3.22. Određivanje nivoa azot oksid sintetaze u plazmi	54.
3.23. Određivanje nivoa ukupnog holesterola (h), LDL-h, HDL-h i triglicerida u serumu	55.
3.24. Određivanje nivoa apolipoproteina u serumu	55.
3.25. Određivanje nivoa slobodnih masnih kiselina u serumu	55.
3.26. Određivanje nivoa mikroalbuminurije u urinu	55.
3.27. Statistička obrada podataka	55.

4. REZULTATI	56.
4.1. Utvrditi povezanost insulinske rezistencije i arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	56.
4.1.1. Analiza povezanosti OGIS-a i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	56.
4.1.2. Analiza povezanosti HOMA-IR i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	61.
4.1.3. Analiza povezanosti nivoa insulina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	63.
4.2. Ispitivanje odnosa insulinske rezistencije, telesnog sastava i abdominalne gojaznosti i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	65.
4.2.1. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, telesnog sastava i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	66.
4.3. Analiza odnosa insulinske rezistencije, lipidskih parametara i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	70.
4.3.1. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, lipidskih parametara i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	70.
4.3.2. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, lipoproteinskih frakcija i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	74.

4.3.3. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, nivoa slobodnih masnih kiselina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	76.
4.4. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa adipocitokina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	78.
4.4.1. Ispitivanje odnosa insulinske rezistencije, nivoa adiponektina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	78.
4.4.2. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa leptina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	81.
4.4.3. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa rezistina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	83.
4.5. Analiza povezanosti insulinske rezistencije, parametara inflamacije i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	85.
4.5.1. Ispitivanje povezanosti odnosa insulinske rezistencije, nivoa standardnih parametara inflamacije i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	86.
4.5.2. Ispitivanje povezanosti odnosa insulinske rezistencije, nivoa TNF-alfa i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	87.
4.5.3. Ispitivanje povezanosti odnosa insulinske rezistencije, nivoa IL-6 i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	90.
4.6. Analiza povezanosti insulinske rezistencije, nivoa antioksidantnog statusa i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	92.
4.7. Analiza povezanosti insulinske rezistencije, nivoa NO i NOS-a i	

pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa	96.
5. DISKUSIJA	101.
6. ZAKLJUČCI	124.
7. LITERATURA	131.
PRILOZI	

I UVOD

Arterijska hipertenzija je dva puta češća kod pacijenta sa tipom 2 dijabetesa (T2D), dok se prisustvo insulinske rezistencije smatra jednim od mogućih metaboličkih poremećaja koji povezuje ova dva klinička stanja (1,2). Ostali faktori rizika kao što su visceralna i ukupna gojaznost, hiperinsulinemija, hronična inflamacija, hiperglikemija, poremećaji metabolizma lipoproteina, pušenje i godine starosti, takođe doprinose pojavi arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D (3,4).

Insulinska rezistencija bilo kog porekla udružena sa kompenzatornom hiperinsulinemijom može biti patogenetski mehanizam koji utiče na kontrolu arterijske tenzije, na ćelijskom ili organskom nivou (regulacija intracelularnog metabolizma kalcijuma u glatko mišićnoj ćeliji, renalna reapsorcija natrijuma, stimulacija adrenergične aktivnosti). U studijama praćenja pokazano je da insulinska rezistencija, merena kompenzatornom hiperinsulinemijom može prethoditi pojavi esencijalne hipertenzije (3,5).

U uslovima T2D pokazana je povezanost insulinske rezistencije i simpatovagalne disregulacije u patogenezi arterijske hipertenzije, međutim koji od ovih poremećaja patogenetski prethodi i dalje ostaje pitanje brojnih istraživanja (2).

U cilju otkrivanja metaboličkih determinantni pojave arterijske hipertenzije u T2D sprovedene su i/ili su još uvek u toku epidemiološke studije koje pokušavaju da identifikuju faktore rizika u različitim rasnim i etničkim grupama, kao i studije koje se prvenstveno zasnivaju na istraživanju patofizioloških mehanizama koje su u osnovi patogeneze arterijske hipertenzije u dijabetesu, kao i mogućnostima terapijske intervencije u randomizovanim kliničkim studijama.

U proteklih nekoliko godina došlo se do značajnih otkrića baziranih na rezultatima epidemioloških i kliničkih studija što je rezultiralo opsežnim ispitivanjima uzročne povezanosti ove dve bolesti.

1.1. Arterijska hipertenzija: definicija i epidemiologija

Arterijska hipertenzija je progresivno kardiovaskularno oboljenje kompleksne etiologije. Rani markeri ovog oboljenja su često prisutni pre nego što se registruje porast krvnog pritiska, zbog toga arterijsku hipertenziju nije moguće jednostavno definisati isključivo na osnovu vrednosti krvnog pritiska. Progresivni karakter bolesti je povezan sa funkcionalnim i strukturnim promenama na srcu i krvnim sudovima koje dovode do oštećenja srca, bubrega, mozga, krvnih sudova i drugih organa dovodeći do prevremenog morbiditeta i mortaliteta (4). Danas se smatra da će svaki treći Amerikanac tokom života oboleti od arterijske hipertenzije. Rizik od kardiovaskularnih bolesti (KVB) se duplira sa svakim porastom krvnog pritiska od 20/10mmHg počevši od 115/75mmHg (5). Prevalenca izolovane sistolne hipertenzije, izolovane dijastolne hipertenzije, ali i kombinovane sistolno/dijastolne hipertenzije varira u zavisnosti od pola i godina starosti. Franklin i saradnici su razjasnili značaj godina starosti na promene krvnog pritiska u velikoj kohorti pacijenata iz originalno Framingamske studije (6). Naime, pokazali su gotovo linearan porast sistolnog krvnog pritiska počevši od 30.-e do 84.-e godine života i istovremeni porast dijastolnog krvnog pritiska. U periodu od 50.-e do 60.-e godine života dolazi pada dijastolnog krvnog pritiska, koji je konzistentan sa porastom rezistencije na nivou velikih krvnih sudova, što posebno treba imati u vidu prilikom dijagnostike arterijske hipertenzije u populaciji starijih.

U očekivanju nove, aktuelna klasifikacija arterijske hipertenzije podrazumeva normotenzivno stanje i 3 stadijuma arterijske hipertenzije, a prema definiciji the Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7) (7) uvodi i kategoriju prehipertenzije. U tom smislu kategoriju normotenzivnih čine pacijenti bez drugih kardiovaskularnih faktora rizika, nemerljivih ranih markera KVB, bez oštećenja ciljnih organa i sa krvnih pritiskom obično ispod 120/80mmHg. Stadijum 1, odnosno prehipertenzija prema JNC7 je definisana prisutnim ranim markerima KVB, ali bez oštećenja ciljnih organa sa registrovanim krvnim pritiskom između 120/80mmHg i 139/89mmHg. Stadijum 2 (JNC7 stadijum 1) karakteriše prisutvo više od 2 markera KVB ili početno oštećenje ciljnih organa sa registrovanim krvnim pritiskom $\geq 140/90$ mmHg. Stadijum 3 (JNC7

stadijum 2) karakteriše prisutvo oštećenje ciljnog organa ili prisustvo kardiovaskularnog događaja sa registrovanim krvnim pritiskom $\geq 140/90$ mmHg.

1.2. Arterijska hipertenzija kao faktor rizika za kardiovaskularne bolesti

Grupa za ispitivanje multiplih faktora rizika za smrtnost od koronarne bolesti (KB) (Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT)) je ispivala kombinovani uticaj krvnog pritiska, ukupnog holesterola i pušenja sa posebnim osvrtom na značaj godina starosti na mortalitet od KB na velikom uzorku od 316.099 muškaraca koji su praćeni 12 godina (8). Tokom tok perioda verifikovan je značaj sistolne arterijske hipertenzije kao nezavisnog faktora rizika za smrtnost od KB. Istovremeno prisustvo dijabetesa je povećala smrtnost za 3 puta, bez obzira na godine starosti, etničku pripadnost i druge faktore rizika (9).

Prisustvo arterijske hipertenzije značajno povećava incidencu kardiovaskularnih smrti kod gojaznih pacijenata i pacijenata sa povećanom telesnom težinom prema podacima velike epidemiološke studije sprovedene u Francuskoj 70.-ih i 80-ih godina prošlog veka (10). Interesantno u istoj ispitivanoj grupi je pokazano da prisustvo dijabetesa ili hiperholestroleemije udružene sa hipertenzijom nije dovelo do značajnog porasta mortaliteta od kardiovaskularnih bolesti (11).

Studijama koje su se bavile kratkoročnim praćenjem pacijenata pokazano je da upravo gojaznost dovodi za značajnog porasta krvnog pritiska. Naime u Heart SCORE studiji je pokazano da 22% normotenzivnih pacijenata nakon jednogodišnjeg praćenja ima značajan porast krvnog pritiska, a njegovi prediktori su bili inicijalni stepen gojaznost meren indeksom telesne mase (ITM) i porast ITM i obima struka (OS) za 5% (12).

Gojaznost postaje nezavistan faktor rizika za pojavu KVB posebno kao deo metaboličkog sindroma. Prema definiciji The National Cholesterol Educational Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III), dijagnoza ovog sindroma podrazumeva prisustvo 3 od 5 kriterijuma: gojaznost i to abdominalnu gojaznost, nizak High Density Lipoprotein holestrol (HDL-h), arterijsku hipertenziju u prehipertenzivnom stadijumu iznad 130/85mmH, povišen nivo triglicerida i/ili povišen nivo glikemije našte (13).

Metabolički sindrom povećava rizik za pojavu dijabetesa i KVB. Smatra se da povećana telesna težina dovodi do porasta insulinske rezistencije, na čijem terenu tokom godina iscrpljivanja funkcije β ćelija pankreasa dovodi do pojave T2D. Trijada koju čine arterijska hipertenzija, dislipidemija i predijabetes doprinosi povećanom stepenu inflamacije i riziku od ubrzanja procesa ateroskleroze.

Koliko je komplikovana veza između arterijske hipertenzije i T2D ukazuju i nalazi prospektivne epidemiološke studije koja se bavila određivanjem faktora rizika za razvoj KVB kod žena, Women Health Study. U ovoj studiji je pokazano da je porast arterijskog pritiska snažan prediktor pojave T2D u populaciji inače zdravih žena (14). Značajnija je činjenica da se ovo zapaženje nije moglo objasniti ITM, niti drugim komponentama metaboličkog sindroma, iako je najveća incidenca T2D bila upravo u grupi gojaznijih i ispitanica sa prekomernom telesnom težinom.

Imajući u vidu prethodne nalaze, dalja ispitivanja bila su usmerena na identifikaciju faktora rizika za razvoj arterijske hipertenzije koji bi mogli biti razlog značajno učestalije pojave arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D, odnosno da li neki od brojnih metaboličkih poremećaja koji postoje u dijabetesu čini ove osobe podložnijim razvoju arterijske hipertenzije.

1.2.1. Insulinska senzitivnost i arterijska hipertenzija

Ispitivanje povezanosti insulinske senzitivnosti i arterijske hipertenzije, posebno kod pacijenata sa T2D proisteklo je i iz saznanja da je u osnovi etiopatogenetskog mehanizma nastanka T2D insulinska rezistencija i posledična kompenzatorna hiperinsulinemija (13). Sa druge strane, identifikovana je i karakteristična udruženost hiperinsulinemije, insulinske rezistencije, povišenog nivoa triglicerida i VLDL-holesterola (h), sniženog nivoa HDL-h i hipertenzije u nekih pacijenata sa T2D (15). Pojavu svih ovih poremećaja u iste osobe Reaven je 1988. godine označio terminom Sindrom X i pokazao da je u osnovi svih navedenih poremećaja, odnosno da je zajednička karakteristika ovih poremećaja insulinska rezistencija sa kompenzatornom hiperinsulinemijom, i da su nastale promene posledica ovog osnovnog poremećaja senzitivnosti na insulin (16).

Detaljnija ispitivanja nastanka T2D proteklih godina, dovela su do saznanja da je u osnovi patogeneze T2D genetski uslovljena insulinska rezistencija praćena defektom sekretorne sposobnosti pankreasne β ćelije da, i pored maksimalnog pojaćanja insulinske sekrecije, postigne adekvatan nivo insulina u krvi potreban da u tim uslovima održi homeostazu glukoze. Rezultat ovog procesa je hiperglikemija, ali praćena i kompenzatornom hiperinsulinemijom, iako u nedovoljnom stepenu za postojeći stepen insulinske rezistencije. Insulinska rezistencija sa kompenzatornom hiperinsulinemijom, međutim, nije detektovana samo u T2D, već, kako je pokazano naroćito poslednjih godina, i u nizu drugih oboljenja, prvenstveno u gojaznosti, esencijalnoj hipertenziji i poremećajima metabolizma lipida (18)

Saznanja da pacijenti oboleli od dijabetesa mogu biti "insulin-nesenzitivni" datiraju još od pre skoro 80 godina kada je Himsworth, na osnovu sopstvenih proućavanja, predložio da bi dijabetes trebalo podeliti u dve kategorije: "insulin-senzitivni" i "insulin-nesenzitivni" dijabetes (19).

Međutim, trebalo je da prođe još skoro 40 godina istraživanja i da se dođe do praktićno istog zaključka, ćime je originalna ideja Himswortha iz 1936. godine institucionalizovana, kada je National Diabetes Data Group usvojila postojanje insulin-zavisnog i insulin-nezavisnog dijabetesa (20).

Otkriće radioimunoesej tehnike omogućilo je 1960. godine direktno merenje nivoa insulina u krvi (21). Tada je prvi put primećeno da u starijih osoba sa dijabetesom može postojati viši nivo insulina u krvi nego u nedijabetićara, što je bilo suprotno dotadašnjem shvatanju dijabetesa kao bolesti nedostatka insulina. Iz ovakvih nalaza proistekla je i prva ideja da kod takvih pacijenata može postojati relativna rezistencija tkiva na insulin. Za potvrdu ovakve, u sućtini jednostavne ideje, trebalo je da prođe još nekoliko godina ekstenzivnih proućavanja do razvoja metoda za detekciju insulinskog receptora 70-tih godina prošlog veka. Tada je pokazano da je insulinski receptor, prisutan u raznim ćelijama, subjekt intenzivne i dinamićne regulacije, sa dominantnom "down"-regulacijom od strane insulina. Ubrzo potom, izućavanja u in vivo uslovima, na animalnom modelu, pokazala su da je stanje insulinske rezistencije posledica poremećaja na nivou insulinskih receptora delom indukovano i stanjem hiperinsulinemije (22). Nakon toga sledila su opsežna istraživanja, a razvijena je i

kvantitativna metoda ispitivanja stanja insulinske rezistencije u ljudi (euglikemijski hiperinsulinemijski klamp) (23).

Do sada je razvijeno nekoliko, prilično složenih metoda merenja in vivo insulinske rezistencije, od kojih je najvažnija metoda euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa (23), a potom i metoda minimalnog modela (24). Obe navedene metode omogućuju dosta precizno merenje periferne utilizacije glukoze (prvenstveno u mišićnom tkivu), a kombinovane sa indirektnom kalorimetrijom (25) ili obeleženom glukozom (26) prilično su rasvetlile mehanizme delovanja insulina na nivou perifernih tkiva. Za metodu minimalnog modela (intravenski test tolerancije glukoze sa učestalim uzimanjem uzoraka) prethodno je pokazano da izuzetno dobro korelira sa euglikemijskim klampom (26).

S obzirom da su navedeni testovi za ispitivanje insulinske senzitivnosti dosta komplikovani, skupi i zahtevaju puno uzimanja uzoraka, i u tom smislu nisu pogodni za ispitivanje većeg broja pacijenata, naročito za epidemiološke studije, te se u proteklih nekoliko decenija veliki broj istraživača bavio istraživanjima jednostavnijeg markera insulinske rezistencije (28,29). Pokazano je da homeostazni model (HOMA-IR) izračunat iz bazalnih vrednosti nivoa insulinemije i glikemije može predstavljati upravo takav marker, s obzirom da dobro korelira sa metodom klampa i minimalnog modela (30). Međutim, pokazano je da HOMA-IR odražava u suštini hepaticku insulinsku rezistenciju, odnosno većim delom zavisi od hepaticke produkcije glukoze (29), dok druga dva testa (klamp i minimalni model) bolje odražavaju perifernu utilizaciju glukoze zavisnu od insulina (odnosno perifernu insulinsku rezistenciju).

Poslednjih nekoliko godina u upotrebi je jednostavniji i manje zahtevan test za procenu insulinske senzitivnosti predložen od strane A. Marija i saradnika 2001.g. (28). Metoda bazira na određivanju Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS) indeksa kompjuterskom obradom dobijenih rezultata tokom standardnog oralnog testa glukozne tolerancije. Pokazano je da je ova metoda određivanja insulinske senzitivnosti komplementarna sa metodom koja predstavlja zlatni standard za određivanje insulinske senzitivnosti, odnosno euglikemijskim hiperinsulinemijskim klampom. OGIS indeks se izdvojio posebno u proceni periferne utilizacije glukoze zavisne od insulina u uslovima T2D, u kojim su drugi indeksi insulinske senzitivnosti manje komparabilni sa klampom

(test minimalnim modelom, HOMA indeksi i drugi indeksi izvedeni iz OGTT-a). Takođe korišćenjem OGIS indeksa odnosi između insulinske senzitivnosti i drugih varijabli, kao što je ITM, funkcija β ćelija je u korelaciji sa razlikama u ispitivanim grupama uzimajući u obzir patofiziologiju T2D.

Međutim nemaju svi pacijenti sa arterijskom hipertenzijom insulinsku rezistenciju. U prvim radovima Reavena je pokazano da svega 10% normotenzivnih i 45% hipertenzivnih pacijenata usklađenih prema polu, stepenu gojaznosti, etničkom poreklu i stepenu fizičke aktivnosti imaju insulinsku rezistenciju (31). Zbog činjenice da velika većina pacijenata sa arterijskom hipertenzijom ima insulinsku rezistenciju, pretpostavljeno je da je ovaj poremećaj u osnovi patogeneze bolesti.

Značajno je naglasiti da su poremećaji u metabolizmu glukoze, insulina i lipoproteina registrovane i kod prvih rođaka obolelih od arterijske hipertenzije, a istovremeno nisu prisutne kod pacijenata sa sekundarnom hipertenzijom, i ne popravljaju se nakon regulisanja krvnog pritiska, čak šta više može doći do njihovog pogoršanja. Pretpostavlja se da su ovi metabolički poremećaji povezani sa patogenetskim procesom koji uključuju i aktivaciju simpatoadrenalnog sistema potencirajući prohipertenzivne i proaterogene efekte periferne insulinske rezistencije .

Značajna uloga simpatična nervne aktivnosti u patogenezi arterijske hipertenzije je posebno naglašena kod gojaznih pacijenata, kod kojih je pokazano da je značajnije izražena i insulinska rezistenicija i hiperinsulinemija. Kompenzatorna hiperinsulinemija kod gojaznih pacijenata kao posledica insulinske rezistencije stimuliše simpatičku nervnu aktivnost povećavajući termogenezu, ali i stimuliše srce, bubrege i krvne sudove. U studijama euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa pokazano je da za razliku od rezistencije na insulin koja je pokazana kod gojaznih pacijenata, odgovor na povećanu koncentraciju adrenalina u plazmi nije izmenjen. Ovakvi nalazi potvrđuju da je simpatička aktivnost kod gojaznih pacijenata posredovana dejstvom insulina. U Normative Aging Study je pokazana značajna korelacija između nivoa insulina u plazmi i noradrenalina sa krvnim pritiskom i nakon korekcije za ITM i distribuciju masnog tkiva (32). Kod normotenzivnih pacijenata infuzija insulina koja dovodi do povećanja koncentracije insulina u fiziološkom opsegu ne dovodi do očekivane vazokonstrikcije, već naprotiv vazodilatacije i samim tim ne dovodi do porasta krvnog pritiska. Uprkos

činjenici da insulin u fiziološkim uslovima ima direktno vazodilatatorno dejstvo, u uslovima pojačane simpatične aktivnosti ovo dejstvo se gubi. Simpatična aktivnost, kao i druge komponente insulin rezistentnog stanja mogu da antagonizuju vazodilatatorno dejstvo insulina posebno kod gojaznih pacijenata i pacijenata sa arterijskom hipertenzijom.

Insulinska rezistencija i kompenzatorna hiperinsulinemija predstavljaju primaran događaj podstaknut povećanom simpatičkom aktivnošću i smanjenom adrenalnom medularnom aktivnošću i mogu predstaviti značajnu vezu između defekta dejstva insulina u patogenezi arterijske hipertenzije i udruženih metaboličkih abnormalnosti. Iako neće svi pacijenti sa arterijskom hipertenzijom imati insulinsku rezistenciju, niti će sve insulin rezistentne osobe razviti arterijsku hipertenziju. Činjenica je da insulinska rezistencija i kompenzatorna hiperinsulinemija imaju glavnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska kod predisponiranih osoba. Ovi metabolički poremećaji mogu predstavljati deo patogenetskih mehanizma razvoja arterijske hipertenzije, ali i njenih komplikacija.

U uslovima postojanja T2D situacija se značajno komplikuje. Iako je u proteklih 35 godina veliki broj populacionih, epidemioloških i kliničkih studija ukazuje na prediktivni značaj povišenog nivoa insulina kao faktora rizika za razvoj KB i arterijske hipertenzije kako u pacijenata sa T2D tako i u nedijabetičara (33, 34, 35,36, 37).

Samo određivanje nivoa insulinemije u bazalnim uslovima kao markera koji odražava stepen insulinske rezistencije u dijabetičara, u velikoj meri zavisi i od drugih metaboličkih poremećaja koji se viđaju u dijabetesu, što čini ovaj odnos mnogo kompleksnijim.

U tom smislu postulirana je hipoteza da insulin u fiziološkim uslovima ima zapravo anti-aterogeno delovanje, dok u uslovima insulinske rezistencije ili stanja hiperinsulinemije verovatno postoji gubitak ovakvog delovanja insulina što rezultira aterosklerozom (38).

Prethodno je pokazano da su vaskularne ćelije sposobne da odgovore na delovanje insulina vrlo širokim spektrom različitih mehanizama. Ranija istraživanja uglavnom su se bazirala na uočenim mitogenim efektima insulina na zid krvnog suda, prvenstveno na delovanju insulina na glatko-mišićne ćelije (GMĆ)(39).

Pokazano je da hiperinsulinemija dovodi do razvoja ateroskleroze upravo indukujući proliferaciju GMC i sintezu proteina ekstracelularnog matriksa u zidu krvnog suda. (40,41). Međutim, mitogeno delovanje insulina na GMC je sasvim slabo ili čak i beznačajno u fiziološkim uslovima. (41).

Većina studija je pokazala da insulin može stimulisati proliferaciju GMC samo u koncentracijama > 10 nmol/l. U stanjima insulinske rezistencije i hiperinsulinemije ovakav nivo insulina je retko prisutan ili održiv u dužem vremenskom periodu. Stoga je pretpostavljeno da insulin svoje aterogene efekte na GMC ostrvaruje indirektno, indukujući mitogeno delovanje drugih, mnogo potentnijih faktora rasta, kao što su trombocitni faktor rasta ili insulinu-slični faktori rasta (41). Međutim, i pored ove pretpostavke, da insulin stimuliše mitogene efekte drugih mnogo potentnijih faktora rasta, nije sasvim razjašnjena kontradikcija: vaskularne ćelije nisu rezistentne na insulin, dok se smanjena osetljivost na insulin redovno može naći u adipoznom i skeletno-mišićnom tkivu, što bi upućivalo na zaključak da postoji tkivnospecifična osetljivost na insulin, mada postoji malo dokaza da je vaskularno tkivo na neki način zaštićeno od insulinske rezistencije. Ispitivanja vazodilatatornog delovanja insulina su pokazala, međutim, da insulinska rezistencija može postojati i na arterijskom nivou. Naime, pokazano je da insulin povećava produkciju azot-oksida (NO) aktivacijom NO sintetaze (NOS) ili povećavajući njenu ekspresiju u endotelnim ćelijama (42), ali je u nekoliko eksperimentalnih studija uočeno da se ovakav efekat insulina gubi u uslovima postojanja insulinske rezistencije. Sa druge strane, neophodnost postojanja stanja hiperinsulinemije za razvoj ateroskleroze na neki način je demantovana činjenicom da u insulin-zavisnom dijabetesu takođe postoji ubrzana ateroskleroza ali vrlo retko je u tih pacijenata uočena hiperinsulinemija, a posebno ne i insulinska rezistencija. Takođe, povezanost hiperinsulinemije i ateroskleroze nije konsekventno pokazana u svim populacijama (43).

Imajući sve ovo u vidu, najnovija shvatanja aterogenog delovanja insulina/insulinske rezistencije zasnivaju se na pretpostavci o višestrukome delovanju insulina na zid krvnog suda koji se mogu sažeti na praktično dva osnovna delovanja: antiaterogeno (koje se ispoljava u fiziološkim uslovima) i aterogeno (42). Pokazano je

da vaskularne ćelije sadrže značajan broj visoko-afinitetnih insulinskih receptora koji su strukturno vrlo slični insulinskim receptorima u drugim tkivima. (40).

Takođe slično mehanizmima u drugim tkivima, vezivanjem insulina za insulinski receptor u vaskularnim ćelijama mogu se aktivirati dva signalna puta: PI3-kinazni put i mitogen-aktivirajući proteinski (MAP) kinazni kaskadni put (44).

Za aktivaciju PI3-kinaznog puta insulinom neophodna je fosforilacija insulin-receptor-supstrat (IRS) proteina 1 i 2. Suprotno navedenom, za aktivaciju MAP-kinaze kao medijatori nisu neophodni IRS proteini. Kao što je pokazano u drugim, ne-vaskularnim ćelijama, PI3-kinazni put je medijator metaboličkih delovanja insulina (kao što je transport glukoze), dok je MAP-kinazni put odgovoran za hronične efekte insulina (kao što je rast)(45).

U tom smislu je postulirano da je u uslovima insulinske rezistencije PI3-kinazni put u vaskularnim ćelijama oštećen, dok je MAP-kinazni put očuvan (verovatno jer za ovaj put nije neophodno prisustvo IRS proteina). To znači, da bi aktivacija PI3-kinaznog puta kao medijatora metaboličkog delovanja insulina bila odgovorna za anti-aterogeno delovanje insulina, kao što je produkcija NO ili genska ekspresija NOS-e za koje je pokazano da se mogu indukovati insulinom (s obzirom da je medijator ovog delovanja insulina upravo IRS) (42).

U uslovima kada je ovaj metabolički put oštećen, (kao što je stanje insulinske rezistencije ili deficita insulina), delovanje insulina u vaskularnim ćelijama odvija se kroz drugi, MAP-kinazni put koji je medijator drugih nemetaboličkih, aterogenih delovanja insulina, pre svega rasta, odnosno povećava se rizik razvoja ateroskleroze. Ukoliko je prisutna hiperinsulinemija, aterogeno delovanje insulina je posebno naglašeno. Navedena hipoteza nudi objašnjenje postojanja ateroskleroze u stanjima insulinske rezistencije, ali i u stanjima deficita insulina (kao što je tip 1 dijabetesa). Nedavno je pokazano da su mutacije gena za IRS-1 (medijator PI3-kinaznog, anti-aterogenog puta delovanja insulina) povezane sa povećanim rizikom za razvoj KB, posebno u gojaznih pacijenata (46), ali i sa smanjenom insulinskom senzitivnošću i bez poremećaja insulinske sekrecije (47,48), što postuliranu hipotezu čini verovatnijom.

1.2.2. Gojaznost i arterijska hipertenzija

Istraživanje odnosa između gojaznosti i pojave arterijske hipertenzije i danas je predmet opsežnih istraživanja, s obzirom da je poznato da ne moraju sve gojazne osobe imati i arterijsku hipertenziju. Očigledno je da veza između gojaznosti i pojave arterijske nije tako jednostavna, posebno u uslovima T2D.

Gojaznost je često udružena i sa T2D i arterijskom hipertenzijom (49) za koje je poznato da predstavljaju nezavisne faktore rizika u pojavi KVB (49,50).

Epidemiološke studije su pokazale da je gojaznost značajno povezana sa povišenim mortalitetom i morbiditetom kada se radi o KB (35). Međutim, poznato je da prevalenca gojaznosti raste i sa godinama starosti, a udružena je i sa porastom krvnog pritiska, glikemije i serumskih lipida (50). S druge strane veza između gojaznosti i mortaliteta i morbiditeta u KB perzistira i kada se iz analize izostave drugi značajni faktori rizika kao što su godine starosti, hipertenzija, pušenje, dislipidemija i dijabetes (51).

Moguća veza između gojaznosti i arterijske hipertenzije je činjenica da gojaznost predstavlja izrazito insulin rezistentno stanje. Insulinsku rezistenciju na insulinom stimulirano preuzimanje glukoze su prvi put demonstrirali Rabinowitz i Zierler (52) upravo kod gojaznih pacijenata. Prevalenca insulinske rezistencije kod gojaznih osoba nije poznata. U populaciono baziranim studijama kao što je San Antoni Study pokazana je značajna prevalenca insulinske rezistencije koja je korelirala sa prisustvom arterijske hipertenzije i povećanim obimom struka (OS) (53). Kod Pima Indijanaca, etničkoj populaciji sa velikim stepenom insulinske rezistencije, je pokazano da insulinska senzitivnost merena euglikemijskim hiperinsulinemijskim klampom nelinearno opada sa porastom ITM (54).

Prevalenca insulinske rezistencije u do tada najvećoj evropskoj populaciji gojaznih pacijenata sa ITM većim od 25kg/m², bez poremećaja glikoregulacije i bez prisutne arterijske hipertenzije je bila svega 15-25% (55). Dobijeni rezultati ukazuju da postojanje gojaznosti, merene ITM obuhvata i eksces u nemasnoj masi, koje predstavlja metabolički aktivno tkivo koje značajno doprinosi insulinskoj senzitivnosti (55).

Podaci iz novijih istraživanja ukazuju na patogenetski značaj nakupljanja masnog tkiva, posebno visceralnog masnog tkiva u abdomenu, u stanjima insulinske rezistencije. Relativni višak masnog tkiva u abdomenu, jetri, u grudnom košu u odnosu na potkožno masno tkivo se povezuje sa većom učestalošću glukozne intolerancije, arterijske hipertenzije, dislipidemije, ali i insulinske rezistencije. Iako samo po sebi značajno senzitivnije tkivo na insulin i metabolički aktivnije intraabdominalno masno tkivo značajno više oslobađa proinflamatorne citokine i vazoaktivne hormone kao i slobodne masne kiseline (SMK) i kortizol direktno u jetru. Tako da povećan OS postaje mera intraabdominalne akumulacije masnog tkiva i zamenjuje insulinsku rezistenciju kao surogat marker u aktuelnim algoritmima kojima se pokušava da se identifikuju osobe sa povećanim rizikom za razvoj T2D i KVB (56,57).

U studiji zdrave populacije evropejaca pokazano je da insulinska rezistencija, gojaznost i intraabdominalna akumulacija masnog tkiva i odgovor insulina zajedno čine sindrom insulinske rezistencije, odnosno metabolički sindrom. U ovoj studiji ukazano je na značajnu korelaciju OS i stepena insulinske senzitivnosti merene zlatnim standardom za procenu insulinske senzitivnosti, euglikemijskim hiperinsulinemijskim klampom, posebno u uslovima kada je OS preko 90/95cm (58). Ista veza se odnosi i na ukupni stepen gojaznosti meren ITM.

Značajno je naglasiti da u uslovima gojaznosti pored verifikovane insulinske rezistencije koja je prvenstveno određena prisustvom visceralne gojaznosti, postoji i stanje hiperinsulinemije, za koje je pokazano da zapravo ne predstavlja samo kompenzatoran odgovor β ćelija. Nasuprot senzitivnosti na insulin, relativni raspored masnog tkiva nezavisno utiče na oslobađanje insulina. Abdominalna akumulacija masnog tkiva posebno kod žena je značajno povezana sa povećanjem sekrecije insulina bez obzira na ukupni stepen gojaznosti i stepen insulinske senzitivnosti. Tačan fiziološki mehanizam ovakvog stanja je i dalje predmet mnogih ispitivanja, ali se pretpostavlja da je predominantno nakupljanje masnog tkiva u abdomenu pod hormonskom kontrolom, prvenstveno promenama na nivou hipotalamo-hipofizno-adrenalna osovine.

U uslovima gojaznosti hiperinsulinemija je rezultat kompenzatorne hipersekrecije u uslovima insulinske rezistencije i primarne (centralne) hipersekrecije

insulina. Klinički značaj ovih nalaza je da je rizik za pojavu T2D i/ili KVB kod gojaznih pacijenata može biti predominantno udružen sa insulin-rezistentnim ili insulin hiperprodukujućim fenotipom gojaznosti (55).

U uslovima T2D situacija postaje značajno kompleksnija zbog prisustva direktne povezanosti glikemije našte (fasting plasma glucose, FPG) i povećane endogene produkcije glukoze, koje karakteriše ovo metaboličko stanje (59,60,61,62,63,64). U uslovima FPG manje od 7mmol/l bazalna kompenzatorna hiperinsulinemija na terenu insulinske rezistencije obezbeđuje blokadu endogene produkcije glukoze na nivou jetre. U uslovima manifestnog T2D, $FPG \geq 7.0$ mmol/l dolazi do porasta endogene produkcije glukoze (65,66), dok je insulin manje potentan u supresiji glikogenolize (66,67).

Postoji veliki broj dokaza da visceralno nakupljanje masnog tkiva značajno učestvuje u patogenezi insulinske rezistencije. Eksces visceralnog masnog tkiva doprinosi smanjenju insulinske senzitivnosti merene euglikemijskim hiperinsulinemijskim klampom (68), smanjenoj reesterifikaciji SMK (69) i povećanoj rezistenciji na lipolizu u visceralnim i perifernim adipocitima (70,71). Pretpostavlja se da povećan influks SMK preko portalne cirkulacije na nivou jetre dovodi do porasta hepatične insulinske rezistencije, povećavajući proces glukoneogeneze. U uslovima T2D pokazano je da je akumulacija visceralnog masnog tkiva značajno povezana sa stepenom metaboličke kontrole, ne samo nivoom FPG, već značajno više sa nivoom glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) (72). Pokazano je da je visceralna gojaznost značajniji pokazatelj periferne insulinske rezistencije i od samog ITM. Mehanizam kojim nakupljanje masnog tkiva u abdomenu utiče na aktivnost insulina na nivou perifernih tkiva u uslovima manifestnog T2D je i dalje u potpunosti nejasan, ali se u svakom slučaju ne može objasniti nivoom SMK u cirkulaciji, već velikim brojem citokina koje ono produkuje, a koji imaju veliki uticaj na insulinsku senzitivnost i metabolizam glukoze (73). Endogena produkcija glukoze raste sa porastom FPG, ali njen nivo slabo korelira sa količinom visceralnog masnog tkiva. Za razliku od ovog nalaza pokazano je da količina visceralnog masnog tkiva iako čini svega 18% ukupne količine masnog tkiva u organizmu i kod osoba sa abdominalnim tipom gojaznosti, značajno korelira upravo sa glukoneogenezom.

Da količina visceralnog masnog tkiva najverovatnije posredstvom insulinske rezistencije učestvuje i u patogenezi arterijske hipertenzije, pa i u uslovima kada ne postoji poremećaj glukoze tolerancije pokazano u mnogim dosadašnjim istraživanjima. Kod pacijenata sa novootkrivenom hipertenzijom količina visceralnog masnog tkiva je čak do 60% veća u odnosu na normotenzivne pacijente i značajno korelira sa nivoom krvnog pritiska i stepenom insulinske rezistencije. U ovoj ispitivanoj grupi pacijenata pokazano je da porast visceralnog masnog tkiva, meren magnetnom rezonancijom, za 1kg korelira sa porastom srednjeg krvnog pritiska za 10mmHg (74). Međutim, kao i kod pacijenata sa T2D i kod pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom promene nivoa insulinske senzitivnosti nisu mogle biti objašnjene neznačajno povećanom količinom SMK, već oslobađanjem citokina u prvom redom vazoaktivnih citokina, kao što je angiotenzinogen, antagonist (Tumor Necrosis Factor-alfa (TNF-alfa), rezistin) i agonista insulina (adiponektin).

1.2.3. Dislipidemija i arterijska hipertenzija u tipu 2 dijabetesa

U prethodnim studijama je pokazano da povišen nivo ukupnog holesterola predstavlja apsolutni faktor rizika za pojavu KB i da za svaki nivo ukupnog holesterola mortalitet od KB je nekoliko puta veći u dijabetičara nego u nedijabetičara (75,76).

Poremećaji metabolizma glukoze, insulina i lipoproteina su česte kod pacijenata sa arterijskom hipertenzijom. Čak šta više pokazano je da su oni prisutni i kod prvih rođaka pacijenata sa arterijskom hipertenzijom i dovode se u vezu sa perifernom insulinskom rezistencijom, odnosno smanjenom sposobnošću insulina za periferno preuzimanje glikoze i nisu zavisni od prisustva gojaznosti.

Dislipidemija kod pacijenata sa arterijskom hipertenzijom se karakteriše prisustvom povišenih nivoa triglicerida i sniženim nivoom HDL-h, i povišenim nivoom VLDL-a, slično kao kod pacijenta sa T2D (77-82).

U prethodnim studijama je pokazano da sniženi nivo HDL-h i povišeni nivo Low Density Lipoprotein (LDL)-h predstavljaju i dobro poznate faktore rizika za nastanak KB, kako u dijabetičara, tako i u nedijabetičara (83)

Poslednjih godina ukazano je i na značaj povišenog nivoa VLDL-a kao faktora rizika za nastanak KB, i u dijabetičara i u nedijabetičara. Poznato je da se LDL sintetise iz VLDL-a i to progresivnom eliminacijom lipida, Apolipoproteina (Apo) A1 i A2 i akumulacijom Apo C i Apo E (84). Intermedijerni produkt ove sinteze je IDL za koga je takođe pokazano da može biti aterogen (84). To znači, da faktori koji povećavaju sintezu VLDL-a indirektno dovode i do pojačanog stvaranja IDL-a i LDL-a povećavajući time sklonost ka aterosklerozi. Nivo VLDL-a u cirkulaciji determinisan je brzinom sinteze VLDL-a u jetri i brzinom preuzimanja VLDL-a od strane perifernih tkiva (85). Pokazano je da je sinteza VLDL-a u jetri regulisana postojećom koncentracijom insulina i raspoloživošću substrata (86-88).

U gojaznih nedijabetičara, osoba sa smanjenom tolerancijom glukoze i pacijenata sa T2D prisutna je insulinska rezistencija sa kompenzatornom hiperinsulinemijom što može rezultirati i pojačanom sintezom VLDL-a (89-91). I zaista, kao što je to ranije pokazano u populacionim studijama, između povišenja nivoa insulina i povišenja nivoa triglicerida (iz VLDL-a) postoji jasna udruženost, čak i u negojaznih zdravih osoba (92-95).

Kod pacijenata sa T2D, pored povišenog nivoa insulina postoji i povišeni nivo SMK i glukoze čime je povećana i količina supstrata sa sintezu VLDL-a (89,90). U gojaznosti, ali i u T2D pokazano je da postoji i rezistencija lipoproteinske lipaze na delovanje insulina kao i defekt u preuzimanju VLDL-a, što doprinosi nalazu dislipidemije u ovim oboljenjima (96,97).

Kod pacijenata sa T2D postoji i poremećaj u sastavu i kompoziciji LDL-a. Pokazano je da su u ovih osoba, ali i osoba sa pre svega KB, bez obzira da li imaju dijabetes ili ne, često prisutne izmenjene partikule LDL-a, tzv. mali, gusti LDL, koji imaju izrazito visok aterogeni potencijal (89,98,99).

Stanje insulinske rezistencije i hiperinsulinemije povezano je i sa pojavom ovakvih malih, gustih LDL partikula (89).

Mogući mehanizam kojim se ove dve pojave povezuju je da smanjenje aktivnosti lipoproteinske lipaze u uslovima hiperinsulinemije a rezultira u smanjenju holesterolskih estara u LDL-u, povećanju triglicerida u LDL-u i pojačanoj lipolizi. Time dolazi do kompozicionih promena same LDL-partikule i smanjenja njene gustine zbog

poremećaja ravnoteže sadržaja proteina i masti u LDL-u. Sa druge strane, LDL partikula kod pacijenata sa T2D je često izmenjena i procesima oksidacije (77) ili glikozilacije (79).

Ovako izmenjeni LDL, značajan je u procesu aterogeneze, s obzirom da dovodi do aktivacije i dalje diferencijacije i proliferacije makrofaga, osnovne karike u lancu događaja koji rezultiraju ateromatoznom lezijom zida krvnog suda.

Mnoge studije su ukazale na značaj sniženog nivoa HDL-h u nastanku KB, kao i postojanje inverzne korelacije između nivoa insulina i nivoa HDL-h u nedijabetičara (81,84). Slični nalazi su pokazani i u gojaznih osoba i u pacijenata sa T2D (80, 86), ali je nađeno i da, i pored pojačane sinteze, nivo HDL-a je značajno niži u dijabetičara nego u zdravih. Razlog ovako snižene koncentracije HDL-a je u ubrzanoj degradaciji Apo A1/HDL koja prevazilazi kapacitet sinteze Apo A1/HDL (94,97,99).

I kod zdravih, ali i kod pacijenata sa T2D, postoji negativna i inverzna korelacija između nivoa insulina i nivoa HDL-a i klirensa Apo A1. Međutim, nisu sasvim razjašnjeni precizni mehanizmi kojima insulin dovodi do ovakvih poremećaja na nivou HDL-h, mada postoje podaci koji pokazuju da je i aktivnost hepatičke lipaze koja reguliše klirens HDL-a (87) značajno povećana u stanjima hiperinsulinemije.

1.2.4. Adipocitokini i arterijska hipertenzija

Danas se smatra da je masno tkivo metabolički aktivno tkivo koje različitim parakrinim, autokrinim i endokrinim mehanizmima sekretuje proteine poznate kao adipocitokini (leptin, adiponektin, rezistin, TNF- α , interleukin 6 (IL-6)) (100,101). U fiziološkim uslovima adipocitokini mogu imati značajnu ulogu u energetske homeostazi organizma, predstavljajući depo triglicerida i učestvujući u mobilizaciji masti (102). Pored toga adipocitokini učestvuju u inflamatornom i imunskom odgovoru organizma. Istovremeno, pokazano je da većina adipocitokina koje sekretuje masno tkivo u uslovima gojaznosti, posebno visceralne gojaznosti, ima značajnu ulogu u patogenezi T2D i KVB posredstvom insulinske rezistencije (103).

Na ćelijskom nivou, gojaznost nije samo bolest oštećenja adipocita, s obzirom da masnog tkivo čine i neke druge ćelije. Prisustvo makrofaga u masnom tkivu

doprinosi da gojaznost predstavlja stanje hronične inflamacije niskog stepena aktivnosti, koji povezuje masno tkivo sa imunskim sistemom (104). Razumevanje povezanosti ova dva sistema značajno doprinosi razumevanju patofizioloških mehanizama insulinske rezistencije i stanja povezanih sa njom uključujući i arterijsku hipertenziju i T2D.

1.2.4.1. Leptin i arterijska hipertenzija

Veliki pomak u razumevanju energetskog balansa organizma i biologije masnog tkiva je bilo otkriće leptina 1994.g., proteina od 167 aminokiselina, koji se gotovo ekskluzivno sintetizuje i luči od strane visoko specijalizovanih adipocita (105). Potkožno masno tkivo je odgovorno za 80% produkcije leptina, tako da je koncentracija leptina u plazmi i ekspresija mRNA u masnom tkivu direktno povezana sa stepenom gojaznosti, a porast mase masnog tkiva je povezan sa porastom nivoa leptina i pokazatelj je ukupne količine masnog tkiva u organizmu (106). Takođe, pokazano je da je nivo leptina u serumu uslovljen polom. Naime, kod žena u fiziološkim uslovima zabeležena je povećana koncentracija leptina i nakon korekcije za količinu masnog tkiva (107). Istovremeno, pokazano je da insulinska senzitivnost može biti jedna od determinanti koncentracija leptina u serumu, verovatno posredstvom stimulacije sekrecije leptina pod dejstvom insulina (108). U novijim studijama pokazano je da insulinska rezistencija dovodi do porasta koncentracije leptina u serumu, ali samo u uslovima kada postoji povećana količina intraabdominalnog masnog tkiva (109).

Osnovni biološki efekat leptin ostvaruje na nivou hipotalamusa, odnosno centralnog nervnog sistema, u kontroli apetita, unosa hrane i potrošnji energije.

Pored centralnih u novije vreme ukazano je i na postojanje značajnih perifernih efekata leptina. Naime, u uslovima gojaznosti pokazana je značajna povezanost leptinemije sa stanjem hronične inflamacije (110). U tom smislu u stanjima hiperleptinemije pokazan je porast pro-inflamatornog odgovora organizma. Tačan mehanizam ove povezanosti još uvek nije u potpunosti rasvetljen, ali se smatra da leptin utiče na produkciju drugog značajnog pro-inflamatornog citokina, TNF- α i aktivaciju makrofaga (111). Istovremeno je pokazano da pro-inflamatorni citokini, TNF- α i IL-6 stimulišu produkciju leptina na nivou adipocita (110,111). Leptin dovodi i do produkcije

endotelina-1 i sinteze azot oksid (NO) sintetaze, kao i produkcije slobodnih radikala (112,113), monocitnog hemoatraktantnog proteina 1 (MCP-1) i proliferaciju i migraciju endotelijalnih ćelija (113,114). Takođe, leptin promoviše agregaciju trombocita i akumulaciju holesterola u makrofazima u uslovima hiperglikemije (115), kao i angiogenezu (116). Opisana dejstva leptina ukazuju na njegov potencijalno štetan efekat na zid krvnog suda (117). Istovremeno, leptin popravljaja insulinsku senzitivnost aktivacijom AMP protein kinaze (AMPK) koja kontroliše metabolizam malonilkoenzima A dovodeći do smanjenja intraceularne lipogeneze udružene sa povećanom β oksidacijom masnih kiselina.

Međutim u uslovima gojaznosti, kada postoji povećana koncentracija leptina u krvi, ukazujući na stanje leptinske rezistencije, davanje leptina ne popravljaja insulinsku senzitivnost, za razliku od stanja lipodistrofije koje karakteriše nedostatak ili odsustvo leptina, kada primena leptina popravljaja insulinsku senzitivnost. Tako da je tačna uloga leptina u patogenezi kardiovaskularnih komplikacija gojaznosti uprkos rezistenciji na njegova metabolička dejstva u uslovima gojaznosti i dalje predmet mnogih ispitivanja.

Na eksperimentalnim modelima, ali u humanoj populaciji gojaznih pacijenata pokazano je da leptin ima značajnu ulogu regulaciji krvnog pritiska. Hronična infuzija leptina dovodi do porasta krvnog pritiska kod pacova, dok leptin deficijentni ob/ob miševi imaju nizak krvni pritisak (118,119). Da leptin ima značajnu ulogu u patogenezi arterijske hipertenzije potvrđuju i noviji radovi koji ukazuju na pozitivnu vezu između nivoa leptina i nivoa krvnog pritiska nezavisno od ITM, abdominalne gojaznosti, ali i insulinske rezistencije (120).

Jedan od mogućih mehanizama koji dovodi do pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata je leptinom indukovano povećanje aktivnosti simpatičkog nervnog sistema, kontrolišući simpatičku aktivnost preko različitih neuronskih puteva (121). Naime, povećana koncentracija kateholamina kako u plazmi tako i urinu je pokazana i na animalnim modelima, ali i u humanoj populaciji gojaznih osoba. Pokazano je da upravo povećanje simpatičke aktivnosti na nivou bubrega, povećanje ekskrecije noradrenalina, uz istovremeno smanjenje natriureze može predstavljati jedan od mehanizama kojim leptin dovodi do porasta arterijskog pritiska (122,123).

1.2.4.2. Adiponektin i arterijska hipertenzija

Adiponektin je protein od 244 aminokiseline, poznat i kao adipocyte complement-related protein (Acrp 30), gelatin-binding protein-28 i ApnQ, adipocitokin koga ekskluzivno eksprimiraju i sekretuju adipociti (124-126) i to predominantno intraabdominalnog masnog tkiva (127).

Ekspresija mRNK za adiponektin varira i značajno je manja u visceralnom nego u potkožnom masnom tkivu (128). Za razliku od drugih adipocitokina, ekspresija adiponektina je značajno smanjena kod gojaznih pacijenata i pacijenata sa T2D, kao i kod pacijenata sa KB.

U serumu cirkuliše u 2 forme: male molekularne težine u vidu dimera ili trimera i velike molekularne težine kompleks 12-18 subjedinica u koncentraciji 5-30mg/l kod mršavih osoba (129). Takođe, pokazano je da je nivo adiponektina, slično leptinu uslovljen polom, ali i godinama života. Naime, kod žena u fiziološkim uslovima zabeležena je povećana koncentracija adiponektina i nakon korekcije za količinu masnog tkiva, dok koncentracija adiponektina raste sa godinama života bez obzira na pol (124,127).

Poznati su i receptori za adiponektin: AdipoR1 i AdipoR2, koji imaju ubikvitarnu ekspresiju dominantno na mišićnim ćelijama, AdipoR1, a AdipoR2 predominantno na ćelijama jetre (130). Na animalnim modelima, prekomerne ekspresije u knock-out modelima, pokazano je da oba ova receptora imaju značajnu ulogu u procesima regulacije metabolizma glukoze i lipida kao i u procesima inflamacije i oksidativnog stresa (131,132). AdipoR1 aktivacijom AMPK promoviše insulinsku senzitivnost, dok AdipoR2 učestvuje u regulaciji metabolizma masnih kiselina i glukoze.

Mehanizmi odgovorni za kontrolu sinteze i sekrecije adiponektina još uvek nisu u potpunosti definisani. Pokazano je da je ekspresija adiponektina smanjena pod dejstvom pro-inflamatornih citokina, TNF- α i IL-6 (133,134), dok insulin smanjuje nivo mRNK za adiponektin u dozno-zavisnom odnosu (134). Istovremeno pokazano je da β adrenergični agonisti, glukokortikoidi i grelin inhibišu ekspresiju gena za adiponektin (134, 135).

Fiziološka uloga adiponektina i pored intenzivnih istraživanja u poslednjih 20-ak godina nije u potpunosti rasvetljena i za sada se smatra da je adiponektin modulator metabolizma glukoze i da ima anti-inflamatorna i anti-aterogena svojstva. U populaciji zdravih nivo adiponektina negativno korelira sa ITM, sistolnim i dijastolnim krvnim pritiskom, glikemijom našte, nivoom insulina, stepenom insulinske rezistencije, ukupnim i LDL-h, a pozitivno sa HDL-h (136).

Prema epidemiološkim studijama nivo adiponektina je značajno smanjen kod gojaznih osoba, osoba sa KVB i T2D (137,138,139,140) i korelira sa stepenom insulinske senzitivnosti. Pokazano je da opadanje koncentracije adiponektina koincidira sa pojavom hiperinsulinemije i pojavom insulinske rezistencije kod gojaznih Rhesus majmuna (141), odnosno predviđa smanjenje insulinske senzitivnosti kod Pima Indijanaca, populacije sa najvećom incidencom T2D (142). Davanje adiponektina, slično leptinu dovodi do poboljšanja insulinske senzitivnosti putem aktivacije AMPK (143). Adiponektin takođe utiče na hepatičnu produkciju glukoze smanjujući ekspresiju mRNA za 2 glavna enzima glukoneogeneze: fosfoenol-piruvat karboksi-kinazu i glukozo-6-fosfatazu (144). Potrebno je naglasiti da adiponektin velike molekularne težine ima najveće insulin-senzitivno dejstvo.

Pored uticaja na metabolizam glukoze pokazano je da adiponektin ima značajan uticaj i na nivo lipida i lipidskih frakcija u organizmu. Snižene vrednosti adiponektina i posledična smanjena hepatična insulinska senzitivnost, na terenu smanjene aktivnost hepatične lipaze, su povezane sa pojavom aterogenijeg lipidnog profila, nižih vrednosti HDL-h i povišenih vrednosti Tg u visoko rizičnoj populaciji za pojavu T2D i KVB, ali i kod pacijenata sa razvijenim ateroskleroznim komplikacijama (127,140,145).

In vitro studije su ukazale na moguću protektivnu ulogu adiponektina u procesu ateroskleroze, delujući direktno anti-aterogeno i anti-inflamatorno. Naime, adiponektin ima i direktno vazoprotektivno dejstvo u procesu rane aterogeneze utičući na: produkciju NO u endotelijajnim ćelijama, stimulišući endotelijalnu NO sintetazu (eNOS) (146), regulaciju ekspresije adhezionih molekula vaskularnih endotelinih ćelija (147), transformaciju makrofaga u penaste ćelije (148) i modulaciju proliferacije glatkih mišićnih ćelija (149). Takođe adiponektin može smanjiti inflamatorni odgovor indukovani proinflamatornim citokinom, TNF- α (150).

Potrebno je naglasiti da je pokazano da postoji negativna korelacija između nivoa adiponektina i vrednosti srednjeg sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska (151), što ukazuje na mogućnost da adiponektin doprinosi i pojavi i razvoju arterijske hipertenzije. U prilog tome su i nalazi da su nivoi adiponektina, leptina i IL-6 uz oštećenu fibrinolizu povezani sa pojavom arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata (152).

1.2.4.3. Rezistin i arterijska hipertenzija

Rezistin, noviji adipocitokin, otkriven je 2001.g., je cisteinom bogat polipeptid koji se sastoji od 114 aminokiselina i pripada familiji rezistinu sličnih molekula (resistin like peptides-RELM) (153,154,155).

Kod pacova ga sintetišu i luče jedino adipociti, zbog čega je najpre pretpostavljeno da predstavlja vezu između gojaznost i dijabetesa, kao mogući patogenetski faktor koji doprinosi pojavi insulinske rezistencije. Naime, pokazana je prekomerna ekspresija rezistina kod gojaznih životinja, dok njegova primena kod normalno uhranjenih životinja dovodi do pojave insulinske rezistencije. Takođe, rezistin inhibiše diferencijaciju adipocita (153), što je ukazalo da može predstavljati vezu između gojaznosti i insulinske rezistencije, ali ovakvi nalazi nisu potvrđeni u kasnijim radovima na eksperimentalnim životinjama, već su dobijeni potpuno suprotni nalazi (156).

U humanoj populaciji rezistin dominantno ekspimiraju i luče polimorfonukleari periferne krvi i njihova ekspresija se povećava prilikom njihove transformacije u makrofage (157,158). Ekspresija rezistina je takođe pokazana u neadipocitnim vaskularnim stromalnim ćelijama masnog tkiva, fibrotične jetre i u ateroskleroznim lezijama (159-153). Pokazano je da ekspresija rezistina u polimorfonuklearima periferne krvi zavisi od nivoa pro-inflamatornih citokina TNF- α i IL-6 (157).

Rezistin cirkuliše u serumu u tri različite forme, dominantno kao heksamer, velike molekulske težine, trimer, male molekulske težine i manje potentnosti u pogledu stimulacije proinflamatornih citokina i monomer (156,163,164). Koncentracija rezistina

za razliku od leptina i adiponektina nije uslovljena polom niti godinama života i kreće se 10-100ng/ml.

Za sada nije poznat receptor za rezistin. U poslednjih nekoliko godina kao potencijalni receptor za rezistin definisan je dekorin, i to kao funkcionalni receptor za rezistin na adipocitnim progenitorskim ćelijama, ali i drugim perifernim ćelijama (165). Takođe je ukazano da pertusis toksin senzitivni G protein receptor na CD4+ limfocitima može predstavljati receptor za rezistin (166). Dok se kao mogući receptor za centralno dejstvo rezistina na nivou hipotalamusa, za sada na animalnim modelima, opisuju Toll-Like Receptors (TLR) 4, putem kojih se ostvaruje pro-inflamatorno dejstvo rezistina, ali i njegovo dejstvo na insulinsku rezistenciju (167).

Fiziološka uloga rezistina još uvek nije definisana, s obzirom da su nalazi u epidemiološkim studijama kontraverzni u pogledu njegove uloge u insulinskoj rezistenciji, aterosklerozi i inflamaciji. Nekoliko studija ukazuje da je nivo rezistina uslovljen prisustvom gojaznosti, insulinskom rezistencijom ili T2D (168-174), dok nalazi drugih studija to demantuju (175-182). Nedostatak rezistina može dovesti do aktivacije AMPK i smanjene ekspresije gena koji kodiraju enzime koji učestvuju u procesu glukoneogeneze, što ukazuje da rezistin ima suprotan efekat od dejstva adiponektina i leptina, za koje je pokazano da aktiviraju AMPK.

Na animalnim modelima ukazano je i na centralno dejstvo rezistina, na nivou hipotalamusa, putem kojeg moduliše homeostazu glukoze, metabolizam lipida i unos hrane, ali i centralno smanjuje hepaticnu insulinsku senzitivnost (183-188).

Istovremeno pokazano je da rezistin ima značajnu ulogu u inflamatornim procesima u organizmu. Naime u humanoj populaciji rezistin povećava ekspresiju i korelira sa nivoom drugih pro-inflamatornih citokina, TNF- α i IL-6 (189-191), C-reaktivnog proteina (CRP) (192), lipoprotein-asocirane fosfolipaze A2 (193). Takođe, povišen nivo rezistina je zabeležen i u inflamatornim bolestima creva, teškoj sepsi, koronarnoj bolesti (KB) i reumatoidnom artritisu (190, 193,194,195).

I konačno, utvrđena je značajna uloga rezistina u procesu ateroskleroze. Naime pokazano je da nivo rezistina osim što značajno korelira sa pojavom ateroskleroznih KVB, može predstavljati i nezavisni prediktor pojave kardiovaskularnih događaja, kako kod osoba sa KB, tako i zdravoj populaciji (196,197). U više različitih sistema pokazano

je da rezistin indukuje endotelnu disfunkciju, primarno oštećenje u procesu ateroskleroze. Rezistin dovodi do direktnog oštećenja endotela smanjujući nivo ćelijske eNOS (198), indukujući sintezu i sekreciju endotelina-1, menjajući adhezione molekule na endotelnim ćelijama intracelularnog adhezionog molekula 1 (ICAM-1), VCAM-1 (199,200), ekspresiju MCP-1 (201), ali i promovišući transformaciju monocita i makrofaga u penaste ćelije (201,203). Pored toga, rezistin značajno doprinosi procesu ateroskleroze utičući na metabolizam lipida. Pokazano je da nivo rezistina značajno korelira sa nivoom triglicerida, a negativno sa HDL-h i nivoom ApoA1 (204) i smanjuje koncentraciju LDL receptora na humanim hepatocita (205).

U nekoliko novijih kliničkih studija pokazano je da rezistin može imati značajnu ulogu u patogenezi arterijske hipertenzije kod pacijenata sa i bez T2D (206-212). Ovakvi nalazi potvrđeni su i u jedinoj prospektivnoj studiji, Nurse Health Study, u kojoj je pokazano da povišen nivo rezistina u plazmi povećava rizik od pojave arterijske hipertenzije kod žena bez prisutnog dijabetesa, a nakon korekcije za druge metaboličke faktore rizika (213).

1.2.4.4. Drugi adipocitokini i arterijska hipertenzija

Angiotenzinogen je prekursor angiotenzina I, koji nakon konverzije u angiotenzin II ima značajnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska. Pokazano je da ekspresija mRNK za angiotenzinogen značajno povećana u visceralnom masnom tkivu (214,215), što delimično objašnjava vezu između arterijske hipertenzije i gojaznosti.

Hemerin (RARRES2 ili TIG2) je relativno skoro otkriven adipocitokin (216) za koji je pokazano da je ekspimiran u jetri i masnom tkivu. Značajan je u procesu diferencijacije normalnih adipocita i modulaciji ekspresije gena koji učestvuju u metabolizmu glukoze i lipida, odnosno glukoznog transportera 4 (GLUT 4), sintetaze masnih kiselina i adiponektina (217,218,219). I pored opisanih mehanizma delovanja kod ljudi nivo hemerina se ne razlikuje značajno kod pacijenta sa T2D i zdravih osoba. Ipak pokazana je značajna veza između nivoa hemerina i ITM, nivoa triglicerida i krvnog pritiska kod osoba sa normalnom tolerancijom glukoze (217).

Drugi adipocitokini u dosadašnjim istraživanjima nisu dovedeni u vezu sa patogenezom arterijske hipertenzije, ali je ukazano na njihovu moguću ulogu u poremećajima metabolizma glukoze, lipida, gojaznosti, insulinske rezistencije i inflamacije.

Omentin je adipocitokin koga sintetišu visceralne stromalne ćelije masnog tkiva, a ne sami adipociti, stimuliše insulinom stimulisan transport glukoze i popravlja insulinsku senzitivnost (220). Glavna isoforma omentina u serumu, omentin-1, inverzno korelira sa stepenom gojaznosti i insulinskom rezistencijom, a pozitivno sa nivoom adipocitokina i HDL-h (221), dok primena glukoze i insulina u dozno zavisnom odnosu smanjuje ekspresiju omentina-1 (222). Ipak tačna fiziološka uloga i receptor za omentin do sada nije otkriven.

Potencijalnu vezu između još jednog adipocitokina, retinol vezujućeg proteina 4 (retinol binding protein 4, RBP4), i T2D prvi put je pretpostavio Yang i saradnici pokazujući da je nivo RBP4 kod insulin rezistentnih knock out miševa za GLUT-4 i kod gojaznih pacijenta sa T2D (223). Kasnije je pokazano da ova veza postoji i kod mršavih normoglikemičnih osoba sa pozitivnom porodičnom anamnezom za dijabetes (223,224). Međutim, za razliku od eksperimentalnih modela, ubrzo se pojavio veći broj studija u kojima ovakav nalaz nije mogao biti potvrđen niti u pogledu gojaznosti, niti insulinske rezistencije, T2D ili komponentni metaboličkog sindroma (225,226,227).

Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor (Vaspin) je prvi put otkriven u visceralnom masnom tkivu pacova i povezivan je sa hiperinsulinemijom (228). RNK za humani vispatin je ekspirimirana u visceralnom i subkutanom masnom tkivu (229), a nivo vaspina je povezan sa gojaznošću, smanjenom insulinskom senzitivnošću, dok T2D utiče na ovu povezanost (230).

Visfatin, je otkriven pod imenom pre B cell colony enchancing factor (PBEF) sa funkcijom faktora koji utiče na maturaciju B limfocita (231), ali i značajno koreliše sa količinom visceralnog masnog tkiva kod ljudi i miševa eksperimentalnih modela za insulinsku rezistenciju. Najpre je pokazano da je nivo visfatina značajno povezan sa gojaznošću, masom visceralnog masnog tkiva, T2D i metaboličkim sindromom kod ljudi (232-234), a nakon toga su usledile studije koje su to demantovale (235-237).

Međutim, aktuelni podaci ukazuju da je masno tkivo zaista izvor visfatina koji reguliše funkciju β ćelija delujući na aktivnost nikotinamid fosfo-ribozil-transferaze (238).

Insulinska rezistencija predstavlja kompleksan produkt interakcije između nivoa glukoze, insulina i adipocitokina na različitim metabolički aktivnim tkivima. Dosadašnji nalazi o interakciji adipocitokina su prilično kontradiktorni i mogu predstavljati posledicu različitih *in vitro* i *in vivo* modela.

Adiponektin i TNF- α kontrolišući međusobnu ekspresiju i sekreciju stvarajući kreativan fiziološki balans (239). Prekomerna uhranjenost dovodi do aktivacije inflamatornih puteva dovodeći do kritične neravnoteže u ekspresiji adiponektina. S druge strane TNF- α i IL-6 imaju značajnu ulogu u regulaciji nivoa ostalih adipocitokina. Pokazano je TNF- α smanjuje produkciju RBP4 u humanim adipocitima (240), dok povećava ekspresiju leptina (241,242), rezistina (157) i visfatina (243). Nasuprot očekivanom, leptin (244), rezistin (189-191) i visfatin (243) povećavaju produkciju TNF- α i IL-6, sugerišući da ovi adipocitokini mogu predstavljati okudajuće faktore inflamatornog odgovora bilo direktno, parakrino ili autokrino. Hemerin i vaspin, slično adiponektinu, deluju antiinflamatorno, hemerin inhibiše produkciju TNF- α i IL-6 klasičnom aktivacijom makrofaga (245), dok vaspin suprimuje ekspresiju leptina, rezistina i TNF- α , povećava ekspresiju adiponektina u masnom tkivu (228).

Detaljnija uloga adipocitokina sa dominantno inflamatornom ulogom je opisana u sledećem poglavlju.

1.2.5. Pro-inflamatorni citokini i arterijska hipertenzija

Danas je jasno pokazano da gojaznost, T2D i KVB karakteriše stanje hronične inflamacije niskog stepena aktivnosti koje se odlikuje povećanjem pro-inflamatornog ćelijskog supstrata u masnom tkivu i povećanom produkcijom citokina i pro-inflamatornih adipocitokina (246-248). Takođe je pokazano da sa smanjenjem telesne težine dolazi do normalizacije nivoa ovih bioloških parametara. U tom smislu pokazano je da hronična inflamacija koja je blisko povezana sa prisustvom gojaznosti može predstavljati osnovni regulatorni proces u patogenezi i samog T2D (249).

Uloga adipocita je dobro poznata u metaboličkim poremećajima, ali je njihova uloga u inflamatornim procesima novijeg datuma. U novijim istraživanjima je pokazano da adipociti i ćelije imunskog sistema imaju dosta sličnosti, kao što je aktivacija komplementa i produkcija pro-inflamatornih citokina. Naime, pokazano je da prekursori adipocita, preadipociti, imaju dosta sličnost sa makrofazima uključujući i sposobnost fagocitoze. Veliki broj gena koji kodiraju transkripcione faktore, citokine i transportere masnih kiseline su takođe eksprimirani na makrofazima koji su prisutni u masnom tkivu. U mnogim istraživanjima je pokazano da je uslovima gojaznosti prisutna hronična inflamacija niskog stepena aktivnosti koja se manifestuje povećanjem broja makrofaga, posebno u visceralnom masnom tkivu i posledičnim povećanjem nivoa CRP-a, TNF- α , IL-6 i drugih bioloških markera inflamacije (250). Makrofazi su odgovorni za povećanu ekspresiju praktično celokupne količine TNF- α masnog tkiva, značajne količine IL-6 i drugih markera akutne faze inflamacije. Ovaj porast infiltracije makrofaga može predstavljati uzrok, ali i posledicu stanja hronične inflamacije koja je povezana sa stepenom gojaznosti.

Sa porastom telesne težine dolazi do porasta broja adipocita, a samo masno tkivo prolazi kroz molekularne i ćelijske izmene koje se reflektuju na metabolizam. Najpre dolazi do porasta nivoa nekoliko pro-inflamatornih citokina koje proizvodi masno tkivo. Istovremeno masno tkivo gojaznih osoba u poređenju sa mršavim pokazuje povećanu ekspresiju pro-inflamatornih proteina uključujući IL-6, TNF- α , MCP-1, inducibilnu azot oksid sintetazu (i-NOS) transformišući faktor rasta β 1 (TGF- β 1) i prokoagulantne proteine kao što su plazminogen aktivator inhibitora-1 (PAI-1), tkivni faktor (TF) i faktor VII (248,250). Takođe se registruje porast makrofaga u masnom tkivu, a njihova funkcija hvatača moribundnih adipocita raste sa porastom stepena gojaznosti. Sa porastom ekspresije ovih pro-inflamatornih citokina smatra se da su makrofazi odgovorni i za njihov porast u sistemske cirkulaciji. U eksperimentalnim uslovima kod gojaznih miševa pokazano je da ovaj porast pro-inflamatornih citokina prethodi dramatičnom porastu insulinske sekrecije. Hronološki ranija pojava ovih inflamatornih markera pre razvoja insulinske rezistencije ukazuje na značaj inflamacije masnog tkiva u patogenezi same gojaznosti i njenih komplikacija.

Istovremeno je pokazano da pro-inflamatorni citokini imaju glavnu ulogu u procesima inflamacije i povećavaju rizik za razvoj T2D. Ovi citokini mogu povećati stepen insulinske rezistencije direktnim dejstvom na nivou adipocita, mišića i jetre, dovodeći do značajnog smanjenja celokupne insulinske senzitivnosti i oštećujući glukoznu toleranciju. Povišen nivo pro-inflamatornih citokina dovodi do povećane produkcije proteina akutne faze inflamacije kao što su CRP i PAI-1, amiloida A, α -1 glikoproteina i haptoglobina na nivou jetre. Naime pokazan je porast nivoa ovih medijatora u stanjima predijabetesa, čiji nivo raste kako se stepen tolerancije na glukozu smanjuje i progredira u stanje manifestnog T2D (251-253). U daljem toku bolesti nivo pro-inflamatornih citokina značajno zavisi od stepena glikoregulacije kao i primenjene terapije. Pojedini autori su pokazali da dolazi do porasta nivoa IL-6 i TNF- α kod pacijenata koji su lečeni insulinom, ali ne i kod onih koji su lečeni preparatima sulfonilureje. Takođe je pokazano da nivo pro-inflamatornih citokina u značajnoj meri zavisi od stepena glikoregulacije, merene nivoom HbA1c, ali i stepena visceralne gojaznosti izražene OS (254,255).

1.2.5.1. Tumor necrosis factor (TNF)- α i arterijska hipertenzija

TNF- α je glikoprotein od 185 amino kiselina koga sintetišu dominantno monociti i makrofazi (256,257). TNF- α ima značajnu ulogu u aktivaciji imunskog sistema, ali kao i drugi pro-inflamatorni citokini ima značajne funkcije i van imunskog sistema, uključujući indukciju apoptoze, lizu tumorskih ćelija, porast timocita, stimulaciju produkciji drugih citokina i supresiju aktivnost lipoproteinske lipaze. Istovremeno u patofiziološkim stanjima, pokazano je da je nivo TNF- α povezan sa septičkim šokom, reumatoidnim artritismom, inflamatornim bolestima creva i mnogim drugim stanjima (258). Takođe je pokazano da u in vivo uslovima primena TNF- α dovodi do porasta nivoa triglicerida i VLDL-a kod pacova, ali i kod ljudi (259,260).

U uslovima gojaznosti pokazano je TNF- α značajno eksprimiraju i proizvodeju dominantno makrofazi masnog tkiva (256,257), dok ga adipociti mogu stvarati kod eksperimetanlnih životinja, a značajno manje kod ljudi (256,261,262) i tada ima značajnu ulogu u insulinskoj rezistenciji.

TNF- α ostvaruje svoje dejstvo preko dva receptora, TNF-R1 i TNF-R2 koji su koegzistiraju u praktično svim ćelijama, a čijom stimulacijom dolazi do aktivacije brojnih specifičnih kinaza i fosfataza za određeno tkivo (263).

Prvi radovi koji su ukazali na značajnu ulogu TNF- α u insulinskoj rezistenciji na terenu gojaznosti su eksperimentalne studije koje su pokazale da delecija TNF- α ili receptora za TNF- α dovodi do značajnog poboljšanja insulinske senzitivnosti kod dve grupe eksperimentalnih miševa (264). Takođe je pokazano da neutralizacija TNF- α popravlja insulinsku senzitivnost i kod pacova (265). Kod ljudi ekspresija TNF- α u masnom tkivu značajno korelira sa ITM, procentom masnog tkiva i hiperinsulinemijom, dok redukcija telesne težine smanjuje nivo TNF- α (266,267). Nivo TNF- α naše značajno korelira sa stepenom insulinske rezistencije kod insulin-rezistentnih osoba sa i bez T2D (168,268,269). U studiji Hiverta i saradnika pokazano je da je ova veza značajna i nakon korekcije za uticaj nivoa adiponektina, rezistina i ITM (268). Međutim, postojale su studije u kojima to nije pokazano (270,271). Istovremeno primena neutrališućih antitela na TNF- α kod gojaznih, insulin-rezistentnih osoba sa i bez T2D ne popravlja insulinsku senzitivnost (272,273). Iz ovih razloga ispitivanja funkcije TNF- α u humanoj populaciji su i dalje predmet brojnih istraživanja.

Pretpostavlja se da TNF- α ostvaruje svoje dejstvo na smanjivanje insulinske rezistencije utičući na fosforilaciju insulinskih receptora i IRS-1 (247,266). Istovremeno, TNF- α može povećati stepen insulinske rezistencije promovišući oslobađanje SMK iz masnog tkiva u sistemsku cirkulaciju koje ostvaruju svoje dejstvo na nivou mišića i jetre (246). Na taj način TNF- α porekla masnog tkiva deluje lokalno u samom masnom tkivu, ali ostvaruje i svoje periferno dejstvo.

U pogledu direktne povezanosti porasta nivoa TNF- α i pojave arterijske hipertenzije do sada nije objavljeno mnogo studija, u njih sedam (274-280) je pokazano da ova veza postoji, dok u dve studije (281,282) ova veza nije pokazana. Značajno je naglasiti da je u ATTICA studiji jasno pokazana ova veza i nakon korekcije značajnih konfauding faktora kao što su godine starosti, ITM, nivo lipidskih parametara, glikemija (274). Takođe pokazano je da je odnos solubilnih TNF-R2/TNF-R1 receptora značajno korelira sa visinom sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, a da redukcijom krvnog pritiska dolazi do značajnog pada ovog odnosa (280).

Precizni mehanizmi kojim TNF- α utiče na pojavu arterijske hipertenzije nisu poznati. Mogući mehanizmi se mogu naći u nalazima eksperimentalnih studija gde je pokazano da TNF- α ubrzava procese ateroskleroze dovodeći do indukcije sinteze adhezionih molekula VCAM-1, ICAM-1, MCP-1 i selektina E u endotelnim i vaskularnim mišićnim ćelijama menjajući endotelijum zavisnu vazodilataciju (283-286) i promovišući ćelijsku apoptozu (287). Potrebno je naglasiti da je otkriven polimorfizam u promoteru gena za TNF- α koji je povezan sa porastom sistolnog krvnog pritiska (288).

1.2.5.2. Interleukin-6 i arterijska hipertenzija

IL-6 je glikoprotein koga čine 212 aminokiselina sa signalnim peptidom od 27 aminokiselina, molekularne težine od 21 do 28kDa, plejotropni citokin sa značajnom ulogom u imunoregulatornim i neimunskim funkcijama u većini ćelija i tkiva van imunskog sistema (101,103,289). IL-6 pripada familiji citokina, koja uključuje IL-11, onkostatin M, leukemija inhibitorni faktor, cilijarni neutrofični faktor, kardiotropin-1 i kardiotropin sličan ciktokin. Pokazano je da IL-6 proizvode nekoliko vrsta ćelija (fibroblasti, endotelijalne ćelije, monociti, skeletne i glatkomišićne ćelije, adipociti, β ćelije pankreasa, hepatociti, mikroglialne ćelije, astrociti i mnoge druge ćelije) (103,103,130). Oko 15-30% cirkulišućeg IL-6 je poreklom iz adipocita i to visceralnog masnog tkiva, a veći deo je poreklom od endotelnih ćelija monocita/makrofaga (290,291). Visceralno masno tkivo proizvodi 3 puta veću količinu IL-6 nego potkožno masno tkivo. Njegova koncentracija u cirkulaciji, slično kao i koncentracija leptina značajno korelira sa stepenom gojaznosti (290). Međutim i dalje nije potvrđeno da li je ova pozitivna korelacija između nivoa IL-6 i mase masnog tkiva odražava njegovu regulatornu ulogu u procesima inflamacije i patogeneze insulinske rezistencije.

IL-6 je multifunkcionalni citokin koji ima više ciljnih tkiva, odnosno ćelija. Najpre je smatrano da je IL-6 pro-inflamatorni citokin, čija je osnovna uloga u imunskom sistemu, međutim ubrzo je pokazano da nema tako jednostavnu ulogu u organizmu (292). Neadekvatna regulacija IL-6 može imati direktnu protektivnu ili štetnu ulogu u antigen specifičnim imunskim bolestima kao i u bolestima u kojima je

pokazano da hronična inflamacija niskog stepena aktivnosti (gojaznosti i T2D) ima značajnu ulogu u njihovoj patogenezi (289,292). Jedna od glavnih funkcija IL-6 je kontrola hepatične produkcije inflamatornih proteina, kao što je CRP. Potvrđena je pozitivna korelacija između nivoa IL-6 i cirkulišućeg CRP-a (293), koji predstavlja značajan kardiovaskularni faktor rizika (294). Produkcija IL-6 iz visceralnog masnog tkiva može imati direktan uticaj na metaboličke procese u jetri, s obzirom da se direktno drenira u jetru preko portne vene, prvenstveno direktno stimulišući produkciju triglicerida (295). U eksperimentalnim uslovima je pokazano da IL-6 smanjuje insulinsku senzitivnost povećavajući insulinsku rezistenciju u kulturi hepatocita i ćelijama hepatoma, a povećava produkciju leptina i lipolizu i smanjuje aktivnost lipoproteinske lipaze u adipocitima. U in vivo uslovima IL-6 ima negativan uticaj na dejstvo insulina u jetri i mišićima, dok primena neutrališućih antitela na IL-6 popravlja dejstvo insulina u jetri kod leptin deficijentnih ob/ob i dijetom-indukovanih gojaznih miševa. Skorašnje studije su ukazale da IL-6 može implicirati postojanje insulinske rezistencije (296-298).

Receptor za IL-6 pripada klasi 1 citokinskih receptora, koji koriste Janus kinazu (JAKs) kao intraćelijski put (299).

Uloga IL-6 u insulinskoj rezistenciji je i dalje kontraverzna. U mnogim studijama je pokazano da intereakcija između citokina i insulinskog puta dovodi do smanjene osetljivosti na insulin u prisustvu citokina. Mogući mehanizam koji dovodi do ovog nije u potpunosti razjašnjen, ali se pretpostavlja da u njemu učestvuje aktivacija protein kinaze i tirozin fosfataze (300). Hronična elevacija IL-6 u plazmi i povećanje kardiovaskularnog rizika su povezane sa inflamatornim stanjem koje može uzrokovati insulinsku rezistenciju. Pretpostavlja se da hronično povišen IL-6 ima slab uticaj na insulinsku rezistenciju na nivou mišića, ali značajno doprinosi ukupnoj insulinskoj rezistenciji posebno na nivou jetre i masnog tkiva. Istovremeno u eksperimentalnim uslovima pokazano je da IL-6 može biti produkovan od strane skeletnih mišića tokom fizičke aktivnosti i dovesti do povećane osetljivosti mišića na insulin (301). Ovo otkriće je doprinelo uverenju da IL-6 može imati pre pozitivne nego negativne metaboličke efekte u eksperimentalnim uslovima (302). U in vitro studijama pokazano je da IL-6 povećava translokaciju transportnog proteina GLUT4 povećavajući preuzimanje

glukoze, istovremeno aktivirajući AMPK i povećavajući oksidaciju masti u mišićnim ćelijama i adipocitima (303,304). U uslovima euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa pokazano je da IL-6 povećava dejstvo insulina i kod zdravih ljudi (305), ali ne i uslovima tipa 2 dijabetesa i prisutne gojaznosti (306).

Takođe je pokazano da IL-6 povećava endotelijalnu disfunkciju, koja može dovesti do povećanja periferne vaskularne rezistencije i posledične arterijske hipertenzije (307,308). Međutim rezultati dosadašnjih ispitivanja nisu toliko ubedljivi. U dosada objavljenim studijama većina je pokazala pozitivnu asocijaciju između nivoa IL-6 i pojave arterijske hipertenzije (275-277,309-311), ali su istovremeno objavljene studije koje negiraju ovu vezu (281,308,312).

1.2.5.3. C-reaktivi protein i arterijska hipertenzija

Visoko senzitivni CRP (hsCRP) predstavlja marker vaskularne inflamacije. Tradicionalno esej za CRP ima senzitivnost oko 5mg/l, i omogućava detekciju CRP kod pacijenata sa značajnim stepenom inflamacije. Nasuprot njemu hSCRP omogućava precizno merenje CRP-a u prethodno izmerenom normalnom opsegu, omogućujući detekciju osoba sa povećanim kardiovaskularnim rizikom.

Povezanost između nivoa CRP, senzitivnog markera inflamacije i razvoja ateroskleroznih bolesti je pokazana u mnogim eksperimentlanim modelima i epidemiološkim studijama. U više od 20 prospektivnih epidemioloških studija pokazano je da visoko hsCRP predstavlja nezavisni prediktor pojave infarkta miokarda, moždanog udara, periferne vaskularne bolesti i iznenadne srčane smrti, ali i tipa 2 dijabetesa kod naizgled zdravih individua (275,309,313-317). Značaj CRP-a za razvoj KVB je gotovo jednaka uticaju LDL i HDL holesterola (318). Istovremeno u brojnim studijama jasno je pokazano da pacijenti sa T2D i povišenim CRP-om imaju veći rizik za pojavu KVB (314). U velikoj studiji za ispitivanje insulinske rezistencije (The Insulin Resistnace Atherosclerosis Study (IRAS)) pokazana je jasna povezanost između nivoa CRP-a i stepena insulinske rezistencije (319), zbog čega je pretpostavljeno da hronična inflamacija može predstavljati okidački faktor za razvoj insulinske rezistencije (251). Takođe poznato je da centralni tip gojaznosti direktno utiče na porast nivoa CRP. U tom

smislu novije studije ukazuju da je nivo CRP kod gojaznih pacijenata sa T2D značajnije povezan sa stepenom gojaznosti nego nivoom insulinske rezistencije i samim dijabetesom (320). Vrednosti CRP jasno koreliraju sa ITM (321) i smanjuju se nakon redukcije telesne težini (322). U populacionoj ATTICA studiji koja je analizirala faktore rizika za KVB kod 3000 ispitanika, pokazano je da adekvatna primena dijetetskog režima redukuje nivo CRP-a, IL-6, fibrinogena i homocisteina (323).

CRP se sekretuje u jetri nakon stimulacije IL-6 i TNF- α , ali ga mogu sekretovati i zreli adipociti nakon stimulacije TNF- α i rezistinom (324). Bitno je naglasiti da je u eksperimentalnim uslovima jasno pokazano da je masno tkivo značajan izvor CRP u organizmu (325), kao i da humani adipociti, a ne preadipociti u in vitro uslovima povećavaju produkciju CRP nakon izlaganja pro-inflamatornim citokinima kao što su IL-6, TNF- α i rezistin (326).

Takođe je pokazano da povišeni nivo CRP-a može predstavljati prediktor pojave arterijske hipertenzije kod prehipertenzivnih ali i normotenzivnih osoba (274,277,327). I pored ubedljivih dokaza na velikom broju pacijenata i dalje ostaje pitanje da li terapija povišenog nivoa CRP-a kod normotenzivnih osoba može prevenirati pojavu arterijske hipertenzije. Istovremeno povezanost nivoa CRP i vrednost krvnog pritiska kod hipertenzivnih osoba nije toliko ekskluzivna.

Da CRP nije samo jednostavni inflamatorni marker koji povećava kardiovaskularni rizik, pokazuju mnoge studije. CRP povećava produkciju ICAM 1 i MCP 1 u endotelijalnim ćelijama (328,329). Pretpostavlja se da su ta dva molekula vrlo važna u procesima ateroskleroze. CRP stimuliše sintezu tkivnih faktora i aktivira komplement. In vitro studije su pokazale da se agregati CRP vezuju za LDL i VLDL aktiviraju komplement i iniciraju koagulaciju. Istovremeno CRP potentno smanjuje transkripciju NO sintetaze, smanjujući oslobađanje NO u endotelnim ćelijama, za šta se smatra da je ključni korak u razvoju procesa endotelne disfunkcije koji dovodi do pojave ateroskleroze i arterijske hipertenzije (330). Ipak do sada je u samo nekoliko studija jasno pokazana veza između porasta nivo inflamatornih markera IL-6, TNF-alfa i hsCRP i pojave arterijske hipertenzije (277,310,331).

1.2.6. Antioksidantni status i arterijska hipertenzija

U prethodnim studijama je pokazano da stvaranje slobodnih radikala i posledično oksidativni stres ima veoma značajnu ulogu u patogenezi kako T2D tako i arterijske hipertenzije (332-334).

Oksidativni stres je definisan ekscesom u formiranju i/ili nedovoljnom otklanjanju visoko reaktivnih molekula kao što su reaktivni kiseonični vrste (Reactive Oxygen Species (ROS)) i reaktivni azotne vrste (Reactive Nitrogen Species (RNS)) (335,336). ROS uključuje slobodne radikale kao što su: superoksid, hidroksil, peroksil i hidroperoksil kao i neradikalne vrste kao što je vodonik peroksid (335,337). RNS uključuje slobodne radikale kao što su azot oksid (NO) i azot dioksid, kao i neradikalne vrste: peroksinitrit, nitritni oksid i alkil peroksinitrite (335,337).

NO u fiziološkim uslovima proizvodi endotelna NOS endotelne ćelije vaskulature iz L-arginina. NO utiče na endotelijum zavisnu vazorelaksaciju ostvarujući svoje dejstvo preko guanil ciklaze u glatkomišićnim ćelijama vaskulature. Inicirajući tako proces vazorelaksacije. Pored toga NO ima antiproliferativna dejstva inhibišući adheziju trombocita i leukocita za vaskularni endotelijum. Iz navedenih razloga NO se smatra vazoprotektivnim molekulom. Međutim NO brzo reaguje sa superoksidom formirajući peroksinitrit i pokrećući kaskadu štetnih događaja (335).

Produkcija nekog od ROS ili RNS može dovesti do lančane reakcije slobodnih radikala. U fiziološkim uslovima aktivacijom odbrambenih mehanizam Mn superoksid dismutaze (SOD) u mitohondrijama ili Cu-SOD u citosolu dolazi do eliminacije slobodnih radikala (338). U antioksidativnoj odbrani u uklanjanju pre svega peroksida značajnu ulogu ima i glutathion peroksidaza (GSH-Px) u mitohondrijama. Drugi enzim koji je značajan u odbrani od oksidativnog stresa je glutathion reduktaza, koja nadoknađuje glutathion utrošen aktivnošću GSH-Px (336).

Na eksperimentalnim modelima hipertenzije uključujući spontanu hipertenziju, renovaskularnu hipertenziju, deoksikortikosteron acetat-so model i gojaznošću indukovanu hipertenziju pokazano je da oksidativni stres učestvuje u patogenezi arterijske hipertenzije. Jasno je pokazano da infuzija SOD značajno smanjuje nivo krvnog pritiska kod spontanu hipertenzivnih pacova (339). Iako rezultati studija u

humanoj populaciji nisu toliko ubedljivi, postoje dokazi da je oksidativni stres povećan kod pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom, renovaskularnom hipertenzijom, so senzitivnom hipertenzijom (340-342). Ispitivanja antioksidantne aktivnosti i produkata lipidne peroksidacije kod hipertenzivnih osoba su pokazala povećanu koncentraciju ROS i smanjenu antioksidantnu aktivnost kako u serumu (343) tako i u vaskularnom zidu (344). Tačni mehanizmi odgovorni za porast ROS u uslovima postojanja arterijske hipertenzije još uvek su predmet brojnih ispitivanja, iako je pretpostavljeno da je u osnovi njihova povećana produkcija odnosno smanjena eliminacija. Kod pacijenata sa arterijskom hipertenzijom, pa čak i kod normotenzivnih prvih rođaka hipertenzivnih pacijenata jasno je pokazana povećana produkcija vodonik peroksida (345,346). U eksperimentalnim modelima opisuju se 3 ključna enzima u ovim procesima: NADPH oksidaza, ukuplovana endotelijalna NO sintetaza i ksantinoksidaza (347). Povećana produkcija ROS u glatkomišićnim vaskularnim ćelijama rezistentnih arterija hipertenzivnih pacijenata povezana je povećanom aktivnošću vaskularne NADPH oksidaze (348,349). Značaj NADPH oksidaze u humanim kardiovaskularnim bolestima pokazana je otkrivanjem polimorfizma gena za ovaj enzim koji je doveden u vezu sa pojavom ateroskleroze i arterijske hipertenzije (350). Pored povećane produkcije ROS, smanjena antioksidantna aktivnost značajno doprinosi oksidativnom stresu kod pacijenata sa arterijskom hipertenzijom. Smanjena aktivnost antioksidantnih enzima pre svega SOD i GSH-Px u plazmi i perifernim polimorfonuklearima je pokazana kod hipertenzivnih pacijenata (351-354). Istovremeno je pokazano da aktivnost SOD-a inverzno korelira sa visinom krvnog pritiska (354).

U cilju sveobuhvatnije procene ukupne antioksidantne aktivnost promovisano je određivanje totalnog antioksidantnog statusa (TAS). Test je prvi put opisao Miller početkom 90 godina prošlog veka (355), koji je tokom godina usavršavan. U radovima većine autora jasno je pokazano da je u uslovima postojanja T2D, a posebno u uslovima postojanja ateroskleroznih komplikacija, značajno smanjena ukupna antioksidantna aktivnost (356,357). Smanjena ukupna antioksidantna aktivnost pokazana je i kod pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom (358). U uslovima primene odgovarajuće dijeta koja je dovela do redukcije telesne težine, ali i značajnog sniženja krvnog pritiska došlo je do značajnog smanjenja ukupne antioksidantne aktivnosti (359).

Ipak uloga oksidativnog stresa u patogenezi arterijske hipertenzije i dalje nije u potpunosti razjašnjena, mada je preovlađujuće shvatanje da je oksidativni stres produkcijom aktivnih slobodnih radikala i lipidnih peroksida, kao i inhibicijom oslobađanja NO u osnovi oštećenja endotela. Smatra se da donekle različiti podaci iz različitih istraživanja mogu u osnovi poticati i od tehničkih problema kao što su različiti načini u pripremanju plazme, u kojoj se enzimi određuju, različite biohemijske metode detekcije, vreme uzimanja uzoraka, malog broja ispitanika, a verovatno i najčešći uzrok uključujući kriterijumi za selekciju ispitanika u tim studijama (360). Iz svih ovih razloga mehanizmi koji doprinose pojavi oksidativnog stresa, kao i doprinos faktora ili mehanizama koji kontrolišu normalan vaskularni tonus i dalje ostaju predmet istraživanja.

1.2.7. Endotelna disfunkcija i arterijska hipertenzija

Vaskularni endotelijum je važan parakrini organ koji reguliše vaskularni tonus, proliferaciju glatkih mišića i inflamaciju tako doprinosi patogenezi arterijske hipertenzije ali i razvoju ateroskleroze u T2D.

Arterijska hipertenzija je rezultat odsustva sposobnosti normalne vazodilatacije. Intereakcija između endotelijalnih ćelija i glatkomišićnih ćelija je veoma značajna u ovom procesu. Značajan doprinos u razumevanju uloge endotelijuma u patogenezi arterijske hipertenzije dali su 80-ih godina prošlog veka Furchgott i Zawadzki (361). Endotelijum čine grupa ćelija koje proizvode supstance koje su značajne u regulaciji vaskularnog tonusa, kao što su angiotenzin II, NO, endotelin i prostaglandini. NO je osnovna supstanca koja reguliše vazokonstrikciju i vazodilataciju, migraciju leukocita, rast glatko mišićnih ćelija i adhezivnih molekula (362). NO u fiziološkim uslovima proizvodi endotelijalna NOS endotelnih ćelija vaskulature iz L-arginina (362). NO utiče na endotelijum zavisnu vazorelaksaciju ostvarujući svoje dejstvo preko guanil ciklaze u glatkomišićnim ćelijama vaskulature, inicirajući tako proces vazorelaksacije. Normalan endotelijum obezbeđuje vaskularni tonus i viskoznost cirkulišuće krvi, sprečavajući koagulaciju i krvavljenje, ograničavajući inflamaciju vaskulature i sprečavajući proliferaciju glatkomišićne muskulature (362,363). Normalan endotelijum obezbeđuje

balans između vazodilatacije i vazokontrikcije. U patološkim uslovima, uključujući kardiovaskularne faktore rizika, endotelijum podleže funkcionalnim i strukturnim promenama, gubeći na taj način svoju protektivnu ulogu, postajući proaterogena struktura (362). U najranijim fazama, alteracija endotelijuma je dominantno funkcionalna i tada se definiše kao endotelna disfunkcija.

U uslovima endotelne disfunkcije dolazi do brojnih abnormalnosti, a pre svega dolazi do smanjene produkcije NO-a na fiziološke signale i redukovanja aktivnosti NOS. Smanjen nivo NO-a vodi porastu ekspresije adhezivnih molekula i pokretanju inflamatornih procesa koji su u osnovi ateroskleroze, porasta inflamacije, hipertrofije glatkomišićnih ćelija, promocije tromboze i vazokontrikcije, dovodeći do razvoja ateroskleroznog plaka (362,364). Kako se NO u organizmu brzo menja u svoje stabilne oksidovane metabolite, merenjem nivoa ovih produkata u plazmi, kao i nivo NOS može se jasno odrediti stanje endotelne funkcije. Danas je poznato da endotelnu disfunkciju pokreću brojni adipocitokini uključujući adiponektin, TNF- α , oksidovani LDL-h aktivirajući signaline kinaze koje vode porastu produkcije ROS-a, a oni pokreću inflamatorni milje koji ima važnu ulogu u razvoja ateroskleroze u uslovima T2D, ali i arterijske hipertenzije. Slobodni radikali dalje redukuju bioraspoloživost NO-a čime se krug zatvara.

Postojanje endotelne disfunkcije je najpre pokazano kod pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom (365), a zatim i kod pacijenata sa koronarnom bolešću (366) i sa T2D (367). U novijim studijama je pokazano da endotelne disfunkcija može biti predisponirajući faktor za razvoj arterijske hipertenzije (368) i T2D (369). Postojanje endotelne disfunkcije je vrlo brzo dovedeno u vezu sa nivoom insulina i stepenom insulinske rezistencije. Poznato je da insulin izaziva vazodilataciju u skeletnim mišićima, stimulišući preuzimanje glukoze, ali u uslovima očuvane insulinske senzitivnosti. U insulin rezistentnim stanjima kao što su gojaznost, hipertenzija i T2D, insulinom posredovana vazodilatacija je smanjena, a endotelijum-zavisna vazodilatacija oštećena (370). Da situacija nije tako jednostavna pokazano je u novijim radovima. Naime, u fiziološkim uslovima (371), ali i kod gojaznih pacijenata (372) i pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom (373) pokazano je da je vaskularni odgovor na endotelijum-zavisne vazodilatatore nezavistan od stepena insulinske rezistencije. Ipak u studiji

Natalija i saradnika prvi put je jasno dovedena u vezu insulinska rezistencija i vaskularna disfunkcija u uslovima T2D (374). Istovremeno, endotelna disfunkcija je opisana i kod prvih rođaka pacijenata sa T2D, i tada je u značajnoj korelaciji sa insulinskom rezistencijom (375).

U celini, na osnovu svega navedenog danas se smatra da endotelna disfunkcija nije samo kolateralna posledica dejstva poznatih kardiovaskularnih faktora rizika, već može predstavljati mogući patogenetski mehanizam za njihovo nastajanje.

II CILJ

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

- (a) povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa stepenom insulinske rezistencije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa,
- (b) povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa izmenjenim metabolizmom lipoproteina kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.
- (c) povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa poremećajem adipocitokina kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (d) povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa poremećajem inflamatornih markera kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (e) povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa izmenjenim antioksidatnim statusom kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (f) povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa markerima endotelne disfunkcije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Radi ostvarenja navedenog cilja u radu će biti postavljeni sledeći zadaci:

- 1. Utvrditi povezanost insulinske rezistencije i arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa**
- 2. Ispitati odnos insulinske rezistencije, stepena ukupne i visceralne gojaznosti i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa**
- 3. Utvrditi povezanost insulinske rezistencije, nivoa adipocitokina i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa**

4. *Analizirati povezanost insulinske rezistencije, lipidskih parametara i arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa*
5. *Analizirati povezanost insulinske rezistencije, parametara inflamacije i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa*
6. *Proučiti povezanost insulinske rezistencije, nivoa antioksidantnog statusa i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa*
7. *Ispitati odnos insulinske rezistencije i markera endotelne disfunkcije i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa*

III METODE

3.1. Izbor ispitanika

U ispitivanje u okviru ovog rada je uključeno ukupno 80 ispitanika, oba pola, starosti 40-70 godina, koji su svrstani u sledeće grupe: 30 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa, gojaznošću i hipertenzijom (*grupa A*), 9 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa, gojaznošću bez hipertenzije (*grupa B*), 14 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa bez gojaznosti sa hipertenzijom (*grupa C*), 12 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa bez gojaznosti i bez hipertenzije (*grupa D*) i 15 ispitanika koji su činili zdravu kontrolu (*grupa E*).

U studiju su uključeni ispitanici sa T2D, koji su tretirani dijetom ili dijetom sa oralnim antidijabeticima u stanju zadovoljavajuće glikoregulacije: nivo glikoziliranog hemoglobina A1c (HbA1c) < 7.5%.

Takođe u ispitivanje su uključeni ispitanici bez manifestne ishemijske bolesti srca i drugih ateroskleroznih vaskularnih oboljenja, kao i bez drugih oboljenja koja pogoršavaju glikoregulaciju.

Našim ispitivanjem obuhvaćeni su ispitanici sa arterijskom hipertenzijom, ali bez maligne hipertenzije, kongestivne srčane insuficijencije, kardiomiopatije, renalne insuficijencije, dijabetesne nefropatije, nefrogene i endokrine hipertenzije, s obzirom da u njihovoj etiopatogenezi dominantnu ulogu nema prisustvo insulinske rezistencije.

Od svakog ispitanika pre početka studije je dobijen informisani pristanak za učešće u ispitivanju u skladu sa Deklaracijom iz Helsinkija (revizija Edinburg 2000).

Postupak uključivanja ispitanika je obavljen na Odeljenju za dijagnostiku, intenzivirani tretman i ćelijsku terapiju dijabetesa, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KCS u Beogradu, gde je na osnovu dijagnostičkih postupaka ustanovljeno prisustvo i stepen regulisanja T2D, prisustvo stepena gojaznosti i arterijske hipertenzije.

3.2. *Plan testiranja ispitivanih grupa pacijenata*

U svakog ispitanika, nivo insulinske senzitivnosti je evaluiran korišćenjem dve komplementarne metode merenja insulinske senzitivnosti: (a) metodom određivanja OGIS (Oral Glucose Insulin Sensitivity) indeksa u toku oralnog testa glukoze tolerancije (oral glucose tolerance test, OGTT) sa određivanjem glikemije i insulinemije i kompjuterskom obradom dobijenih rezultata radi dobijanja parametra senzitivnosti, koji prvenstveno odražava senzitivnost na nivou perifernih tkiva (28) i (b) metodom modela homeostaze, tj. određivanjem bazalnih vrednosti insulinemije i glikemije i izračunavanjem indeksa korišćenjem odgovarajuće formule radi dobijanja parametra insulinske rezistencije HOMA-IR, koji prvenstveno odražava hepaticku komponentu insulinske senzitivnosti (30). Korišćenje dve komplementarne metode u istog ispitanika je primenjeno zbog sveobuhvatnosti evaluacije insulinske senzitivnosti. Takođe, u svakog ispitanika određivan je indeks telesne mase i raspored masnog tkiva, prisustvo arterijske hipertenzije, određivan je nivo insulinemije, nivo adipocitina, nivo parametara inflamacije, antioksidantnog statusa i nivo ukupnog, HDL- i LDL- holesterola i triglicerida u serumu i markera endotelne disfunkcije u bazalnim uslovima. Takođe kod svakog ispitanika je meren arterijski pritisak i određivan nivo mikroalbuminurije u 24h urinu.

Pre testiranja ispitanici su bili u stanju 12-časovnog gladovanja. Kod pacijenata sa dijabetesom tretiranih oralnim antidijabeticima, prekid terapije ostvaren je 24h pre testiranja, a u slučaju postojanja i druge terapije, prekid antihipertenzivne terapije i terapije hipolipemicima na dan ispitivanja.

Pre započinjanja ispitivanja svakom ispitaniku direktno je objašnjeno predviđeno ispitivanje i uz njihov pristanak ispitivanje je dalje sprovedeno.

Sva navedena testiranja obavljena su na Odeljenju za dijagnostiku, intenzivirani tretman i ćelijsku terapiju dijabetesa, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KCS.

3.3. Dijagnoza tipa 2 dijabetesa

Postojanje dijabetesa je utvrđeno na osnovu dve uzastopno utvrđene vrednosti glikemije našte > 7.0 ili na osnovu vrednosti glikemije > 11.1 mmol/l 2h posle unosa 75g glukoze u oralnom testu tolerancije glukoze (OGTT) (20).

3.4. Dijagnoza arterijske hipertenzije (AT)

Određivanje arterijskog pritiska je obavljeno u tri odvojena merenja nakon odmora od 10 minuta u sedećem položaju sfingomanometrom korišćenjem odgovarajuće manžetne.

Postojanje arterijske hipertenzije je utvrđeno prema 7th Report of Joint National Committee of Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC-7), normotenzivni (sistolni i dijastolni krvni pritisak) $< 120/80$ mmHg, prehipertenzivni: sistolni krvni pritisak 120-139mmHg ili dijastolni 80-89mmHg i hipertenzivni, sistolni krvni pritisak ≥ 140 ili dijastolni krvni pritisak > 90 mmHg (7).

3.5. Određivanje indeksa telesne mase (ITM)

U svakog ispitanika obavljeno je merenje telesne težine (TT) u kilogramima (kg) i telesne visine (TV) u metrima (m) i na osnovu toga izračunat ITM prema sledećoj formuli:

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

Postojanje gojaznosti je definisano indeksom telesne mase (ITM): gojazni pacijenti $\text{ITM} \geq 25\text{kg/m}^2$ i negojazni pacijenti $\text{ITM} < 25\text{kg/m}^2$.

3.6. *Određivanje telesnog sastava*

U svakog ispitanika, u stojećem položaju, u laganoj odeći bez obuće obavljeno je merenje telesnog sastava metodom bioimpedance uz pomoć posebne vage Tanita, TBF-300A.

U osnovi ovog merenja je određivanje otpora, impedance, koja reflektuje telu svojstvenu rezistenciju na električni udar, pri čemu mišićno tkivo deluje kao provodnik, a masno tkivo kao izolator. Kompjuterskom obradom izmerenih i unetih vrednosti (pola, telesne visine, stepena fizičke kondicije) dobijene su vrednosti udela masnog tkiva u ukupnoj telesnoj težini pacijenta, izraženog u procentima (FAT%), fat free mass (FFM) koju čine sva ostala tkiva u organizmu koja ne sadrže mast (mišićno tkivo, kost i voda), total body water (TBW) odražava ukupnu količinu vode u telu, body mass index (BMI)-ITM, basal metabolic rate (BMR) odražava ukupnu količinu energije koju telo troši za održanje bazalnih fizioloških funkcija kao što su respiracija i cirkulacija i fat mass (FM) koja odražava ukupnu količinu masti koju telo sadrži izraženu u kilogramima.

3.7. *Određivanje rasporeda masnog tkiva*

U svakog ispitanika, u stojećem položaju, obavljeno je merenje obima struka na nivou umbilikusa.

3.8. *Utvrdjivanje stepena insulinske senzitivnosti metodom oralne glukozne senzitivnosti - OGIS*

Insulinska senzitivnost evaluirana je oralnim testom glukozne tolerancije i kompjuterskom obradom dobijenih rezultata korišćenjem metode A. Marija (28) radi određivanja parametara insulinom posredovanog korišćenja glukoze (insulinska senzitivnost). Pokazano je da je ova metoda određivanja insulinske senzitivnosti komplementarna sa metodom koja predstavlja zlatni standard za određivanje insulinske senzitivnosti, odnosno euglikemijskim-hiperinsulinemijskim klampom (28). Posebno u uslovima tipa 2 dijabetesa, u kojima su drugi indeksi insulinske senzitivnosti

nekomparabilni sa klampom (test minimalnim modelom, HOMA indeksi i drugi indeksi izvedeni iz OGTT-a). Takođe korišćenjem OGIS indeksa odnosi između insulinske senzitivnosti i drugih varijabli, kao što je indeks telesne mase, funkcija β ćelija je u korelaciji sa razlikama u ispitivanim grupama uzimajući u obzir patofiziologiju tipa 2 dijabetesa.

Tokom standardnog 2hOGTT uzimani su uzorci za određivanje nivoa glukoze i insulina u plazmi neposredno pre i 30-og, 60-og, 90-og, 120-og minuta posle peroralne ingestije 75 gr glukoze u obliku 50% rastvora u periodu od 3 minuta.

Obrada vrednosti glikemije i insulinemije obavljena je korišćenjem kompjuterskog programa radi određivanja indeksa OGIS prema metodi A. Marija i saradnika, koji je dostupan na <http://www.ladseb.pd.cnr.it/bioing/ogis/home.html>.

Ovaj model procene insulinske senzitivnosti bazira na jednačini koja predviđa klirens glukoze tokom hiperinsulinemijskog-euglikemijskog klampa korišćenjem nivoa glikemije i insulinemije tokom OGTT-a. Jednačina je dobijena na osnovu modela odnosa glukoze i insulina, koja je bazirana na definisanim principima kinetike glukoze i aktivnosti insulina. Izvedena jednačina zahteva znanje parametara koji ne mogu biti direktno dobijeni iz OGTT-a. Prema klirensu glukoze tokom klampa mogu se odrediti nepoznati parametri iz OGTT-a.

Osnova modela je pretpostavka da je odnos između klirensa glukoze i koncentracije insulina (Cl , $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) linearna funkcija predstavljena jednačinom:

$$Cl = Clb + S \Delta I \quad (1)$$

Clb ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) - bazalni klirens glukoze

ΔI ($\mu\text{U}/\text{ml}$) - porast preko bazalne koncentracije insulina

S [$(\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2})/(\mu\text{U}/\text{ml})$] - zakrivljenost linije.

Ova jednačina predstavlja prediktor glukoznog klirensa u odnosu na referentni porast insulina ΔI , gde su Clb i S poznate varijable u uslovima fiziološke koncentracije insulina.

S obzirom da su promene fluksa glukoze i njene koncentracije tokom OGTT-a graduisane, glukozna kinetika tokom OGTT-a predstavlja jednokompartmentni model koji se može opisati sledećom jednačinom:

$$V dG(t)/dt = Cl(t)G(t) + Ra(t) \quad (2)$$

G (mg/ml) - koncentracija glukoze

V (ml/m²) - distribucija zapremine glukoze

Cl (ml · min⁻¹ · m⁻²) - klirens glukoze

Ra (mg · min⁻¹ · m⁻²) - brzina pojavljivanja glukoze i predstavlja sumu produkovane i unete glukoze.

Za V , koja se ne može odrediti iz OGTT-a, pretpostavljena je vrednost od 10 l/m², koja predstavlja ukupnu zapreminu glukoze (10 l/m² · 1.7 m²/70 kg = 243 ml/kg) (13). Inicijalni steady-state za stanje u jednačini 2 je $G(0) = Ra(0)/Cl(0)$, gde vrednosti u tački 0 predstavljaju bazalne vrednosti. Pretpostavljeno je da $Cl(t)$ u jednačini 2 je u vezi sa jednačinom 1 porast koncentracije insulina u kompartmentu iz plazme i definisan je kao $\Delta I_r(t)$ (11,14). Na osnovu ovih pretpostavki jednačina 2 postaje :

$$V dG(t)/dt = -[Cl_b + S \Delta I_r(t)] G(t) + Ra(t) \quad (3)$$

Jednačina 3 rešava vrednost S , tretirajući druge varijable kao poznate i ekspresija S se može ubaciti u jednačinu 1. S obzirom da je $Cl_b = P_b/G_b$, gde G_b i P_b predstavljaju bazalnu koncentraciju glukoze i njenu produkciju, a jednačina za predviđanje klirensa glukoze za targetni porast koncentracije insulina ΔI je kako sledi

$$Cl = \frac{\Delta I}{\Delta I_r(t)} \left[\frac{Ra(t) - V dG(t)/dt}{G(t)} + \frac{P_b(\Delta I_r(t)/\Delta I - 1)}{G_b} \right] \quad (4)$$

Prema: Mari A, Pacini G, Murphy E et al: A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*. 2001, 24: 539-548

Jednačina 4 je osnova predvidljivog glukoznog klirensa tokom klampa. S obzirom da u jednačini 4 većina varijabli nepoznata, postavljene su sledeće pretpostavke. Najpre su evaluirani vremenski zavisni fenomeni u tački $t=120$ min, gde je korišćena jednačina $G(120)$, $dG(120)/dt$, $Ra(120)$, I $\Delta Ir(120)$. Polazeći od činjenice da tokom vremena glukozna dispozicija, dovodi do porasta insulinske sekrecije i postiže maksimum oko 120 minuta, odnosno u 2h OGTT-u, nakon čega dolazi do značajnog pada koncentracije glukoze. Drugo, evaluiran je $dG(t)/dt$ as $[G(180) - G(120)]/60$. Treće, pošto je $Ra(120)$ konstantna frakcija doze oralno unete glukoze DO (g/m^2), $Ra(120) = p_1 DO$. Četvrto, izračunat je $\Delta Ir(120)$ kao:

$$\Delta Ir(120) = I(120) - I(0) + p_2 \quad (5)$$

I ($\mu U/ml$) – koncentracija insulina.

Zaista, koncentracija insulina na mestu dejstva (ΔIr) je zakasnela u odnosu na nivo insulina u plazmi. Međutim, s obzirom da je oko $t = 120$ min u proseku koncentracija insulina relativno stabilna, razlika između porasta koncentracije insulina u plazmi i ΔIr je očekujuće mala. Potrebno je takođe razložiti parametar p_2 sprečavajući da $\Delta Ir(120)$ teži nuli, kada je nizak sekretorni odgovor insulina, što bi doprinelo da klirens glukoze izračunat prema jednačini 4 bude ekstremno visok. Peto, pojednostavljena je druga frakcija u jednačini 4

$$\frac{P_b (\Delta Ir(t) / \Delta I - 1)}{G_b} = \frac{p_3}{G(0)}$$

p_3 – parametar (6)

Ovo je uslovljen teškoćom formulacije efektne ekspresije P_b i ograničenja prediktora ΔIr . Šesto, pretpostavljena je fiksna vrednost targetnog porasta u koncentraciji insulina ΔI . Nije određena a priori fiksna vrednost ΔI već je ΔI uključena u modelu parametara iz izmerenih vrednosti, $\Delta I = p_4$. S obzirom da glukozni klirens na osnovu jednačine 4 je proporcionalan ΔI , parametar p_4 se može smatrati scaling

faktorom. Na osnovu ovih pretpostavki i dodeljivanjem vrednosti parametrima p_1 - p_6 , u jednačini 4 nastaje formula za izračunavanje klirensa glukoze na osnovu OGTT-a. Međutim, ovako dobijena vrednost glukoznog klirensa (CLOGTT) nije direktno proporcionalna sa glukoznim klirensom dobijenim tokom euglikemijskog klampa. Zapravo, klirens glukoze ne zavisi od koncentracije glukoze, a nivo glukoze tokom OGTT-a su često značajno viši, nego oni tokom klampa, posebno u uslovima dijabetesa. Da bi predvideli klirens glukoze u uslovima euglikemije, predstavljena je korekcija nivoa glikemije. Pretpostavljeno je da je odnos između klirensa glukoze tokom klampa u uslovima euglikemije (CIEU) i glukoznog klirensa izračunatog iz OGTT-a (CLOGTT) predstavljen jednačinom:

$$\frac{Cl_{gu}}{Cl_{OGTT}} = p_3 \left(1 + \frac{p_6}{Cl_{gu}} \right) [G(120) - G_{clamp}] + 1 \quad (7)$$

G_{CLAMP} – koncentracija glukoze u klampu (normalno 5mmol/l)

$G(120)$ reprezentativna vrednost glukozne koncentracije tokom OGTT-a

p_5 i p_6 – parametric

Jednačina 7 donosi dva principa: glukozni klirens opada sa porastom glukozne koncentracije (odnos klirensa glukoze tokom klampa i OGTT-a linearano raste kako raste koncentracija glukoze tokom OGTT-a); smanjenje glukoznog klirensa je značajnije za niže nego za više vrednosti (zakrivljenost linije je veća pri nižim nego pri višim vrednosti CIEU). Jednačina 7 i kvadrirana jednačina u CIEU, koja može biti razložena standardnim tehnikama. Tako, jednačina za predviđanje glukoznog klirensa tokom klampa, na osnovu OGTT-a uključuje jednačinu radi izračunavanja CLOGTT, koja je izvedena iz jednačine 4, uključujući gore navedene pretpostavke i korekciju za nivo glukoze, što rezultuje rešenjem jednačine 7.

$$\begin{aligned}
 Cl_{OGTT} &= \\
 & \frac{p_1 D_0 - V[G(180) - G(120)]/60}{G(120)} + \frac{p_3}{G(0)} \\
 & p_4 \frac{I(120) - I(0) + p_1}{I(120) - I(0) + p_1} \\
 B &= [p_5(G(120) - G_{CLAMP}) + 1] Cl_{OGTT} \quad (8) \\
 Cl_{EU} &= \\
 & \frac{1}{2} \left[B + \sqrt{B^2 + 4p_5 p_6 (G(120) - G_{CLAMP}) Cl_{OGTT}} \right]
 \end{aligned}$$

Prema: Mari A, Pacini G, Murphy E et al: A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*. 2001, 24: 539-548

Jednačina 8 zahteva dozu oralno unete glukoze DO, glukozne koncentracije G(0), G(120), G(180), i koncentraciji insulina u I(0) i I(120). Ove vrednosti mogu biti specifikovane u različitim jedinicama, obezbeđujući parametre p₁-p₆ sledstveno. U tabeli 2 date su vrednosti GCLAMP, V i p₁-p₆ za uobičajne i SI jedinice.

Table 2—Parameters of Eq. 8

	3-h OGTT (OGIS ₁₈₀)		2-h OGTT (OGIS ₁₂₀)	
	Common units	SI units	Common units	SI units
p ₁	289	2.89	650	6.50
p ₂	270	1,618	325	1,951
p ₃	14.0 10 ³	779	81.3 10 ³	4,514
p ₄	440	2,642	132	792
p ₅	637 10 ⁻⁶	11.5 10 ⁻³	652 10 ⁻⁶	11.8 10 ⁻³
p ₆	117	117	173	173

Parameters differ depending on the units used for measuring glucose concentration, insulin concentration, and the oral glucose dose. The table reports the values for the common units (mg/dl glucose, μU/ml insulin, and g/m³ oral glucose dose) and for the SI units (mmol/l glucose, pmol/l insulin, and mmol/m³ oral glucose dose). The parameters of Eq. 8 not reported in the table are V, 10⁴ ml/kg (both common and SI units); and G_{CLAMP}, 90 mg/dl (common units) or 5 mmol/l (SI units). Units for the parameters in the table are not reported, as not relevant.

Prema: Mari A, Pacini G, Murphy E et al: A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*. 2001, 24: 539-548.

Jednačina 8 bazira na 3-h OGTT-u. Takođe je moguće izvesti ove vrednosti za 2-h OGTT-u, koji predstavlja najčešće korišćeni protokol za OGTT. Tada u jednačini 8, vrednosti G(120), G(90), i I(90) zamenjuju vrednosti G(180), G(120), i I(120), sledstveno. Takođe, u izvedenim vrednostima koncentracije glukoze, interval merenja je

30 umesto 60 minuta. Jednačina 8 za 2h OGTT-a zahteva i dodatne parametre, koji su takođe definisani u tabeli br. 2.

Jednačina 8 se lako implemetuje u excell spreadsheet koji se može kopirati sa sajta <http://www.ladseb.pd.cnr.it/bioing/ogis/home.html>). Indeks insulinske senzitivnosti prema jednačini 8 je predstavljen skraćenicom OGIS koja odgovara oralna glukozna insulinska senzitivnost sa subskriptom 180, odnosno 120 za 3h ili 2h protokol OGTT-a.

3.9. Uvrđivanje stepena insulinske senzitivnosti homeostaznim modelom HOMA-IR

Insulinska senzitivnost evaluirana je i homeostaznim modelom HOMA-IR (30) na osnovu vrednosti glikemije i insulinemije u bazalnim uslovima. Vrednost HOMA-IR izračunata je po sledećoj formuli:

$$\text{HOMA-IR} = \text{insulinemija (mU/l)} \times \text{glikemija (mmol/l)} / 22.5$$

3.10. Oralni test tolerancije glukoze (OGTT)

U pripremi za test ispitanicima je objašnjeno da tri dana pre testiranja budu na normalnoj ishrani sa unošenjem 150 gr ugljenih hidrata dnevno, a test je obavljen našte, nakon 12h gladovanja, uz izostavljanje jutarnje terapije.

Stimulacija glukozom je obavljena peroralnom ingestijom 75 gr glukoze u obliku 50% rastvora u periodu od 3 minuta. Uzorci venske krvi za određivanje nivoa glikemije i insulinemije u serumu uzimani su u bazalnim uslovima neposredno pre stimulacije glukozom (0 minut) i posle stimulacije u 30., 60., 90. i 120. minutu testa.

3.11. Određivanje nivoa insulinemije u serumu

Vrednost nivoa insulinemije u serumu određena je metodom radioimunoeseja (pribor INEP Zemun).

3.12. Određivanje nivoa glikemije u serumu

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

3.13. Određivanje nivoa glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) u krvi

Vrednost nivoa HbA1c u krvi određena je metodom afinitetne hromatografije na kolonama fenilborne kiseline (pribor BioData).

3.14. Određivanje nivoa adiponektina u serumu

Vrednost nivoa adiponektina u serumu je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Mercodia).

Za određivanje nivoa adiponektina u serumu uzeto je 5ml venske krvi koja je centrifugirana 15 minuta na 4000 obrtaja /min, izdvojeni serum je zamrznut i čuvan na temperaturi od -20°C do analize.

ELISA test za određivanje adiponektina je zasnovan na direktnoj sendvič tehnici sa dva monoklonska antitela za dve različite antigenske determinante na molekulu adiponektina. Tokom prve inkubacije, adiponektin iz seruma reaguje sa anti-adiponektin antitelima koja su vezana za prostore za mikrotitraciju. Nakon ispiranja, dodavanjem peroksidaze nastaje kompleks: peroksidazom konjugovano anti-adiponektin antitelo koje ostaje vezano za čvrstu fazu, a ponovnim ispiranjem se uklanjaju nereaktivne komponente iz seruma. Vezani konjugati su određivani reakcijom sa 3,3',5,5'-tetrametil benzidinom. Reakcija je zaustavljena dodavanjem kiseline, a dobijeni obojeni krajni produkti su očitani spektrofotometrijski.

Ovom metodom se detektuju heksameri (LMW 230 kDa) i oligomeri (HMW > 420kDa) adiponektina.

Donja granica detekcije adiponektina opisanim metodom je 1,25ng/ml.

3.15. Određivanje nivoa leptina u plazmi

Vrednost nivoa leptina u plazmi je određivana senzitivnim humanim radioimunim (RIA) kitom (komercijalni set firme Linco).

Za određivanje nivoa leptina u plazmi uzimano je 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA. Nakon pažljivog mešanja i centrifugiranja na 3000 obrtaja /min u trajanju od 10 minuta, izdvojena je plazma koja je zamrznuta i čuvana na temperaturi od -20°C do analize. Za određivanje nivoa leptina korišteno je 50 - 100 μl plazme.

RIA test za određivanje leptina zasnovan je na primeni fiksne koncentracije radioaktivno-obebeženog antigena (trejser) sa konstantnim razblaženjem antiseruma tako da je broj vezujućih mesta na antitelu limitiran, tako da samo 50% od ukupne koncentracije trejsera može da se veže za antitelo. Dodavanjem neobebeženog antigena u takav rastvor razvija se kompeticija za vezujuća mesta na antitelu između obebeženog trejsera i neobebeženog antigena. Na taj način koncentracija trejsera vezanog za antitelo opada ukoliko raste koncentracija neobebeženog antigena. Nakon odvajanja od antitela koncentracija radioaktivnog trejsera je određivana u gama brojaču. Kalibraciona kriva je napravljena za rastuće koncentracije standardnog neobebeženog antigena a na osnovu nje izračunata je nepoznata koncentracija antigena.

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

Senzitivnost ovog eseja 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/ m^2 je: muškarci 3.8 ± 1.8 ng/ml i žene 7.4 ± 3.7 ng/ml.

3.16. Određivanje nivoa rezistina u plazmi

Vrednost nivoa rezistina u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme AlpcO).

Za određivanje nivoa rezistina u plazmi uzeto je 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA. Nakon pažljivog mešanja i centrifugiranja na 3000 obrtaja /min u trajanju od 10 minuta, izdvojena je plazma koja je zamrznuta i čuvana na temperaturi od -70°C do analize.

ELISA test za određivanje ultrasenzitivnog rezistina je zasnovan na primeni monoklonskog antitela za humani rezistin kojim je obloženo svako udubljenje za mikrotitraciju. Tokom inkubacije dodavani su standardi u udubljenja, dok se rezistin vezuje za antitelo vezano za zidove. Vezani rezistin je odvajan sa poliklonskim antitelom, biotinilatid anti-humani rezistin (HRP). Zatim je dodavan streptavidinom konjugovani HRP. Nakon ispiranja dodati su hromogeni rastvori I i II za detekciju konjugata. Reakcija je zaustavljena dodavanjem fosforne kiseline, a dobijeni obojeni krajni produkti su očitavani spektrofotometrijski na 450 nm.

Gornja granica detekcije rezistina ovom metodom je 100 pg/ml.

3.17. Određivanje nivoa standardnih parametara inflamacije

Nivo parametara inflamacije: nivo C reaktivnog proteina (CRP) je određivan ELISA metodom, a nivo fibrinogena koagulometrijom-pribor ACL-Instrument Laboratory.

3.18. Određivanje nivoa TNF- α u plazmi

Vrednost nivoa TNF- α u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Alpco).

Za određivanje nivoa TNF- α u plazmi uzimano je 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA. Nakon pažljivog mešanja i centrifugiranja na 3000 obrtaja/min u trajanju od 10 minuta, izdvojena je plazma koja je zamrznuta i čuvana na temperaturi od -70°C do analize.

ELISA test za određivanje TNF- α je zasnovan 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 su dodavani 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. Nakon ispiranja uklanjan je višak drugog antitela i dodavan je enzim Streptavidin peroksidaza koji se vezuje za biozinitalid antitelo činići četvoročlani sendivič. Nakon druge inkubacije i ponovnog ispiranja uklanjan je nevezani enzim, dok su vezani konjugati određivani reakcijom sa tetrametil benzidinom. Reakcija je zaustavljena dodavanjem kiseline, a dobijeni krajnji obojeni produkti su očitavani spektrofotometrijski na 450 nm.

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

3.19. Određivanje nivoa IL-6 u plazmi

Vrednost nivoa IL-6 u plazmi je određivana ELISA metodom (komercijalni set firme Alpco).

Za određivanje nivoa IL-6 u plazmi uzeto je 5ml venske krvi u prethodno pripremljenu epruvetu sa 0,5 ml EDTA. Nakon pažljivog mešanja i centrifugiranja na 3000 obrtaja/min u trajanju od 10 minuta, izdvojena je plazma koja je zamrznuta i čuvana na temperaturi od -70°C do analize.

ELISA test za određivanje IL-6 je zasnovan na direktnoj sendivič 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 su dodavani 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, dodavan je biotinitalid, monoklonsko antitelo za IL-6 koje se u toku druge inkubacije veže za fiksirani antigen IL-6. Posle uklanjanja viška drugog antitela, dodavan je enzim Streptavidin peroksidaza koji se vezuje za biozinitalid antitelo činići četvoročlani sendivič. Nakon treće inkubacije i ponovnog ispiranja uklanjan je nevezani enzim, dok su vezani konjugati određivani reakcijom sa tetrametil benzidinom, koji sa vezanim enzimom prave obojene produkte. Reakcija je zaustavljena dodavanjem kiseline, a dobijeni krajnji obojeni produkti su očitavani spektrofotometrijski na 450 nm.

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

3.20. Određivanje nivoa antioksidantnog statusa

Nivoa antioksidantnog statusa, glutation peroksidaze (GSH-Px), superoksid dizmutaze (SOD), totalnog antioksidantnog statusa (TAS) i glutation reduktaza (GR) metodom spektrofotometrije.

3.21. Određivanje nivoa azot oksida 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 85µl plazme dodaje se 10µl nitrat reduktaze i 10 µl 2mM NADH. Dodavanjem obojenih reagenasa 1 i 2 u količinama od 50µl zaustavlja se enzimska reakcija, a tako izdvojeni nitriti se spektrofotometrijski određuju na 540nm uz korišćenjem Griess reagensa.

3.22. Određivanje nivoa azot oksid sintetaze u plazmi

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

Kolorimetrijska metoda za određivanje NO sintetaze u plazmi bazirana je na enzimskoj destrukciji (laktat dehidrogenaza) NADPH, kofaktora za NOS. U uzorak plazme od 60µl se najpre toplotom zaustavlja aktivnost NOS, a tako pripremljen uzorak u daljem toku služi kao standardni rastvor u kojem se upoređuje koncentracija nitrati+nitriti. Zatim se u svaki uzorak (standard i kontrola) dodaje 10 µl sveže pripremljenog rastvora NADPH i 10 µl nitrat reduktaze. Inkubiraju se na sobnoj temperaturi 40minuta. U svaki uzorak se zatim dodaje 10 µl rastvora sa kofaktorom i 10 µl rastvora LDH. Inkubacija traje 20 minuta. Po završenoj inkubaciji dodaju se Griess reagensi 1 i 2 i po razvijanju boje nakon 10 minuta na sobnoj temperaturi se vrši, kolorimetrijsko očitavanje na 540nm.

3.23. *Određivanje nivoa ukupnog holesterola (h), 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).

3.24. *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 Boehringer Mannheim).

3.25. *Određivanje nivoa slobodnih masnih kiselina (SMK)*

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

3.26. *Određivanje mikroalbuminurije*

Nivo mikroalbuminurije je određivan metodom hromatografije.

3.27. *Statistička obrada podataka*

Rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška.

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

Značajnost korelacija između varijabli ispitivana je Spirmanovim testom, logističkom i linearnom regresionom analizom ili drugim metodama čija primena je navedena u tekstu.

Sva ispitivanja urađena su uz pomoć kompjuterskog programskog paketa SPSS Windows, verzija 16.0, Microsoft.

IV REZULTATI

Prema postavljenim ciljevima i zadacima istraživanja, a primenom navedenih metoda u radu su dobijeni sledeći rezultati.

4.1. Utvrditi povezanost insulinske rezistencije i arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

U studijama praćenja pokazano je da insulinska rezistencija, merena kompenzatornom hiperinsulinemijom može prethoditi pojavi esencijalne hipertenzije (6). Istovremeno je pokazano da esencijalna hipertenzija per se predstavlja insulin-rezistentno stanje (3). U uslovima tipa 2 dijabetesa pokazana je povezanost insulinske rezistencije i simpatovagalne disregulacije u patogenezi arterijske hipertenzije, međutim koji od ovih poremećaja prethodi i dalje ostaje pitanje brojnih istraživanja (2).

U tom smislu cilj rada je bio da se utvrdi povezanost insulinske rezistencije i arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

U nameri da se ispita povezanost promene insulinske senzitivnosti, odnosno stepena insulinske rezistencije i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa u radu je analiziran nivo insulinske senzitivnosti u ovih pacijenata.

Ispitivanje je obavljeno kod ukupno 80 ispitanika, oba pola, starosti 40-70 godina: 30 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa, gojaznošću i hipertenzijom (*grupa A*), 9 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa, gojaznošću bez hipertenzije (*grupa B*), 14 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa bez gojaznosti sa hipertenzijom (*grupa C*), 12 ispitanika sa tipom 2 dijabetesa bez gojaznosti i bez hipertenzije (*grupa D*) koji su međusobno bili usklađeni prema dužini trajanja tipa 2 dijabetesa i stanju glikoregulacije i 15 ispitanika koji su činili zdravu kontrolu (*grupa E*).

Karakteristike navedenih grupa prikazane su u Tabeli 1. i Tabeli 2.

Tabela br. 1. Karakteristike ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
Pol (M/Ž)	16/14	6/3	7/7	7/5	7/8
Starost (godine)	59.47±8.91	57.67±6.94	60.50±6.11	52.25±13.04	34.00±7.52
Dužina trajanja T2D (godine)	7.59±6.53	4.44±4.26	7.50±6.80	4.91±4.21	-
Dužina trajanja HTA (godine)	9.50±10.03	-	10.79±9.21	-	-
HbA1c (%)	6.5±0.66	6.37±0.60	6.58±0.54	6.40±0.61	4.78±0.32
Glikemija našte (mmol/l)	7.36±1.40	6.46±1.51	7.21±1.36	7.00±1.14	4.71±0.71
Sistolni pritisak (mmHg)	140.17±12.55	141.67±17.13	122.86±7.83	122.50±8.18	122±7.97
Dijastolni pritisak (mmHg)	86.67±9.12	85.56±8.81	75.03±5.54	78.75±5.69	78.67±4.8

a - rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

Tabela br. 2. Antropometrijske karakteristike ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
ITM (kg/m²)	31.20±3.53	30.92±2.34	23.77±1.82	23.96±1.20	22.77±2.9
FM (kg)	31.2±9.77	28.9±7.07	17.43±4.96	17.15±4.14	14.85±6.16
FAT%	33.97±8.38	31.17±7.33	24.77±6.33	23.32±6.34	21.46±7.34
FFM (kg)	60.16±11.19	64.38±12.08	53.45±12.16	57.00±8.25	53.00±10.63
OS (cm)	107.18±9.84	103.67±8.42	85.00±9.83	89.17±7.57	78.00±10.42

a - rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

4.1.1. Analiza povezanosti OGIS-a i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

U svakog ispitanika, nivo insulinske senzitivnosti je evaluiran određivanjem indeksa OGIS tokom 2hOGTT sa određivanjem glikemije i insulinemije i kompjuterskom obradom dobijenih rezultata. Nivo OGIS indeksa prvenstveno odražava insulinsku senzitivnost na nivou perifernih tkiva.

Kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nivo OGIS indeksa je bio značajno niži u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika (Tabela br.3.). Najniži nivo OGIS indeksa je registrovan u grupi A, a najviši u grupi E, zdravih ispitanika. Istovremeno registrovana je značajna razlika u nivou OGIS indeksa između svih ispitivanih grupa pacijenata uključujući i zdravu kontrolnu grupu (Tabela br.3.).

Tabela br. 3. Parametri insulinske rezistencije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
OGIS	287.67±71.40	336.22±39.29	291.29±83.44	343.67±68.02	496.80±63.35
HOMA-IR	8.434±4.69	6.52±3.04	5.83±1.42	5.57±2.33	2.36±0.71
Inulinemija (mI/ml)	25.03±10.8	22.23±8.24	18.54±4.67	17.89±7.17	11.12±2.69

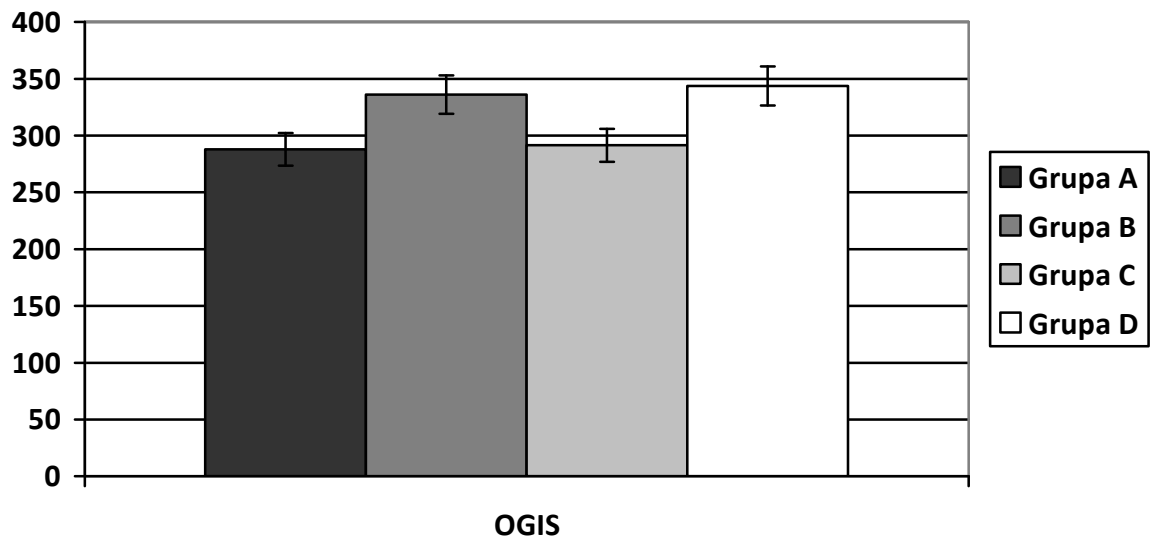
a - rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

OGIS: A, B, C, D vs E $p < 0.01$

HOMA-IR: A, B, C, D vs E $p < 0.01$

Inulinemija: A, B, C, D vs E $p < 0.01$

Kada je analiza sprovedena samo među dijabetičarima najniži nivo OGIS indeksa je registrovan u grupi A, a najviši u grupi D. Statistički visoko značajna razlika u nivou OGIS indeksa kao parametra periferne insulinske rezistencije je registrovana i kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa koji se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti i hipertenzije (Grafikon br. 1.).



Grafikon br 1. Nivo OGIS indeksa kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p < 0.05$; A vs C $p = \text{NS}$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p = \text{NS}$; B vs D $p = \text{NS}$;
C vs D $p < 0.05$

Daljom analizom među gojaznim dijabetičarima koji su se razlikovali u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije nivo OGIS indeksa je bio značajno niži u grupi A u poređenju sa grupom B (Grafikon br. 1). Takođe u grupama negojaznih dijabetičara koje su se razlikovale u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije, grupe C i D registrovana je statistički značajna razlika u nivou OGIS indeksa (Grafikon br. 1). Istovremeno statistički značajna razlika je registrovana između grupe A i D, kada je bio prisutan samo dijabetes, dok se grupe razlikuju i u pogledu gojaznosti i prisustvu arterijske hipertenzije (Grafikon br.1). Međutim nivo OGIS indeksa se nije razlikovao u grupama bez prisutne hipertenzije odnosno B i D, a koje se razlikuju po prisustvu gojaznosti, kao ni između grupe B i C koje se razlikuju i po prisustvu gojaznosti i po prisustvu hipertenzije (Grafikon br.1.).

Ispitivanjem povezanosti parametara insulinske senzitivnosti registrovana je korelacija između prisustva arterijske hipertenzije i nivoa OGIS indeksa kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Tabela br .4)

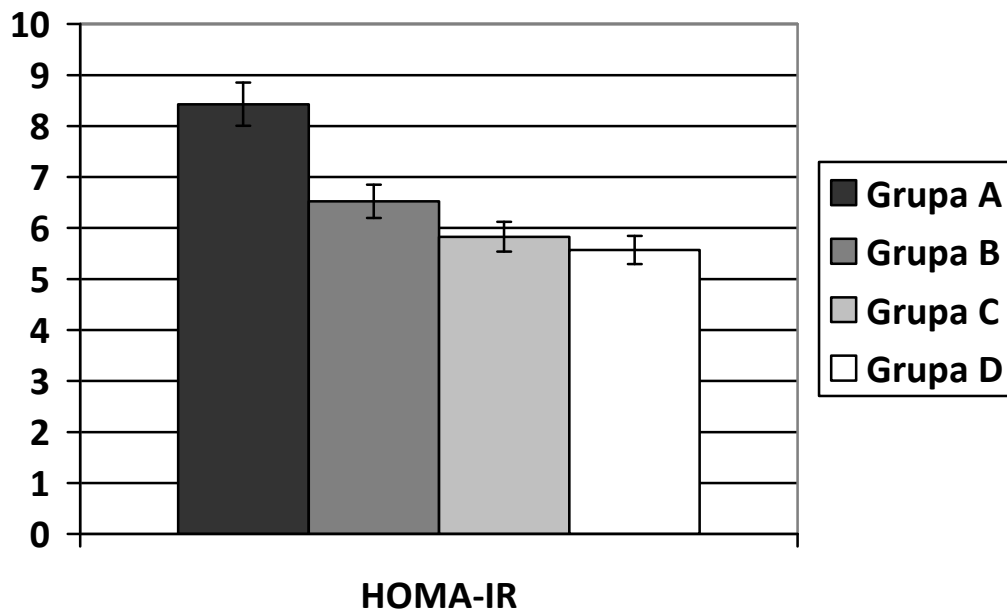
U modelu logističke linearne regresione analize, kada je prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postavljena kao zavisna varijabla nivo OGIS indeksa tokom 2h OGTT-a je parametar insulinske senzitivnosti koji je određuje i to u vidu negativne korelacije $\beta = -0.334$, $p=0.05$, što je niža vrednost OGIS indeksa pojava arterijske hipertenzije je verovatnija.

4.1.2. Analiza povezanosti HOMA-IR i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

U svakog ispitanika stepen insulinske senzitivnosti je određivan i metodom modela homeostaze, tj. određivanjem bazalnih vrednosti insulinemije i glikemije i izračunanjem indeksa korišćenjem odgovarajuće formule radi dobijanja parametra insulinske rezistencije HOMA-IR, koji prvenstveno odražava hepaticku komponentu insulinske senzitivnosti.

Najviši nivo HOMA-IR je registrovan u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom, a najniži u grupi E, zdravih ispitanika (Tabela br.3.).

Nivo HOMA-IR se značajno razlikovao između ispitivanih grupa dijabetičara i kontrolne grupe ispitanika (Tabela br.3.). Istovremeno kada je analiza sprovedena samo među pacijentima sa tipom 2 dijabetesa, bez obzira na prisustvo gojaznosti i dalje je postojala razlika u nivou HOMA-IR među ispitivanim grupama, ali nije dostizala statističku značajnost, $p=0,06$ (Grafikon br.2.).



Grafikon br. 2. Nivo HOMA-IR kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0.05$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p = \text{NS}$; B vs D $p = \text{NS}$;
C vs D $p = \text{NS}$

Daljom analizom po grupama registrovana je statistički značajna razlika u nivou HOMA-IR između grupe A i grupe D (Grafikon br.2.) koje kao zajedničku karakteristiku imaju samo dijabetes. Istovremeno postojala je statistički značajna razlika u stepenu insulinske senzitivnosti između grupa A i C, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti, ali ne i arterijske hipertenzije (Grafikon br.2.).

HOMA-IR nije odražavo razliku u stepenu insulinske senzitivnosti ni između grupa gojaznih dijabetičara, A i B, niti između grupa negojaznih dijabetičara, C i D, koje su se međusobno razlikovale u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.2.).

Ispitivanjem povezanosti nivoa HOMA-IR u bazalnim uslovima i pojave arterijske hipertenzije, nije utvrđena statistički značajna povezanost pojave arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i nivoa HOMA-IR (Tabela br.4.).

U modelu logističke linearne regresione analize, kada je prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postavljena kao zavisna varijabla nivo

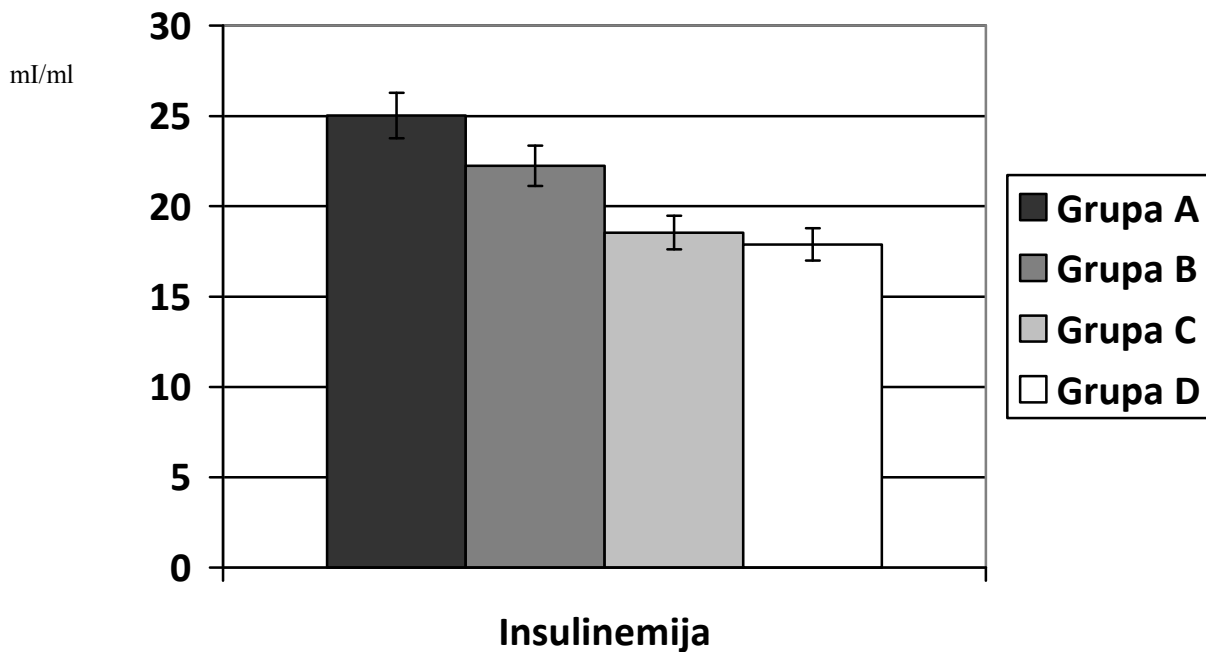
HOMA-IR kao parametar insulinske senzitivnosti nije određivao prisustvo arterijske hipertenzije.

4.1.3. Analiza povezanosti nivoa insulina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Takođe, pokazano je da u uslovima insulinske rezistencije postoji kompenzatorna hiperinsulinemija u bazalnim uslovima sa ciljem održavanja stanja euglikemije. Ranija ispitivanja su pokazala da i u tipu 2 dijabetesa postoji kompenzatorna hiperinsulinemija posledično zbog poremećene insulinske senzitivnosti, odnosno insulinske rezistencije. Naime, u uslovima određenog stepena insulinske rezistencije, beta ćelija sa još uvek očuvanom endogenom sposobnošću sekrecije kompenzuje postojanje periferne insulinske rezistencije adekvatnim porastom insulinske sekrecije, a krajni rezultat ovog dinamičkog procesa biće euglikemija.

Nivo bazalne insulinemije je bio najviši u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom, a najniži u grupi E, zdravih ispitanika (Tabela br.3.). Nivo bazalne insulinemije se značajno razlikovao između ispitivanih grupa dijabetičara i kontrolne grupe ispitanika (Tabela br.3.).

Istovremeno kada je analiza sprovedena samo među pacijentima sa tipom 2 dijabetesa, najviši nivo bazalne insulinemije je registrovan u grupi A, a najniži u grupi D, postizujući statističku značajnost između ove dve grupe (Grafikon br. 3).



Grafikon br. 3. Nivo bazalne insulinemije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0.05$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p = \text{NS}$; B vs D $p = \text{NS}$;
C vs D $p = \text{NS}$

Nivo bazalnog insulina se nije razlikovao između grupa A i B, gojaznih dijabetičara, niti između grupa C i D, negojaznih dijabetičara (Grafikon br.3.).

Istovremeno nivo insulina se značajno razlikovao između grupe A i C, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti, ali ne i u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.3.).

Nivo bazalnog insulina nije određivao prisustvo arterijske hipertenzije, ali je odražavao prisustvo gojaznosti u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Ispitivanjem povezanosti bazalnih nivoa insulinemije i pojave arterijske hipertenzije, nije utvrđena statistički značajna povezanost pojave arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i bazalnog nivoa insulina (Tabela br.4.).

Tabela br. 4. Povezanost parametara insulinske rezistencije i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
Arterijska hipertenzija	-0.334	<0.01	-0.204	NS	0.164	NS

U modelu logističke linearne regresione analize, kada je prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postavljena kao zavisna varijabla bazalni nivo insulinemije nije određivao prisustvo arterijske hipertenzije.

4.2. Ispitivanje odnosa insulinske rezistencije, telesnog sastava i abdominalne gojaznosti i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i gojaznošću pojava arterijske hipertenzije je značajno češća i smatra se da je povezana sa povišenim nivoom insulinske rezistencije. Takođe se smatra da je ova veza potencirana prisustvom pre svega visceralne gojaznosti.

Istovremeno kada poremećaj tolerancije na glukozu nije prisutan pokazana je značajna povezanost prisustva visceralne gojaznosti i insulinske rezistencije i u osoba sa esencijalnom hipertenzijom.

U tom smislu analizirana je povezanost stepena insulinske rezistencije i različitih parametara za procenu gojaznosti kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa na pojavu arterijske hipertenzije.

U svakog ispitanika obavljeno je merenje telesne težine i telesne visine i na osnovu toga izračunat indeks telesne mase (ITM) prema ranije opisanoj formuli. Postojanje gojaznosti je definisano ITM: gojazni pacijenti $ITM \geq 25 \text{kg/m}^2$ i negojazni pacijenti $ITM < 25 \text{kg/m}^2$.

Radi određivanja rasporeda masnog tkiva i procene abdominalne gojaznosti kod svakog ispitanika, u stojećem položaju, obavljeno je merenje obima struka (OS) na nivou umbilikusa.

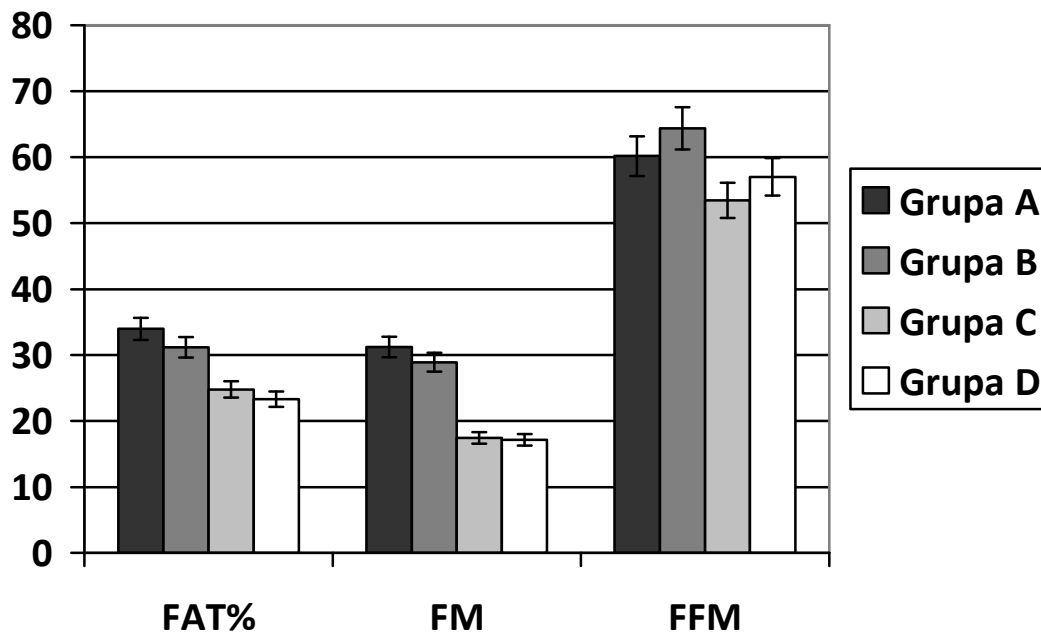
4.2.1. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, telesnog sastava i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

U svakog ispitanika, u stojećem položaju, u laganoj odeći bez obuće obavljeno je merenje telesnog sastava metodom bioimpedance uz pomoć posebne vage Tanita, TBF-300A.

Kompjuterskom obradom izmerenih i unetih vrednosti dobijene su vrednosti udela masnog tkiva u ukupnoj telesnoj težini pacijenta, izraženog u procentima (FAT%), fat free mass (FFM) koju čine sva ostala tkiva u organizmu koja ne sadrže mast (mišićno tkivo, kost i voda) i masa masnog tkiva fat mass (FM) koja odražava ukupnu količinu masti koju telo sadrži izraženu u kilogramima.

Najveći stepen gojaznosti izražen ITM, kao FAT%, i FM je registrovan u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i prisustvom arterijske hipertenzije. Analizom dobijenih rezultata nađena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa dijabetičara i kontrolne grupe za sve parametre gojaznosti: ITM, FAT% i FM (Tabela br.2.).

Takođe ova razlika je postojala i između grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Grafikon br.4.).



Grafikon br.4. Telesni sastav pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

FAT % (%) FM (kg) FFM (kg)

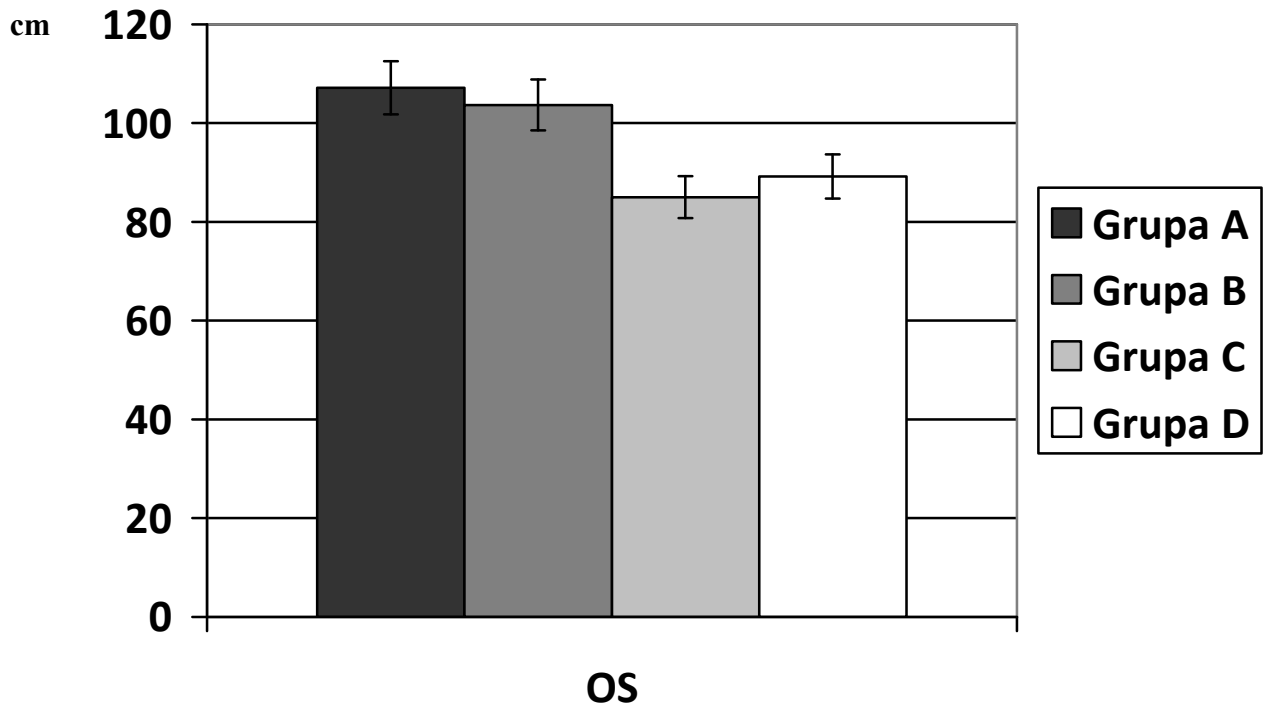
A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0.05$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p < 0.05$;

B vs D $p < 0.05$; C vs D $p = \text{NS}$

Istovremeno nije postojala statistički značajna razlika u ITM i telesnom sastavu između grupe A i B, gojaznih dijabetičara, kao ni između grupe C i D, nogojaznih dijabetičara koje se međusobno razlikuju po prisustvu arterijske hipertenzije (Grafikon br.4.). Statistički značajna razlika za ITM, FAT% i FM je registrovana između grupe A i C koji imaju arterijsku hipertenziju, ali se razlikuju u odnosu na stepen gojaznosti. Istovremeno statistički značajna razlika je registrovana i između grupa A i D, između grupa B i C i B i D, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.4.).

Analizom dobijenih rezultata nađena je statistički značajna razlika između ispitivanih grupa dijabetičara i kontrolne grupe za OS, kao indirektnog pokazatelja stepena abdominalne gojaznosti (Tabela br.2.).

Takođe ova razlika je postojala i između grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Grafikon br.5.).



Grafikon br. 5. Obim struka kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0.05$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p < 0.05$;

B vs D $p < 0.05$; C vs D $p = \text{NS}$

Istovremeno nije postojala statistički značajna razlika u OS između grupe A i B, gojaznih dijabetičara, kao ni između grupe C i D, negojaznih dijabetičara koje se međusobno razlikuju po prisustvu arterijske hipertenzije (Grafikon br.5.). Statistički značajna razlika za OS je registrovana između grupe A i C koji imaju arterijsku hipertenziju, ali se razlikuju u odnosu na stepen gojaznosti (Grafikon br.5). Istovremeno statistički značajna razlika je registrovana i između grupa A i D; B i C kao i grupa B i D, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.5.).

Kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa registrovana je značajna pozitivna korelacija između ITM i insulinemije i HOMA-IR, kao i parametara insulinske

rezistencije (Tabela br.5.). Takođe registrovana je značajna, ali negativna korelacija između FAT% i OGIS-a, a pozitivna korelacija ovog parametra gojaznosti sa nivoom HOMA-IR. Dok je masa masnog tkiva značajno pozitivno korelirala sa nivoom HOMA-IR u ispitivanoj grupi pacijenata.

Tabela br.5. Povezanost parametara insulinske rezistencije i stepena gojaznosti kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
ITM	-0.196	NS	0.384	< 0.01	0.412	< 0.01
FM	-0.300	< 0.05	0.441	< 0.01	0.458	< 0.01
FAT %	-0.243	< 0.05	0.249	< 0.05	0.280	< 0.05
FFM	-0.025	NS	0.299	< 0.05	0.274	< 0.05
OS	-0.217	NS	0.460	< 0.01	0.467	< 0.01

Kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa registrovana je značajna pozitivna korelacija između OS i nivoa bazalne insulinemije (Tabela br.5.).

Linearnom regresionom analizom, dobijeno je da su udeo masnog tkiva i količina masnog tkiva izražena u kg u ispitivanim grupama određene nivoom bazalne insulinemije.

Linearnom regresionom analizom, kada je OS zavisna varijabla dobijeno je da je u ispitivanim grupama on određen nivoom bazalne insulinemije.

U modelu logističke linearne regresione analize kada je arterijska hipertenzija zavisna varijabla, kao njen prediktor izdvaja se FFM, $\beta=-0.295$, $p=0.05$, koja je negativni prediktor pojave arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

U modelu logističke linearne regresione analize kada je hipertenzija zavisna varijabla, kao njen prediktor izdvaja se OS, $\beta=0.292$, $p=0.05$ koji pozitivno korelira sa pojavom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa. Kada se u ovaj

model uključe i parametri insulinske rezistencije, onda taj prediktor postaje OGIS, $\beta = -0.273$, $p = 0.03$, koji takođe negativno korelira sa pojavom arterijske hipertenzije u ovoj grupi pacijenata. Istovremeno ovaj model objašnjava vezu između ovih parametara do 50%.

Multivarijantnom analizom masa masnog tkiva značajno korelira sa parametrima insulinske senzitivnosti i HOMA-IR i OGIS, kao i nivoom bazalne insulinemije. Kada je u ovaj model uneta i arterijska hipertenzija, značajnosti ove korelacije postaje slabija.

4.3. Analiza odnosa insulinske rezistencije, lipidskih parametara i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Dosadašnje studije u ovoj oblasti su pokazale da je u nedijabetičara pojava arterijske hipertenzije bila povezana sa poremećajima metabolizma lipoproteina, pozitivnom korelacijom sa nivoom (low density lipoprotein, LDL)-holesterola, odnosno negativnom korelacijom sa holesterolom vezanim za lipoproteine visoke gustine (high density lipoprotein, HDL)- holesterola. Istovremeno u tipu 2 dijabetesa u okviru poremećaja metabolizma lipoproteina poseban značaj se pripisuje smanjenju nivoa HDL-holesterola i porastu nivoa triglicerida, kao i strukturnim promenama lipoproteina LDL holesterola i holesterola vrlo niske gustine (very low density lipoprotein, VLDL), koji otežavaju eliminaciju aterogenih lipidnih partikula. Međutim detaljnije ispitivanje udruženosti pojave poremećaja metabolizma lipoproteina i arterijske hipertenzije u gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nije u potpunosti razjašnjeno.

U tom smislu izvršena je analiza povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa izmenjenim metabolizmom lipoproteina kod gojaznih pacijenta sa tipom 2 dijabetesa.

4.3.1. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, lipidskih parametara i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

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

Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou HDL holesterola i triglicerida između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Tabela br.6.).

Tabela br. 6. Nivo lipidskih parametara kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

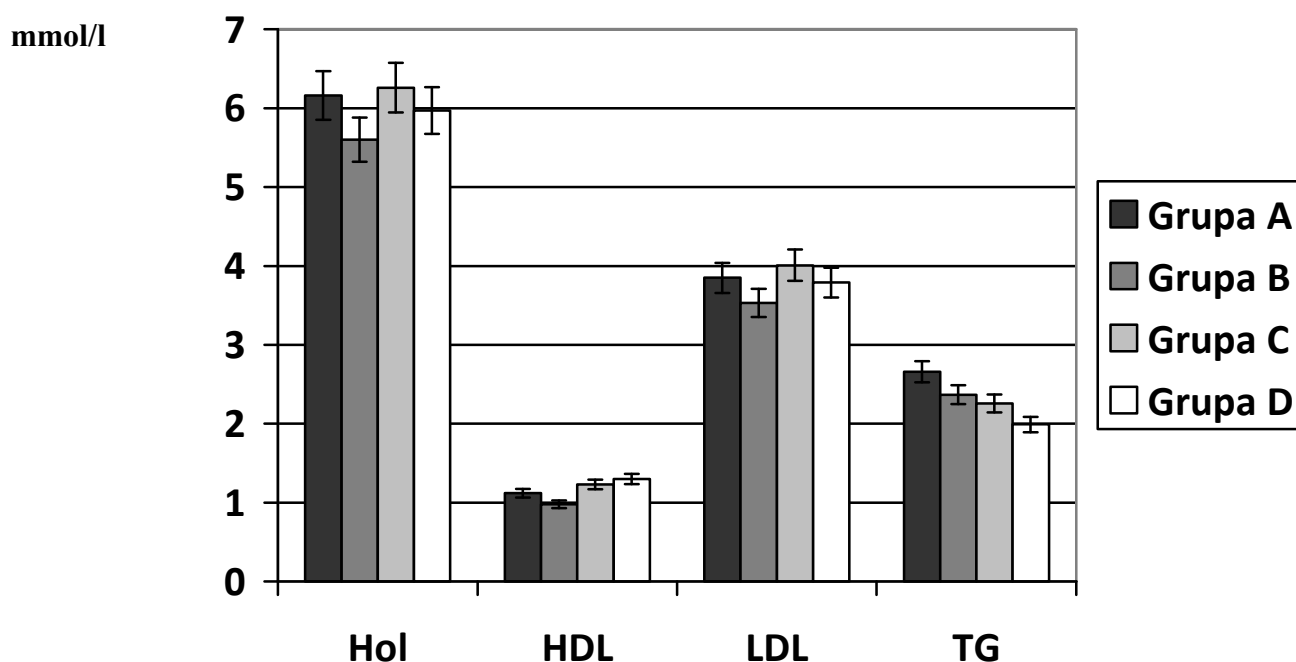
	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
UH (mmol/l)	6.16±0.93	5.6±0.98	6.26±1.26	5.97±0.85	5.14±0.82
HDL-h (mmol/l)	1.12±0.18	0.98±0.11	1.23±0.30	1.30±0.29	1.58±0.47
LDL-h (mmol/l)	3.85±0.78	3.53±0.64	4.01±1.13	3.79±0.71	3.49±0.74
Tg (mmol/l)	2.66±1.15	2.37±0.80	2.26±1.34	1.99±1.36	1.29±0.39

a - rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

HDL i Tg: A, B, C, D vs E $p < 0.05$

UH i LDL-hol: A, B, C, D vs E $p = NS$

Kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa statistički značajna razlika je i dalje postojala u nivou ova dva parametra (Grafikon br.6.), pri čemu je nivo HDL holesterola bio najniži u grupi B, a najviši u grupi D, dok je nivo triglicerida bio najviši u grupi A, a najniži u grupi D (Grafikon br.6.).



Grafikon br. 6. Nivo lipidskih parametara kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

HDL-hol i TG: A vs B $p < 0.05$; A vs C $p = \text{NS}$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p < 0.05$;

B vs D $p < 0.05$; C vs D $p = \text{NS}$

UH i LDL-hol: A vs B; A vs C; A vs D; B vs C; B vs D i C vs D $p = \text{NS}$

Detaljnijom analizom značajna razlika u nivou HDL holesterola je postojala između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno grupa A i B, kao i B i C, koje se međusobno razlikuju i po prisustvu gojaznosti i arterijske hipertenzije, i grupe B i D koje se međusobno razlikuju samo po prisustvu gojaznosti (Grafikon br.6.). Između grupa A i D, koje se međusobno razlikuju i odnosu na gojaznost i u odnosu na arterijsku hipertenziju nađena je statistički značajna razlika u nivou HDL holesterola i triglicerida (Grafikon br 6.). Između grupa negojaznih dijabetičara, C i D nije postojala statistički značajna razlika u nivou lipidskih parametara (Grafikon br.6.).

Istovremeno nivo HDL holesterola je statistički visoko značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u negativnom smeru, kao i sa OGIS-om, ali u pozitivnom smeru (Tabela br.7.). Nivo triglicerida je značajno korelirao sa nivoom

bazalne insulinemije i HOMA-IR-om u pozitivnom smeru, a sa OGIS-om u negativnom smeru (Tabela br.7.).

Tabela br.7. Povezanost parametara insulinske rezistencije i stepena gojaznosti kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
UH	-0.37	NS	0.039	NS	0.034	NS
HDL-hol	0.312	<0.01	-0.298	<0.01	-0.282	<0.01
LDL-hol	0.091	NS	-0.153	NS	0.034	NS
Tg	-0.383	<0.01	0.479	<0.01	0.397	<0.01

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, nivo triglicerida određuje nivo bazalne insulinemije, $\beta=0.402$, $p=0.019$ i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu, $\beta=0.344$, $p=0.025$, dok nivo OGIS-a prediktuje u negativnom smeru, $\beta=-0.297$, $p=0.026$.

Kada su lipidski parametri zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, nivo HDL holesterola u pozitivnom smeru prediktuje nivo OGIS-a, $\beta=0.312$, $p=0.05$.

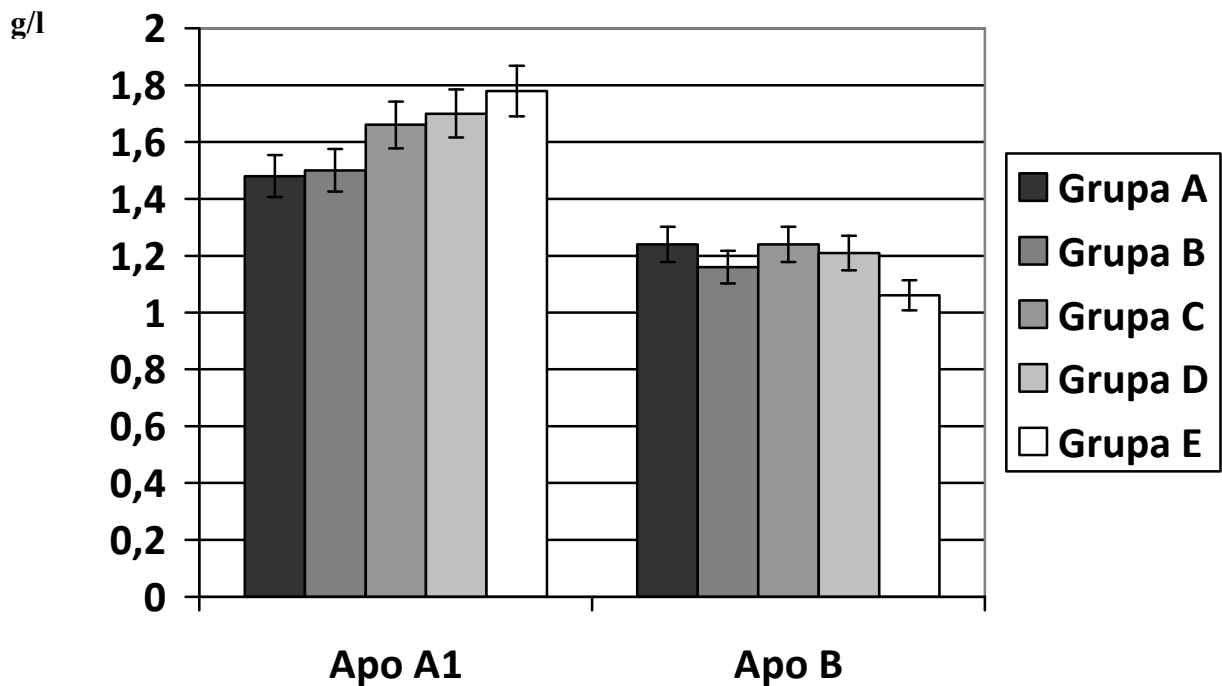
Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuje nivo triglicerida, $\beta=0.462$, $p=0.001$. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, ova veza nezatno smanjuje nivo značajnosti.

Logističkom linearnom analizom nivo lipidskih parametara ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupe pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

4.3.2. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, lipoproteinskih frakcija i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

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

Analizom dobijenih rezultata značajna razlika je registrovana jedino u nivou ApoA1 između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br.7. i 8.). Kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa statistički značajna razlika nije registrovana u nivou apolipoproteina.

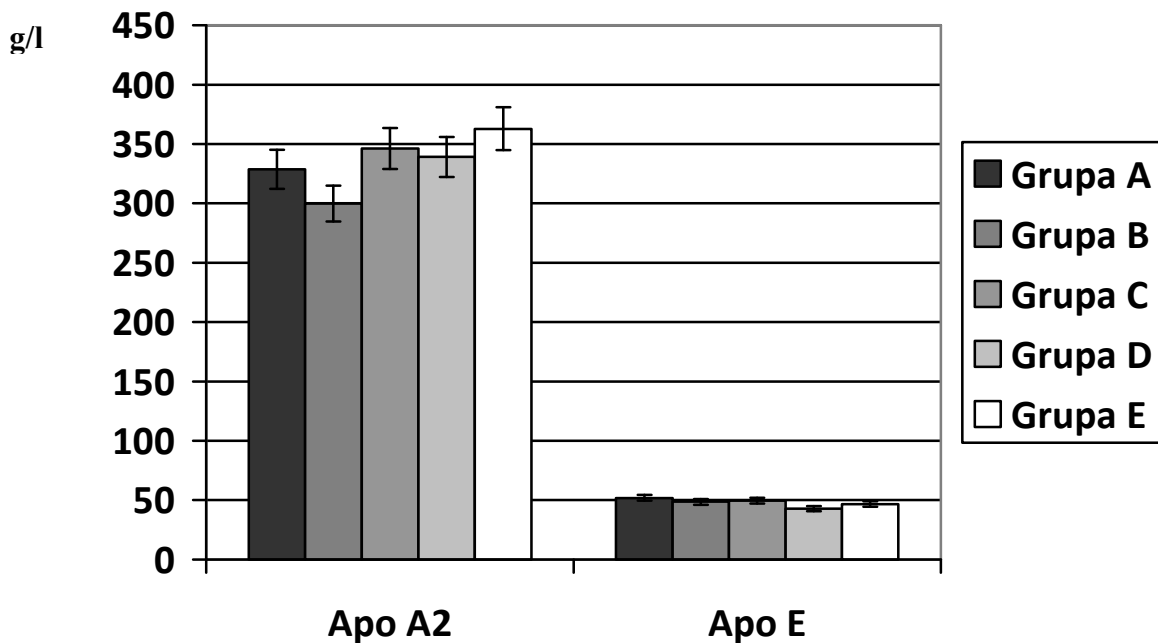


Grafikon br. 7. Nivo apolipoproteina Apo A1 i Apo B kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

Apo A1: A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p = \text{NS}$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p = \text{NS}$;

B vs D $p = \text{NS}$; C vs D $p = \text{NS}$, A,B,C,D vs E $p < 0.05$

Apo B: A,B,C,D vs E $p < 0.05$



Grafikon br. 8. Nivo apolipoproteina Apo A2 i Apo E kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

Apo A2: A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p = \text{NS}$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p < 0.05$; B vs D $p < 0.05$; C vs D $p = \text{NS}$

Apo E: A,B,C,D vs E $p < 0.05$

Detaljnijom analizom značajna razlika u nivou ApoA1 je postojala između grupa A i D, koje se međusobno razlikuju i odnosu na gojaznost i u odnosu na hipertenziju (Grafikon br.7.). Takođe statistički značajna razlika je registrovana u nivou ApoA2 između grupa B i C, koje se međusobno razlikuju i po prisustvu gojaznosti i arterijske hipertenzije, i grupe B i D koje se međusobno razlikuju samo po prisustvu gojaznosti (Grafikon br.8.).

Istovremeno nivo ApoA1 i ApoE je statistički visoko značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR i to ApoA1 u negativnom smeru, a sa ApoE u pozitivnom smeru (Tabela br.8.).

Tabela br.8. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivo apolipoproteina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
Apo A1	0.165	NS	-0.226	<0.01	-0.254	<0.01
Apo B	-1.22	NS	0.047	NS	0.047	NS
Apo A2	0.099	NS	0.002	NS	-0.052	NS
Apo E	-0,184	NS	0.425	<0.01	0.395	<0.01

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, nivo ApoE određuje nivo bazalne insulinemije i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu.

Kada su apolipoproteini zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, nivo ApoE u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR, dok nivo ApoA2 određuje u negativnom smeru nivo bazalne insulinemije, a u pozitivnom smeru nivo oba parametra insulinske senzitivnosti HOMA-IR-a i OGIS-a.

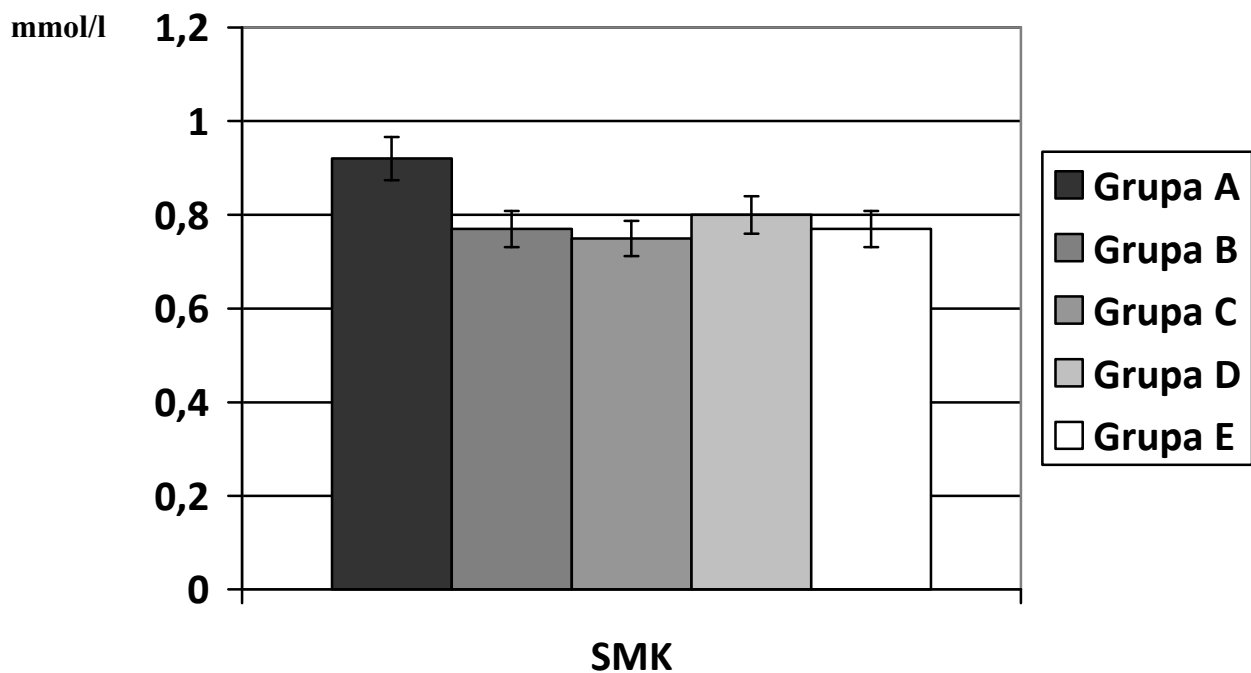
Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om i OGIS-om, kao i nivo bazalne insulinemije predikuje nivo ApoA2. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, ova veza neznatno smanjuje nivo značajnosti.

Logističkom linearnom analizom nivo apolipoproteina ne predikuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

4.3.3. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, nivoa slobodnih masnih kiselina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

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

Analizom dobijenih rezultata nije registrovana statistički značajna razlika u nivou SMK između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika, niti samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Grafikon br.10.).



Grafikon br. 10. Nivo slobodnih masnih kiselina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

A,B,C,D vs E p =NS

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

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, nivo SMK određuje samo nivo bazalne insulinemije u negativnom smislu.

Kada je nivo SMK zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, nivo SMK u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR, a u negativnom smeru nivo bazalne insulinemije.

Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om i OGIS-om, kao i nivo bazalne insulinemije ne prediktuje nivo SMK (Tabela br.28.).

Logističkom linearnom analizom nivo SMK ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

4.4. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa adipocitokina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

U osnovi, smatra se da su mehanizmi koji dovode do pojave arterijske hipertenzije i kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa vrlo slični, ali je pokazano da u gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postoje brojne specifičnosti čiji značaj do sada nije u potpunosti razjašnjen. Danas je jasno pokazano da masno tkivo eksprimira i sekretuje brojne metabolite, hormone i citokine koji imaju značajnu ulogu u razvoju insulinske rezistencije. Potencijalna veza između gojaznosti i arterijske hipertenzije je adipocitokin leptin, za koji je pokazano da doprinosi pojačanju simpatičke aktivnosti, povećanoj reapsorpciji natrijuma i ubrzanju srčanog ritma. Postoje jasni eksperimentalni dokazi da adipocitokini koreliraju sa stepenom gojaznosti i parametrima insulinske rezistencije kao i da se njihov nivo značajno razlikuje kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa u odnosu na zdrave osobe. Istovremeno je pokazana izraženija povezanost nivoa adipocitokina adiponektina sa insulinemijom i parametrima insulinske senzitivnosti kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nego sa stepenom gojaznosti i parametrima glikoregulacije.

4.4.1. Ispitivanje odnosa insulinske rezistencije, nivoa adiponektina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Vrednost nivoa adiponektina u serumu je određivana ELISA metodom, ranije opisanim postupkom.

Najniži nivo adiponektina je registrovan u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i prisustvom arterijske hipertenzije. Istovremeno analizom dobijenih

rezultata registrovan je značajno niži nivo adiponektina kod pacijenata sa dijabetesom u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika (Tabela br.9.).

Tabela br. 9. Nivo adipocitokina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
Adiponektin (ng/ml)	3.7±1.32	3.37±1.27	4.98±2.44	4.99±1.81	7.35±2.21
Leptin (ng/ml)	11.61±7.0	9.55±4.57	7.17±2.91	5.34±5.34	5.01±1.88
Rezistin (ng/ml)	9.41±4.53	8.88±3.14	5.67±1.84	6.14±1.71	4.41±1.71

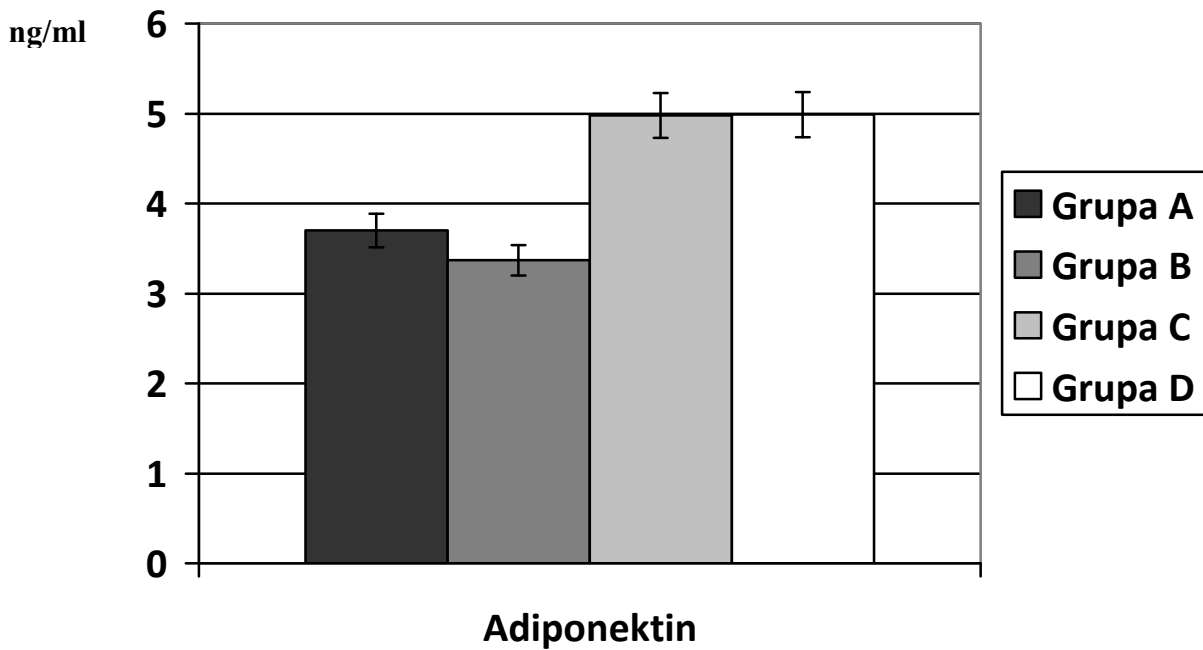
a – rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

Adiponektin: A,B,C,D vs E $p < 0.05$

Leptin: A,B,C,D vs E $p < 0.05$

Rezistin: A,B,C,D vs E $p < 0.05$

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou adiponektina između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno grupa A i B, kao ni između grupa C i D, negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.11.).



Grafikon br. 11. Nivo adiponektina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p = \text{NS}$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p = \text{NS}$; B vs D $p < 0.05$;
C vs D $p = \text{NS}$

Istovremeno nije bilo značajne razlike u nivou adiponektina između grupa A i C i grupa B i C (Grafikon br.11.). Međutim nivo adiponektina se značajno razlikovao između grupa A i D koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i prisustvo arterijske hipertenzije, kao i grupa B i D, koje se karakterišu odsustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.11.).

Nivoa adiponektina je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i nivoom HOMA-IR u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Tabela br.10.).

Tabela br.10. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivo adiponektina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p
Adiponektin	0.142	NS	-0.359	<0.01	-0.385	<0.01

Linearnom regresionom analizom kada je nivo bazalnog insulina zavisna varijabla, njegov nivo je određen nivoom adiponektina i to u negativnom smeru.

Kada je adiponektin zavisna varijabla u lineranoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo pozitivno predikuje stepen insulinske senzitivnosti izražen OGIS indeksom, $\beta=0.370$, $p=0.03$.

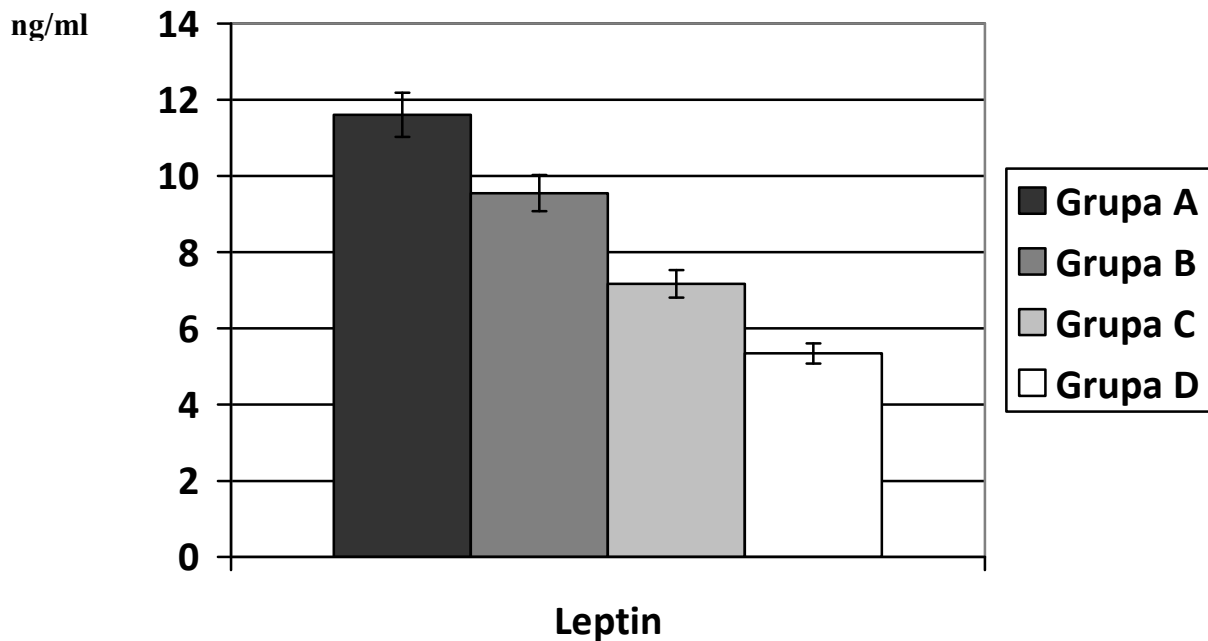
Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR korelira sa nivoom adiponektina. Kada se u ovaj model unese ITM ova veza gubi na značajnosti za insulinemiju i HOMA-IR, ali postaje značajnija za OGIS.

4.4.2. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa leptina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Vrednost nivoa leptina u serumu je određivana RIA metodom, ranije opisanim postupkom.

Najviši nivo leptina registrovan je u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom. Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou leptina između pacijenata sa dijabetesom i grupe zdravih ispitanika (Tabela br.9.).

Takođe je registrovana i značajna razlika u nivo leptina između pacijenata sa dijabetesom (Grafikon br.12.)



Grafikon br. 12. Nivo leptina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p = \text{NS}$; A vs D $p < 0.05$; B vs C $p = \text{NS}$;

B vs D $p < 0.05$; C vs D $p = \text{NS}$

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou leptina između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno A i B, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, C i D koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.12.). Istovremeno nije bilo značajne razlike u nivou leptina između grupa A i C i grupa B i C (Grafikon br.12.). Međutim nivo leptina se značajno razlikovao između grupa A i D koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa B i D, koje se karakterišu odsustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.12.).

Istovremeno nivo leptina nije značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i indeksima insulinske senzitivnosti u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Tabela br.11.).

Tabela br.11. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivoa leptina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
Leptin	-0.100	NS	0.55	NS	0.123	NS

Kada je leptin zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo u negativnom smeru prediktuju parametri insulinske senzitivnosti OGIS, $\beta=0.869$, $p=-0.303$ i HOMA-IR, $\beta=-0.869$, $p=0.0401$, a u pozitivnom smeru nivo bazalne insulinemije, $\beta=0.869$, $p=0.025$.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR korelira sa nivoom leptina. Kada se u ovaj model unese ITM ova veza gubi na značajnosti za insulinemiju, HOMA-IR i za OGIS.

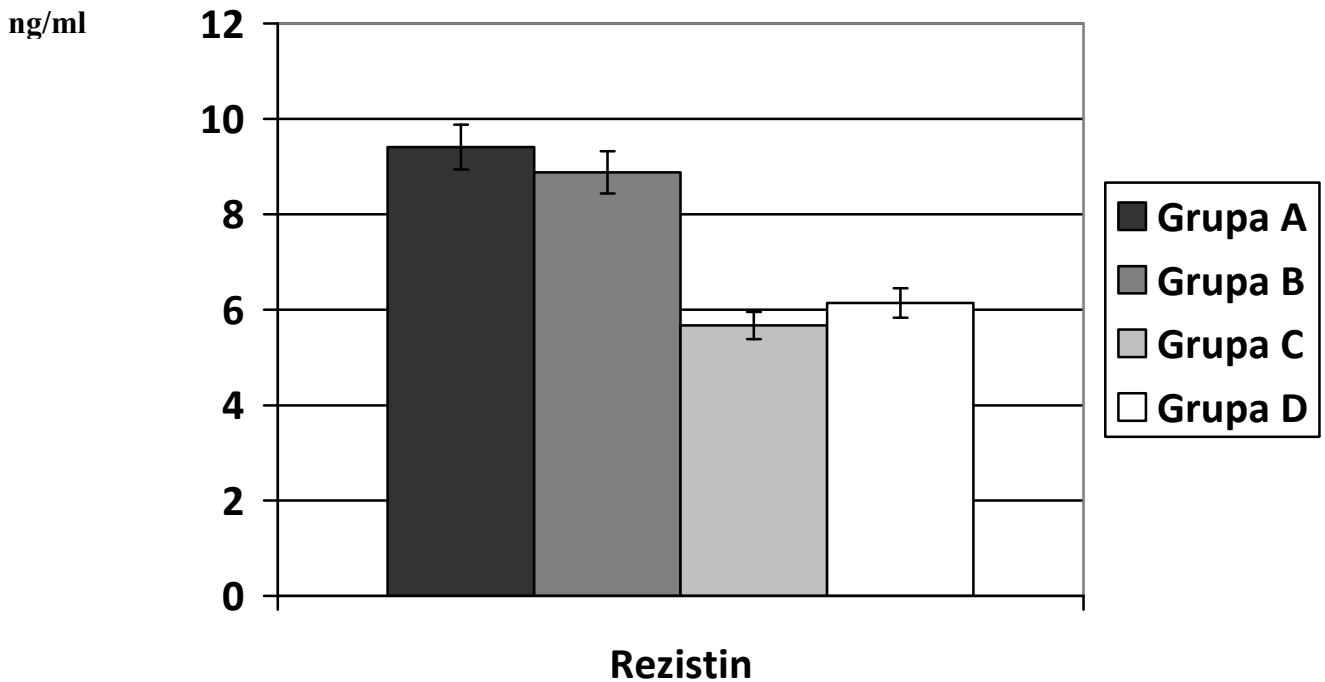
Linearnom logističkom analizom kada je zavisna varijabla arterijska hipertenzija, nivo leptina značajno određuje njeno prisustvo u ispitivanim grupama.

4.4.3. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa rezistina i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Vrednost nivoa rezistina u serumu je određivana ELISA metodom, ranije opisanim postupkom.

Najviši nivo rezistina registrovan je u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i prisutnom arterijskom hipertenzijom. Analizom dobijenih rezultata registrovaan je značajna razlika u nivou rezistina između pacijenata sa dijabetesom i grupe zdravih ispitanika (Tabela br.9.).

Takođe je registrovana i značajna razlika u nivo rezistina između pacijenata sa dijabetesom (Grafikon br.13.).



Grafikon br. 13. Nivo rezistina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0.01$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p < 0.05$;
B vs D $p < 0.05$; C vs D $p = \text{NS}$

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou rezistina između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno A i B, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, C i D koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.13.). Međutim nivo rezistina se značajno razlikovao između grupa A i D koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije (Grafikon br.13.). Istovremeno nađena je značajna razlika u nivou rezistina između grupa sa prisutnom arterijskom hipertenzijom A i C, i grupa B i D, bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.13.).

Nivo rezistina je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i HOMA-IR, ali ne i sa OGIS-om (Tabela br.12.).

Tabela br.12. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivo rezistina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
Rezistin	-0.207	NS	0.256	<0.05	0.196	<0.05

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR i OGIS zavisna varijabla, njihov nivo je određen nivoom rezistina i to HOMA-IR u pozitivnom, $\beta=0.350$, $p=0.002$, a OGIS u negativnom smeru, $\beta=-0.244$, $p=0.046$.

Kada je rezistin zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo u pozitivnom smeru predikuje HOMA-IR.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR ne korelira sa nivoom rezistina.

4.5. Analiza povezanost insulinske rezistencije, parametara inflamacije i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Gojaznost i bolesti povezane sa gojaznošću kao što su esencijalna hipertenzija i tip 2 dijabetesa se odlikuju stanjem stalno prisutne hronične inflamacije niskog nivoa aktivnosti. Gojazne osobe kao i osobe sa tipom 2 dijabetesa imaju povišen nivoa markera inflamacije kao što su tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL)-6, ali i standardnih markera inflamacije: C reaktivni protein (CRP) i fibrinogen. Smatra se da prisutni markeri inflamacije u uslovima postojanja insulinske rezistencije predstavljaju pre svega njenu posledicu, odnosno da insulinska rezistencija nije udružena sa poremećajima inflamacije, već da je povezanosti markera inflamacije kao što je CRP u uslovima insulinske rezistencije uslovljena prisustvom gojaznosti.

Istovremeno, pokazano je da je kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa zavisno od stepena gojaznosti pojava arterijske hipertenzije ostvaruje preko insulinske rezistencije uslovljene poremećajima hronične inflamacije, poremećajem nivoa adipocitokina i izmenjenog metabolizma lipoproteina.

U tom smislu urađena je analiza povezanost prisustva arterijske hipertenzije sa poremećajem inflamatornih markera kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

4.5.1. Ispitivanje povezanost insulinske rezistencije, nivoa standardnih parametara inflamacije i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Nivo parametara inflamacije: nivo C reaktivnog proteina (CRP) je određivan ELISA metodom, a nivo fibrinogena koagulometrijom-pribor ACL-Instrument Laboratory.

Analizom dobijenih rezultata nađena je statistički značajna razlika u nivou standardnih parametara inflamacije: CRP i fibrinogena između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika (Tabela br. 13.).

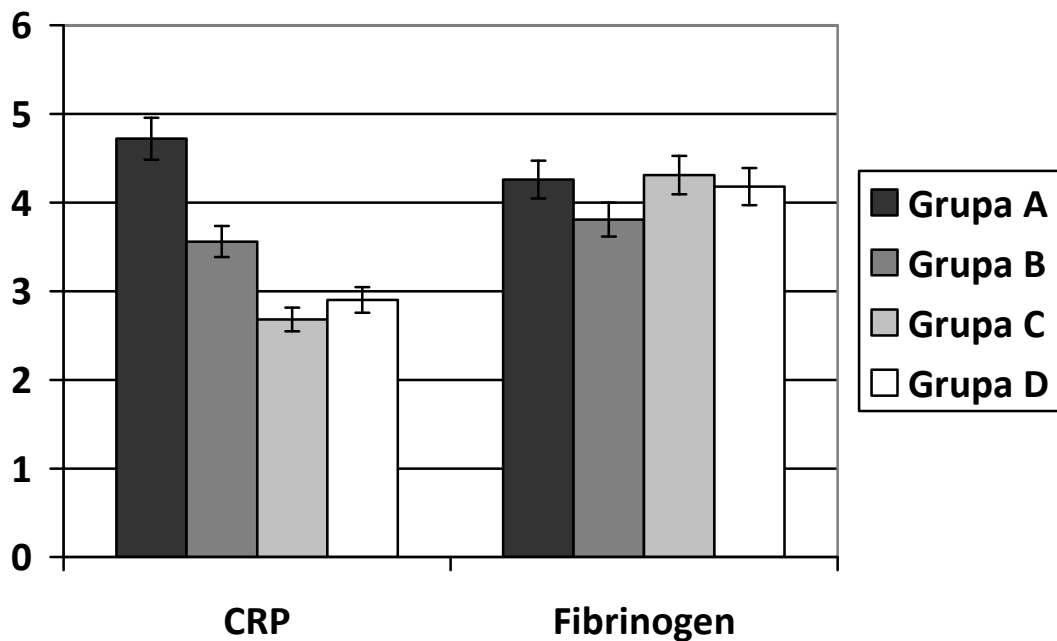
Tabela br. 13. Nivo CRP-a i fibrinogena kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
CRP (mg/l)	4.72±3.93	3.56±1.80	2.68±1.40	2.90±2.44	1.35±1.7
Fibrinogen (g/l)	4.26±0.79	3.81±0.85	4.31±0.86	4.18±0.69	3.38±0.78

a - rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

A,B,C,D vs E $p < 0.05$

Istovremeno nije nađena statistički značajna razlika u nivo CRP-a i fibrinogena između grupa dijabetičara (Grafikon br.14.).



Grafikon br. 14. Nivo CRP-a i fibrinogena kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

CRP (mg/l) Fibrinogen (g/l)

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

4.5.2. Ispitivanje povezanost insulinske rezistencije, nivoa TNF- α i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Vrednost nivoa TNF- α u plazmi je određivana ELISA metodom, ranije objašnjenim postupkom.

Najviši nivo nivo TNF- α je bio u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom, a najniži u grupi E, zdravih ispitanika (Tabela br.14.). Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou TNF- α između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br.14.).

Tabela br. 14. Nivo proinflamatornih citokina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

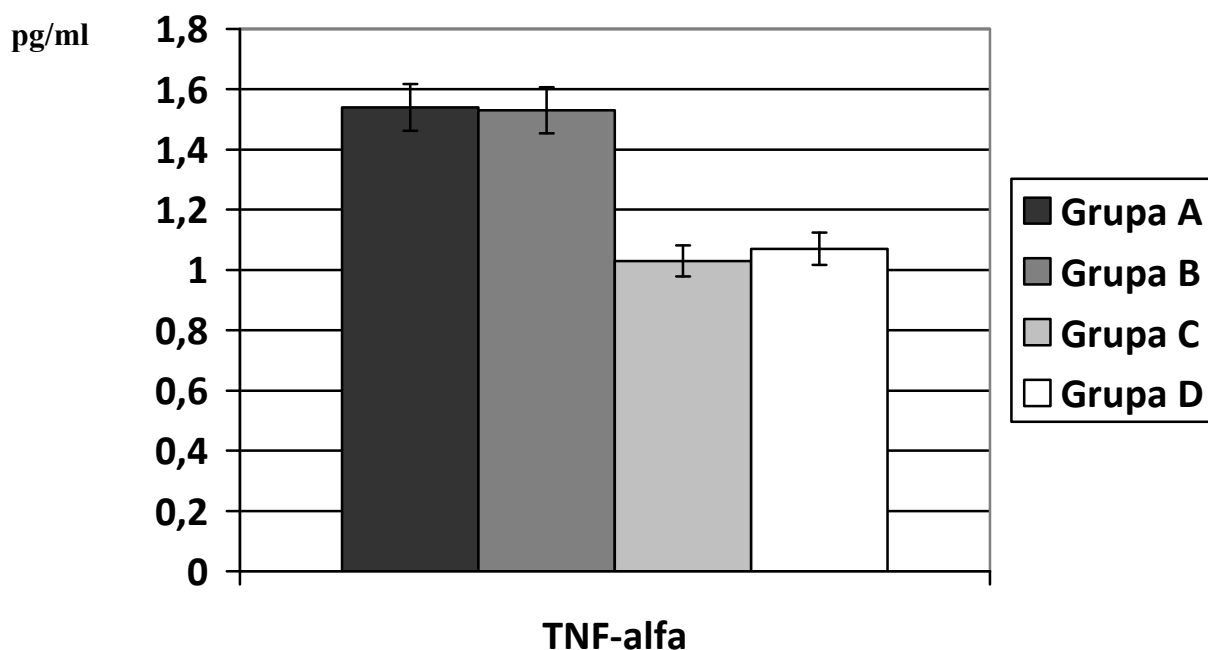
	Grupa A	Grupa B	Grupa C	Grupa D	Grupa E
TNF-α (pg/ml)	1.54 \pm 0.41	1.53 \pm 0.42	1.03 \pm 0.17	1.07 \pm 0.34	0.71 \pm 0.30
IL-6 (pg/ml)	10.46 \pm 5.15	11.71 \pm 6.09	6.28 \pm 2.90	5.63 \pm 3.24	3.48 \pm 1.48

a - rezultati su izraženi kao srednja vrednost +/- standardna greška

TNF- α : A,B,C,D vs E p < 0.05

IL-6: A,B,C,D vs E p < 0.05

Kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa visoko statistički značajna razlika je i dalje postojala (Grafikon br.15.).



Grafikon br. 15. Nivo TNF- α kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B p = NS; A vs C p < 0.01; A vs D p < 0.05; B vs C p = NS; B vs D p < 0.01;
C vs D p = NS

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou TNF- α između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno grupa A i B, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, C i D koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.15.). Međutim nivo TNF- α se statistički visoko značajno razlikovao između grupa A i D koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa B i D, koje se karakterišu odsustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.15.). Istovremeno nađena je visoko statistički značajna razlika u nivou TNF- α između grupa sa prisutnom arterijskom hipertenzijom A i C, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.15.).

Nivo TNF- α je visoko statistički značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije kao i sa oba parametra insulinske senzitivnosti: HOMA-IR i OGIS-om (Tabela br.15.).

Tabela br.15. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivoa TNF- α kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
TNF-α	-0.327	<0.01	0.371	<0.01	0.319	<0.01

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR i OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, njihov nivo je određen nivoom TNF- α i to HOMA-IR $\beta = 0.269$, $p = 0.02$ i insulin u bazalnim uslovima $\beta = 0.258$, $p = 0.025$ u pozitivnom, a OGIS $\beta = -0.350$, $p = 0.003$ u negativnom smeru.

Kada je TNF- α zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo u pozitivnom smeru predikuje nivo bazalne insulinemije.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinsku senzitivnost određenu OGIS-om predikuje nivo TNF- α . Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, onda se ova veza gubi.

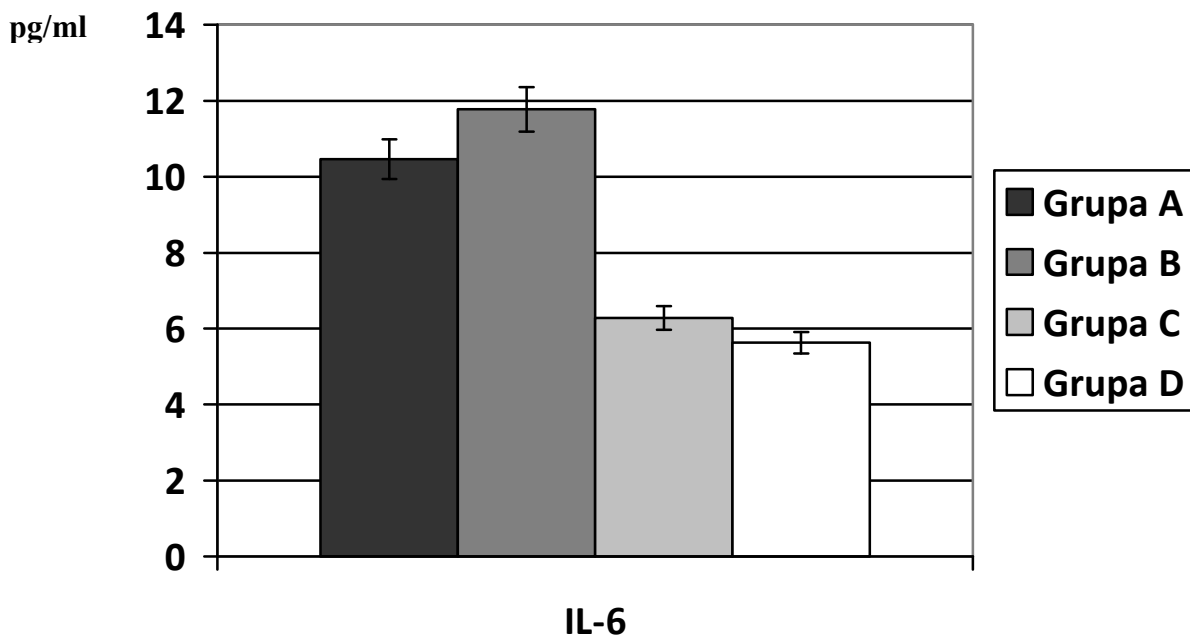
Logističkom linearnom analizom TNF- α ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

4.5.3. Ispitivanje povezanost insulinske rezistencije, nivoa IL-6 i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Vrednost nivoa IL-6 u plazmi je određivana ELISA metodom, ranije objašnjenim postupkom.

Najviši nivo IL-6 je bio u grupi B, gojaznih dijabetičara bez arterijske hipertenzije, a najniži u grupi E, zdravih ispitanika (Grafikon br.26.). Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou IL-6 između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Tabela br.14.).

Kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa visoko statistički značajna razlika je i dalje postojala (Grafikon br.16.).



Grafikon br. 16. Nivo IL-6 kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

A vs B $p = \text{NS}$; A vs C $p < 0.01$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p < 0.05$; B vs D $p < 0.05$;
C vs D $p = \text{NS}$

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou IL-6 između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno grupa A i B, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, C i D koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.16.). Međutim nivo IL-6 se statistički visoko značajno razlikovao između grupa A i D koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa A i C, koje se karakterišu prisustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.16.). Istovremeno nađena je statistički značajna razlika u nivou IL-6 između grupa sa prisutnom arterijskom hipertenzijom B i C, koje se međusobno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa B i D, bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.16.).

Nivo IL-6 je visoko statistički značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u pozitivnom smeru, kao i sa OGIS-om ali u negativnom smeru (Tabela br.16.).

Tabela br.16. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivoa IL-6 kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
IL-6	-0.287	<0.01	0.390	<0.01	0.319	<0.01

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, IL-6 u pozitivnom smislu određuje nivo bazalne insulinemije, $\beta=0.58$, $p=0.025$ i nivo HOMA-IR, $\beta=0.298$, $p=0.01$.

Kada je IL-6 zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR-a.

Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuje nivo IL-6. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, onda se ova veza gubi.

Logističkom linearnom analizom IL-6 ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

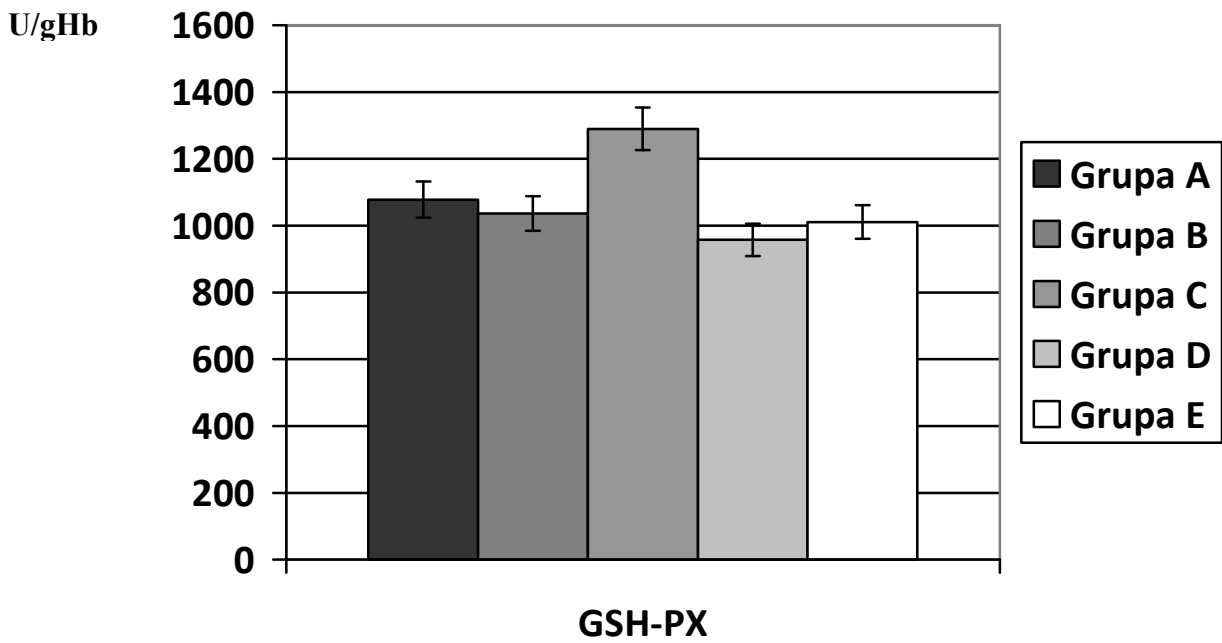
4.6. Analiza odnosa insulinske rezistencije, nivoa antioksidantnog statusa i arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Prethodna istraživanja su pokazala da povišena koncentracija slobodnih radikala koja odražava povišen nivo oksidativnog stresa ubrzava proces ateroskleroze i kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, ali i kod nedijabetičara. Poznato je da superoksid dismutaza inhibira biološku aktivnost azot oksida (NO) koji je faktor relaksacije endotela, što dovodi do vazokonstrukcije, ali istovremeno ostvaruje i direktan uticaj na endotel i glatke mišićne ćelije krvnih sudova. Takođe je pokazano da insulinska rezistencija korelira sa povećanom produkcijom superoksid dismutaze, ali i manjim nivoom NO. Istovremeno angiotenzinogen II, vazokonstriktor udružen sa arterijskom hipertenzijom, ima suprotan efekata od NO, doprinoseći produkciji slobodnih radikala, i povećavajući ekspresiju proinflamatornih citokina.

U tom smislu urađena je analiza prisustva arterijske hipertenzije sa izmenjenim antioksidantnim statusom kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Nivoa antioksidantnog statusa, glutation peroksidaze (GSH-Px), superoksid dismutaze (SOD) i totalnog antioksidantnog statusa (TAS) je određivan metodom spektrofotometrije.

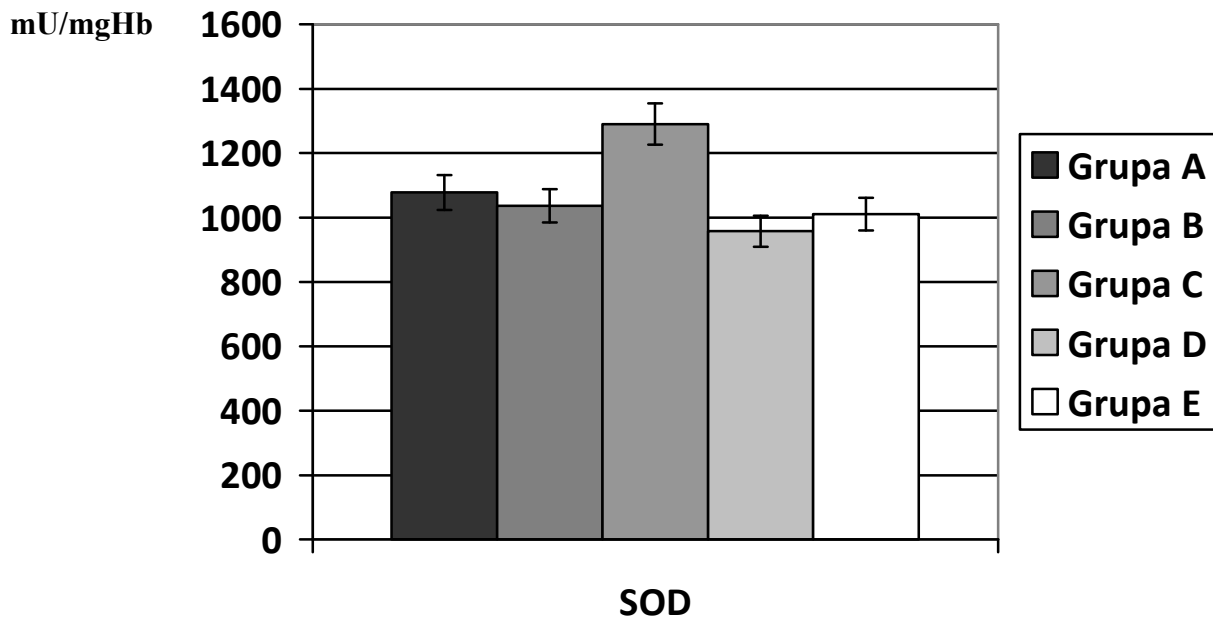
Analizom dobijenih rezultata nije registrovana značajna razlika u nivou GSH-PX, SOD između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika, osim grupe negojaznih dijabetičara sa arterijskom hipertenzijom (Grafikoni br. 17. i 18.). Istovremeno nađena je statistički značajna razlika u nivou TAS između svih ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br. 19.)



Grafikon br. 17. Nivo GSH-PX kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

A,B, D vs E $p = \text{NS}$; C vs E $p < 0.05$

A vs B, A vs C, A vs D $p = \text{NS}$; B vs C; B vs D $p < 0.05$

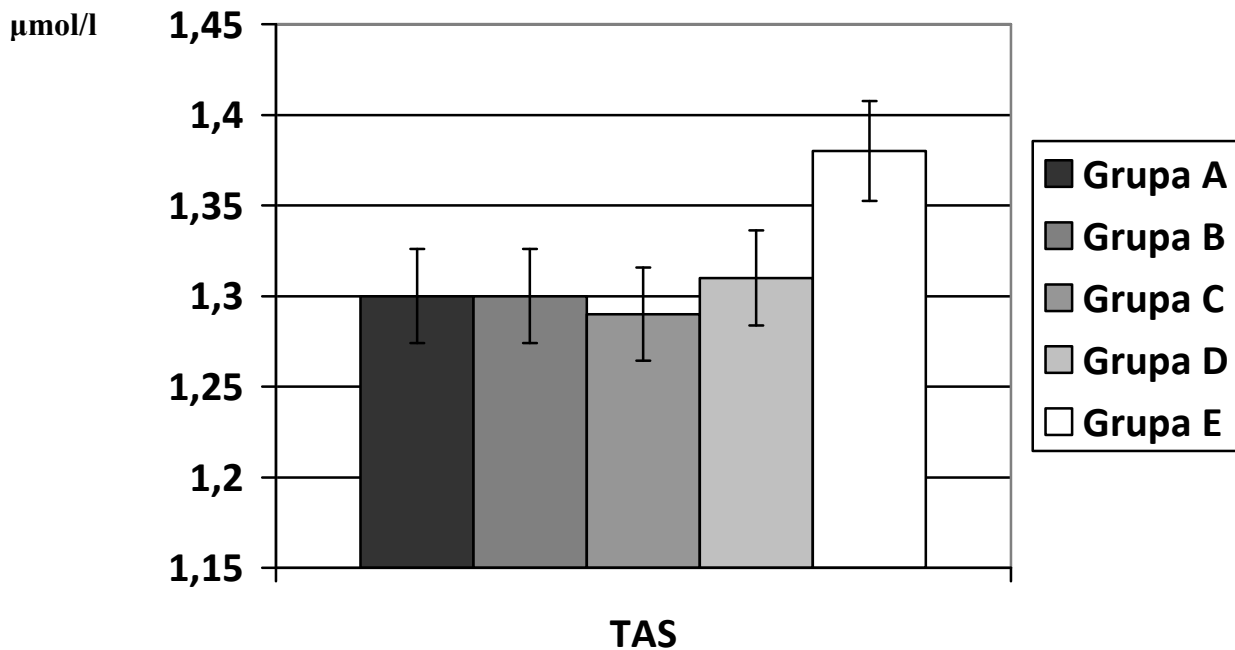


Grafikon br. 18. Nivo SOD-a kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

A,B,D vs E $p = NS$ i C vs E $p < 0.05$

A vs B $p=NS$, A vs B $p=NS$, A vs D $p=NS$, A vs C ; B vs C; D vs C $p < 0.05$

B vs D $p=NS$



Grafikon br. 19. Nivo TAS-a kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

A,B,C,D vs E $p < 0.05$

A vs B, A vs C; A vs D; B vs C; B vs D $p=NS$

Detaljnijom analizom nađena je statistički značajna razlika u nivou GSH-Px grupe B, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez arterijske hipertenzije i grupe E, kao i između grupe C, negojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i prisustvom arterijske hipertenzije i grupe E (Grafikon br.18.). Takođe, u nivou GSH-Px je nađena statistički značajna razlika između grupe B i D, koje se međusobno razlikuju samo u odnosu na stepen gojaznosti (Grafikon br.18.). Između grupa A i C koje se takođe razlikuju po stepenu gojaznosti, ali ne i po prisustvu arterijske hipertenzije nađena je statistički značajna razlika u nivou SOD (Grafikon br.19.).

Istovremeno nije nađena statistički značajna korelacija između ispitivanih parametara antioksidatnog statusa i nivoa bazalne insulinemije niti sa parametrima insulinske senzitivnosti, HOMA-IR-om niti sa OGIS-om (Tabela br 17.).

Tabela br. 17. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivoa antioksidantnog statusa kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	r	p	r	p	r	p
GSH-Px	-0.141	NS	-0.096	NS	-0.141	NS
SOD	-0.080	NS	0.106	NS	0.128	NS
TAS	-0.063	NS	0.158	NS	0.083	NS

Kada su ispitivani parametri antioksidantnog statusa zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, nivo TAS u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR-a, $\beta=2.663$, $p=0.01$, a nivo bazalne insulinemije u negativnom smeru, $\beta=-1.982$, $p=0.052$.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo insulina u bazalnim uslovima i insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuju nivoi GSH-Px i TAS. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija kao fiksna varijabla ova veza se i dalje održava.

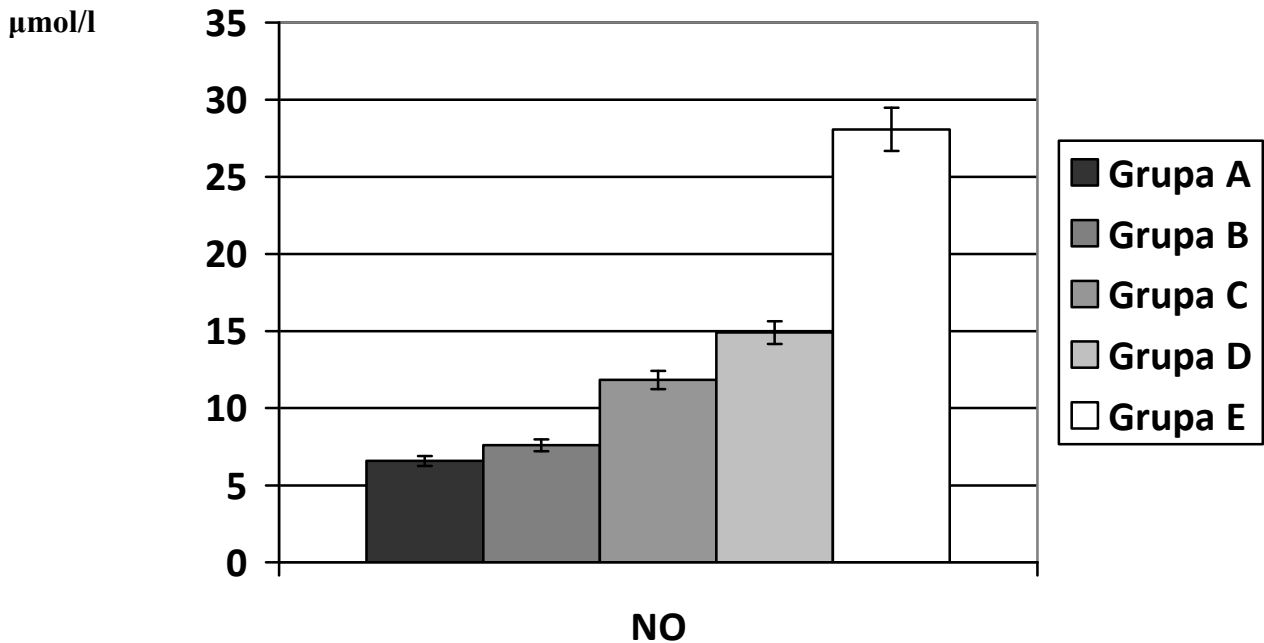
Logističkom linearnom analizom interakcija nivoa bazalne insulinemije i SOD, interakcija HOMA-IR i SOD kao i interakcija OGIS-a i TAS prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa ali u sa veoma malom verovatnoćom. Istovremeno interakcija između FM i SOD predikuje prisustvo arterijske hipertenzije sa nešto većom verovatnoćom.

4.7. Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije, nivoa NO i NOS i pojave arterijske hipertenzije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

Vrednost nivoa azot oksida u plazmi je određivana kolorimetrijskom metodom (konvencionalni set firme Calbiochem), ranije opisanim postupkom.

Vrednost nivoa azot oksida sintetaze u plazmi je određivana kolorimetrijskom metodom (konvencionalni set firme Calbiochem), ranije opisanim postupkom.

Nivo NO je bio najviši u grupi D, negojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez arterijske hipertenzije, a najniži u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom (Grafikon br. 20.).



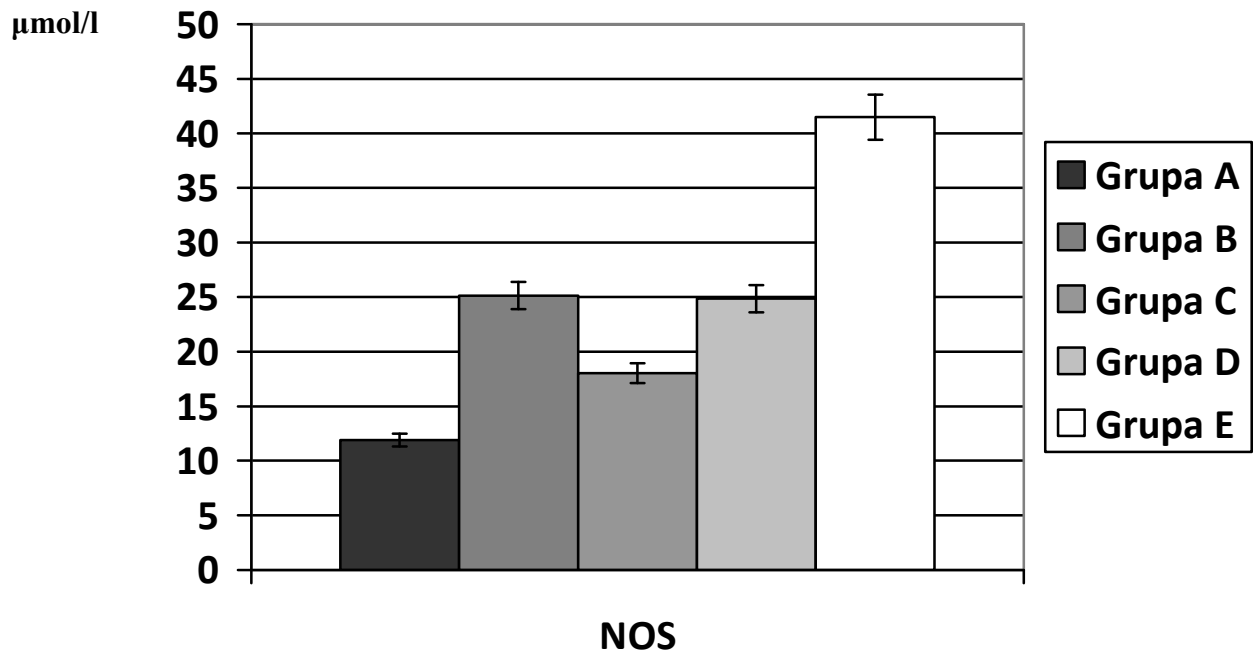
Grafikon br. 20. Nivo NO-a kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

A,B,C,D vs E $p < 0.01$

A vs B $p < 0.01$; A vs C $p < 0.01$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p < 0.01$;

B vs D $p < 0.01$; C vs D $p < 0.01$

Istovremeno najviši nivo NOS-e je bio u grupi B, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez arterijske hipertenzije, a najniži isto u grupi A, gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom (Grafikon br.21.).



Grafikon br 21. Nivo NOS-a kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i zdravih ispitanika

A,B,C,D vs E $p < 0.01$

A vs B $p < 0.01$; A vs C $p < 0.01$; A vs D $p < 0.01$; B vs C $p < 0.01$;

B vs D $p = \text{NS}$; C vs D $p < 0.01$

Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou NO, NOS-e između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br.20.i 21.).

Kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa visoko statistički značajna razlika je i dalje postojala. Detaljnijom analizom nađena visoko statistički značajna razlika i u nivou NO i NOS-e između grupa gojaznih dijabetičara, odnosno grupa A i B, kao i između grupa negojaznih dijabetičara, C i D koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br. 20. i 21.). Takođe, nivo NO i NOS-e se visoko statistički značajno razlikovao između grupa A i D koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa A i C, koje se karakterišu prisustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br. 20. i 21.).

Istovremeno nađena je visoko statistički značajna razlika u nivou NO i NOS-e i između grupa B i C, koje se međusobno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije. Međutim između grupa B i D, bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti registrovana je visoko statistički značajna razlika samo u nivou NO (Grafikon br. 20. i 21.).

Istovremeno nivo NO i NOS-e je visoko statistički značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u negativnom smeru, kao i sa OGIS-om, ali u pozitivnom smeru (Tabela br.18.).

Tabela br.18. Povezanost parametara insulinske rezistencije i nivoa No i NOS-a kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

	OGIS		HOMA-IR		Insulinemija	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p
NO	0.455	<0.01	-0.547	<0.01	-0.543	<0.01
NOS	0.569	<0.01	-0.586	<0.01	-0.536	<0.01

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, NO u negativnom smeru određuje nivo bazalne insulinemije, $\beta=-0.293$, $p=0.028$, dok NOS u negativnom smeru određuje nivo HOMA-IR, $\beta=-0.272$, $p=0.042$, a OGIS u pozitivnom smislu, $\beta=0.297$, $p=0.026$.

Kada su NO i NOS zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njihov nivo u pozitivnom smeru predikuje nivo OGIS-a.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo NO i NOS-e predikuje insulinska senzitivnost određena OGIS-om. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija kao fiksna varijabla, onda se ova veza ne menja.

Logističkom linearnom analizom niti nivo NO niti NOS-e ne predikuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Logističkom linearnom analizom interakcija nivoa bazalne insulinemije i NO i NOS-e, interakcija HOMA-IR i NO i NOS-e kao i interakcija OGIS-a i NOS-e prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa sa značajnom verovatnoćom. Istovremeno interakcija između parametara gojaznosti, ITM, FM i OS sa NO i NOS-om ne predikuje prisustvo arterijske hipertenzije.

V DISKUSIJA

Rezultati dobijeni u ovom radu pokazuju da je povišeni nivo insulinske rezistencije kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa značajno povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije.

Sa druge strane, ostvarivanje uočenog poremećaja insulinske senzitivnosti u nastanku arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa je povezano sa značajnim metaboličkim determinantama (izmenama u lipidnom statusu, promenama u nivou adipocitikina, stepena inflamacije, sniženjem nivoa antioksidantnog statusa) i prisustvom visceralne gojaznosti.

U literaturi postoje brojni podaci koji se odnose na istu oblast istraživanja, pa će dobijeni rezultati u okviru ovoga rada biti diskutovani u svetlu postojećih saznanja.

Ispitivanje povezanosti insulinske rezistencije i nastanka arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa proisteklo je iz saznanja da je u osnovi etiopatogenetskog mehanizma nastanka tipa 2 dijabetesa smanjena osetljivost perifernih tkiva na insulin (smanjena insulinska senzitivnost, odnosno insulinska rezistencija), uz postojanje povišenog nivoa insulinemije, kako bi se ostvario normalan biološki efekat insulina (14,16,56).

Sa druge strane, insulinska rezistencija je i u osnovi patogeneze arterijske hipertenzije i u uslovima kada nije prisutan tip 2 dijabetesa. Međutim, činjenica da velika većina pacijenata sa tipom 2 dijabetesa ima i arterijsku hipertenziju, otežava tačnu procenu uloge same insulinske rezistencije u nastanku arterijske hipertenzije u uslovima već prisutnog tipa 2 dijabetesa. Do sada nije sasvim razjašnjen patofiziološki mehanizam kojim rezistencija na biološke efekte insulina, per se, može dovesti do pojave arterijske hipertenzije. Postoje, međutim, brojni dokazi da metaboličke posledice prisustva insulinske rezistencije igraju centralnu ulogu u nastanku ateroskleroze, ali to saznanje nimalo ne pojednostavljuje vezu između insulinske rezistencije i arterijske hipertenzije, koja je i dalje predmet intenzivnih proučavanja (3,9,10,17). Prethodne

studije su pokazale da ispoljavanje tipa 2 dijabetesa, hiperlipoproteinemije, ili ateroskleroze predstavlja u osnovi fenotipsku ekspresiju udruženosti gena za insulinsku rezistenciju i nekog od gena za dijabetes, gena za hiperlipoproteinemiju ili gena za aterosklerozu (18,19). To objašnjava i nalaz Reavena da kod zdravih osoba čak 25% ispitanih ima značajno snižen nivo insulinske senzitivnosti, nivo koji je jednak kao kod osoba sa tipom 2 dijabetesa, ali nema nijedan od navedenih poremećaja, možda i zbog toga što nisu nosioci gena za te poremećaje (17).

U uslovima postojanja periferne insulinske rezistencije, odnosno smanjene utilizacije glukoze, stanje euglikemije se postiže kompenzatornim mehanizmima, u prvom redu beta ćelije pankreasa sekretuju veću količinu insulina i na taj način, kompenzatorna hiperinsulinemija obezbeđuje stanje euglikemije.

Do sada je razvijeno nekoliko, prilično složenih metoda *in vivo* merenja insulinske rezistencije, od kojih je najvažnija metoda euglikemijskog hiperinsulinemijskog klampa (23), a potom i metoda minimalnog modela (24). Obe navedene metode omogućuju dosta precizno merenje periferne utilizacije glukoze (prvenstveno u mišićnom tkivu), a kombinovane sa indirektnom kalorimetrijom (25) ili obeleženom glukozom (26) prilično su rasvetlile mehanizme delovanja insulina na nivou perifernih tkiva, ali i jetre. Navedenim ispitivanjima je pokazano da je regulacija celokupne homeostaze glukoze u organizmu kontrolisana primarno nivoom insulina i samom hiperglikemijom (odnosno insulin-nezavisno, glukozom posredovano preuzimanje glukoze u ćelijama) i da zavisi od tri vrlo blisko povezana mehanizma: a) supresije hepatičke produkcije glukoze; b) stimulacije preuzimanja glukoze u splanhičkim tkivima (jetra i gastrointestinalum) i c) stimulacije preuzimanja glukoze u perifernim tkivima (prvenstveno mišićnom tkivu) (1).

U fiziološkim uslovima, nakon unosa hrane ili nakon stimulacije glukozom, insulin se sekretuje u portalnu venu i prenosi do jetre gde se vezuje za specifične receptore u hepatocitima i suprimira hepatičku produkciju glukoze (glikogenolizu i glukoneogenezu), a sa druge strane, u perifernim tkivima stimuliše preuzimanje glukoze, sve sa ciljem održanja euglikemije. U tipu 2 dijabetesa je utvrđeno postojanje ne samo periferne insulinske rezistencije, već i insulinske rezistencije na nivou jetre, pa i pored prisutne kompenzatorne hiperinsulinemije (kako u bazalnim uslovima, tako i

postprandijalno) postoji značajno povećana hepatička produkcija glukoze i posledična hiperglikemija (1,49,52,54,55)

S obzirom da su navedeni testovi za ispitivanje insulinske rezistencije dosta komplikovani, skupi i zahtevaju puno uzimanja uzoraka nisu pogodni za ispitivanje većeg broja pacijenata, naročito za epidemiološke studije, te se u proteklih nekoliko godina veliki broj istraživača bavio istraživanjima jednostavnijeg testa za procenu insulinske rezistencije (27,28,29). U ovom radu smo se odlučili da procenu insulinske rezistencije sprovedemo određivanjem indeksa OGIS tokom 2h oralnog testa glukozne tolerancije (oral glucose tolerance test, OGTT) sa određivanjem glikemije i insulinemije i kompjuterskom obradom dobijenih rezultata, uzimajući u obzir prethodno pokazanu izuzetno dobru korelaciju ovog testa sa euglikemijskim hiperinsulinemijskim klampom posebno u uslovima prisustva tipa 2 dijabetesa. Potrebno je naglasiti da OGIS indeks prvenstveno odražava senzitivnost na nivou perifernih tkiva, odnosno perifernu insulinsku rezistenciju (28,58,74).

Istovremeno je pokazano da homeostazni model (HOMA-IR) izračunat iz bazalnih vrednosti nivoa insulinemije i glikemije može predstavljati drugi marker insulinske rezistencije pogodan za epidemiološke studije, s obzirom da dobro korelira sa metodom klampa i minimalnog modela (38,40) Međutim, određivanje HOMA-IR, s obzirom da se izračunava iz bazalnih vrednosti insulinemije i glikemije, prvenstveno odražava hepatičku insulinsku rezistenciju, odnosno većim delom zavisi od hepatičke produkcije glukoze, (29,36) dok druga dva testa (klamp i OGIS) bolje odražavaju perifernu utilizaciju glukoze zavisnu od insulina (odnosno perifernu insulinsku rezistenciju). Nedavno je pokazano, dugotrajnim praćenjem pacijenata koji su kasnije razvili dijabetes, da se mereno HOMA-IR insulinska rezistencija povećala čak 3,6 puta tokom perioda od normalne tolerancije glukoze do ispoljavanja dijabetesa, dok rezultati istovremenog ispitivanja klampom pokazuju da se rezistencija povećala za 30% (36). Ovi rezultati ukazuju da na vrednosti dobijene HOMA modelom više utiču vrednosti glikemije naše, posebno u uslovima hiperglikemije (zavisne u prvom redu od hepatičke produkcije glukoze, odnosno insulinske rezistencije na nivou jetre) nego periferna insulinska senzitivnost per se. Stoga HOMA-IR bolje reflektuje insulinsku rezistenciju na nivou jetre.

Iz navedenih razloga u ovom radu je za ispitivanje insulinske rezistencije su korišćena dva indeksa: (a) OGIS kao pokazatelja periferne insulinske rezistencije i (b) HOMA-IR kao pokazatelj hepatičke insulinske rezistencije.

U nameri da se ispita uticaj insulinske rezistencije na prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, u ovom radu je najpre analiziran nivo insulinske senzitivnosti u ovih pacijenata.

Istovremeno, da bi se izbegao poznati nepovoljan efekat glukozne toksičnosti (u uslovima hiperglikemije) na rezultate ispitivanja insulinske senzitivnosti (27) u radu smo ispitivanje sprovedi u uslovima optimalne metaboličke kontrole, u približno jednakom vremenskom intervalu u ispitivanim grupama pacijenata.

Kod ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nivo OGIS indeksa je bio značajno niži u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika (Tabela br.3.). Najniži nivo OGIS indeksa je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa prisutnom arterijskom hipertenzijom, a najviši u grupi zdravih ispitanika. Istovremeno registrovana je značajna razlika u nivou OGIS indeksa između svih ispitivanih grupa pacijenata sa dijabetesom tipa 2 i zdrave kontrolne grupe ispitanika (Tabela br.3.).

Dobijeni rezultati pokazuju, da je nivo insulinske senzitivnosti, meren i indeksom OGIS i HOMA-IR, značajno niži upravo kod pacijenata, koji pored dijabetesa imaju i prisustvo arterijske hipertenzije (Tabela br. 3.; Grafikon br. 1. i br. 2.). U modelu logističke linearne regresione analize, kada je prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postavljena kao zavisna varijabla nivo OGIS-a tokom 2h OGTT-a je parametar insulinske senzitivnosti koji je određuje i to u vidu negativne korelacije, što je niža vrednost OGIS-a pojava arterijske hipertenzije je verovatnija.

U nameri da se u potpunosti ispita uticaj insulinske rezistencije i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa u radu je analiziran bazalni nivo insulinemije, kao markera insulinske rezistencije u ovih pacijenata. Dobijeni rezultati pokazuju da kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postoji značajno viši nivo insulinemije u bazalnim uslovima u poređenju sa zdravom kontrolom, ali nije nađena značajna povezanost između nivoa bazalne insulinemije i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Tabela br. 3, Grafikon br. 3).

Istovremeno, nivo bazalnog insulina se nije značajno razlikovao između grupa gojaznih dijabetičara, niti između negojaznih dijabetičara (Grafikon br.3.), ali je dobijena značajan razlika u nivo bazalne insulinemije između grupa koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti, ali ne i u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.3.).

Nivo bazalnog insulina nije određivao prisustvo arterijske hipertenzije, ali je odražavao prisustvo gojaznosti u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima. Naime, pokazano je da u uslovima insulinske rezistencije postoji kompenzatorna hiperinsulinemija u bazalnim uslovima sa ciljem održavanja stanja euglikemije (55,66). Dok u nedijabetičara nivo insulinemije prilično precizno odražava stepen insulinske rezistencije, u dijabetičara ovaj odnos je mnogo komplikovaniji, i u velikoj meri zavisi i od drugih metaboličkih poremećaja koji se viđaju u dijabetesu (63,66), kao što će u daljem tekstu i biti objašnjeno.

Kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i gojaznošću pojava arterijske hipertenzije je značajno češća i smatra se da je povezana sa povišenim nivoom insulinske rezistencije (1). Takođe se smatra da je ova veza potencirana prisustvom pre svega visceralne gojaznosti (45,56).

Istovremeno kada poremećaj tolerancije na glukozu nije prisutan pokazana je značajna povezanost prisustva visceralne gojaznosti i insulinske rezistencije i u osoba sa esencijalnom hipertenzijom (3,30,78).

U tom smislu analizirana je povezanost stepena insulinske rezistencije i različitih parametara za procenu gojaznosti kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa na pojavu arterijske hipertenzije.

Dobijeni rezultati pokazuju da nije bilo značajne razlike u pogledu ITM između gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, kao ni između negojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa koje se međusobno razlikuju po prisustvu arterijske hipertenzije (Tabela br.2.). Statistički značajna razlika za ITM, FAT% i FM je registrovana između grupa koji imaju arterijsku hipertenziju, ali se razlikuju u odnosu na stepen gojaznosti. Istovremeno statistički značajna razlika je registrovana i između grupa koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Tabela br.2.).

Dobijeni rezultati su u skladu sa nalazima dosadašnjih ispitivanja, koja nisu sasvim razjasnila odnos gojaznosti i stepena insulinske rezistencije sa kompenzatornom hiperinsulinemijom kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa. Iako je poznato da su i gojaznost i tip 2 dijabetesa stanja u kojima je jasno pokazano prisustvo insulinske rezistencije i kompenzatorne hiperinsulinemije (48,49) pojedini autori nisu našli korelaciju između stepena ukupne gojaznosti i stepena insulinske rezistencije u pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (49,50,51) i zaključuju da stepen gojaznosti ne modulira nivo insulinske rezistencije i insulinemije u tipu 2 dijabetesa. Sa druge strane, dobro je poznat efekat smanjenja telesne težine na smanjenje insulinske rezistencije i nivoa insulina (37,61), a u skladu sa tim su i nalazi drugih autora koji pokazuju postojanje korelacije između stepena gojaznosti i insulinske rezistencije u tipu 2 dijabetesa (38,59,63) ukazuju da je kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa oko 60% postojeće insulinske rezistencije rezultat dijabetesa per se, a 40% je rezultat gojaznosti. Sa druge strane, prema rezultatima istih istraživanja, korelacija između stepena insulinske rezistencije i hiperinsulinemije i gojaznosti u pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postoji ukoliko je ITM $> 28\text{kg/m}^2$, dok se u pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i nedijabetičara sa nižim ITM ova korelacija više nije mogla uočiti.

Ovakvi nalazi su u skladu i sa rezultatima u okviru ovoga rada gde nije nađena korelacija uočenog poremećaja insulinske senzitivnosti sa vrednostima ITM u naših pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, s obzirom da je ITM u ispitivanim grupama pacijenata bio manji od 28 kg/m^2 .

Međutim dobijeni rezultati ukazuju da postoji značajna razlika u pogledu abdominalne gojaznosti merene OS između ispitivanih grupa dijabetičara i kontrolne grupe (Grafikon br.5.).

Istovremeno nije postojala statistički značajna razlika u OS između grupa gojaznih dijabetičara, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara koje se međusobno razlikuju po prisustvu arterijske hipertenzije (Grafikon br.5.). Statistički značajna razlika za OS je registrovana između grupa koji imaju arterijsku hipertenziju, ali se razlikuju u odnosu na stepen gojaznosti (Grafikon br.5). Istovremeno statistički značajna razlika je registrovana i između grupa koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.5.).

Stepen insulinske rezistencije je značajno korelirao sa pokazateljima gojaznosti. Naime registrovana je značajna pozitivna korelacija između ITM i insulinemije i HOMA-IR (Tabela br.5.). Takođe registrovana je značajna, ali negativna korelacija između FAT% i OGIS-a, a pozitivna korelacija ovog parametra gojaznosti sa nivoom HOMA-IR. Dok je masa masnog tkiva značajno pozitivno korelirala sa nivoom HOMA-IR u ispitivanoj grupi pacijenata.

Parametar abdominalne gojaznosti, OS kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa je značajno koreliralo, ali je istovremeno i određivao nivo bazalne insulinemije (Tabela br.5).

Nivo bazalne insulinemije je bio određen i udelom masnog tkiva i njegovom količinom izraženom u kg u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2 dijabetesa. Multivarijantnom analizom masa masnog tkiva značajno korelira sa parametrima insulinske senzitivnosti i HOMA-IR i OGIS, kao i nivoom bazalne insulinemije. Kada je u ovaj model uneta i arterijska hipertenzija, značajnosti ove korelacije postaje slabija.

Značajno je naglasiti da negativni prediktor prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa je FFM., dok njen pozitivni prediktor je OS koji pozitivno korelirala sa prisustvom arterijske hipertenzije. Kada se u ovaj model logističke regresione analize uključe i parametri insulinske rezistencije, onda taj prediktor postaje OGIS, koji takođe negativno korelira sa pojavom arterijske hipertenzije u ovoj grupi pacijenata. Istovremeno ovaj model objašnjava vezu između ovih parametara do 50%.

Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima koji ukazuju na značaj stepena ukupne, ali i abdominalne gojaznosti, koja predstavlja sastavni deo sindroma insulinske rezistencije i u uslovima kada ne postoji tip 2 dijabetesa (17,54). S druge strane prisustvo arterijske hipertenzije značajno doprinosi pojavi insulinske rezistencije i u uslovima kada gojaznost nije prisutna što je pokazano u ranijim radovima u kojima je ispitivan mogući uticaj insulinske rezistencije u patogenezi esencijalne arterijske hipertenzije (3,78).

Poznato je da je insulinska rezistencija udružena sa gojaznošću, ali su prethodne studije pokazale i da je stepen insulinske rezistencije izraženiji u osoba koje imaju i centralni tip gojaznosti, odnosno abdominalni raspored masnog tkiva (55,140).

Epidemiološka istraživanja su ukazala da je povišen struk/kuk odnos kao mera prisustva abdominalne gojaznosti, važan nezavisan faktor rizika za razvoj arterijske hipertenzije, i u muškaraca i u žena, a dodatno prisustvo i ukupne gojaznosti amplifikuje ovaj rizik (45,46,57,71). Međutim, nije sasvim razjašnjeno na koji način je prisustvo abdominalnog tipa gojaznosti povezano sa povećanjem stepena insulinske rezistencije i kompenzatorne hiperinsulinemije. Rezultati prethodno navedenih ispitivanja gde je pokazano da je hiperinsulinemija jedna od posledica abdominalne gojaznosti, ali i prethodno izneti nalazi da uočena insulinska rezistencija i hiperinsulinemija nisu samo posledica abdominalne gojaznosti, naročito u pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, sugerišu da odnos hiperinsulinemija-abdominalna gojaznost nije jednoznačan i da povišeni nivo insulina svoje aterogene efekte ne ispoljava kroz ispoljavanje abdominalnog tipa gojaznosti, već obrnuto, hiperinsulinemija je verovatno jedna od niza metaboličkih posledica poremećaja rasporeda masnog tkiva i prisustva kvalitativno i kvantitativno drugačijih adipocita u predelu abdomena, čime je rizik za pojavu arterijske hipertenzije, i u dijabetičara i u nedijabetičara značajno povišen (74).

Međutim, i složeni poremećaji na nivou steroidnih hormona, hiperaktivnost CRF-ACTH-kortizol osovine, (30,53,62) i poremećaji nivoa polnih hormona (53) mogu dovesti do povećanja abdominalnog masnog tkiva, smanjenja insulinske senzitivnosti i, kao što je u prospektivnim studijama pokazano, povećati rizik za razvoj tipa 2 dijabetesa (39,40,46,75), što povezanost prisustva abdominalne gojaznosti i njenog krajnjeg rezultata, hiperinsulinemije, posebno u dijabetesu, čini još složenijim.

Rezultati u okviru ovoga rada takođe pokazuju da je kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa značajno veća učestalost abdominalnog tipa gojaznosti, ali i da je značajno korelirala sa poremećajem insulinske senzitivnosti, dominantno na nivou jetre.

U nameri da se ispita povezanost uočene insulinske rezistencije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa sa drugim metaboličkim poremećajima koji mogu postojati u dijabetesu, u ovom radu je ispitivana povezanost insulinske rezistencije sa poremećajima u metabolizmu lipoproteina, izmenama u nivou adipocitokina, smanjenja nivoa antioksidantnog statusa i prisutne gojaznosti na pojavu arterijske hipertenzije.

U dosadašnjim studijama prilično detaljno su proučavani faktori rizika za razvoj arterijske hipertenzije u opštoj populaciji, kao što su i poremećaji u metabolizmu

lipoproteina. Međutim uprkos dugogodišnjim istraživanjima, rezultati epidemioloških, kao i podaci velikih prospektivnih populacionih studija nisu bili konkluzivni u onoj meri u kojoj su poremećaji nivoa serumskih lipida, ukupnog holesterola, LDL- h, HDL- h i triglicerida smatraju klasičnim faktorima rizika za koronarnu bolest. Iako je u većini radova istaknut značaj pre svega povišenog nivoa ukupnog holesterola i LDL-h, snižen nivo HDL-h i povišenog nivoa triglicerida, smanjen odnos HDL-h/ApoA1 kao važnih faktora rizika za razvoj arterijske hipertenzije u opštoj populaciji, mada dominantno starije životne dobi, njihova aterogena uloga nije sasvim razjašnjena (79,80,81,87).

Sa druge strane, nije sasvim razjašnjena ni uloga poremećaja insulinske senzitivnosti, odnosno insulinske rezistencije u nastanku navedenih promena u metabolizmu lipoproteina u tipu 2 dijabetesa.

Rezultati u okviru ovoga rada su pokazali da viši nivo insulinske rezistencije sa kompenzatornom hiperinsulinemijom, može amplifikovati poremećaje u metabolizmu lipida, posebno kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa dovodeći do pojave arterijske hipertenzije kod ovih pacijenata, kao što je to sugerisano u okviru nekih drugih studija koje su otkrile ovu povezanost sa opsežnijom i intenzivnijim oblikom koronarne bolesti u čijoj je osnovi takođe proces ateroskleroze (80).

Rezultati u okviru ovoga rada pokazuju značajnu razliku u nivou HDL-h i triglicerida između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Tabela br.6.). Analizom između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa statistički značajna razlika je i dalje postojala u nivou ova dva parametra (Grafikon br.6.), pri čemu je nivo HDL-h bio najniži u grupi gojaznih pacijenata sa prisutnom arterijskom hipertenzijom, a najviši u grupi negojaznih dijabetičara bez prisutne arterijske hipertenzije, dok je nivo triglicerida bio najviši u grupi gojaznih pacijenata sa prisutnom arterijskom hipertenzijom, a najniži upravo kod negojaznih pacijenata bez prisustva arterijske hipertenzije (Grafikon br.6.).

Detaljnijom analizom značajna razlika u nivou HDL-h je postojala između grupa gojaznih dijabetičara, kao i grupa koje se međusobno razlikuju i po prisustvu gojaznosti i arterijske hipertenzije (Grafikon br.6.). Istovremeno između grupa koje se međusobno razlikuju i odnosu na gojaznost i u odnosu na hipertenziju nađena je statistički značajna razlika u nivou HDL-h i triglicerida (Grafikon br 6.). Međutim između grupa negojaznih

dijabetičara, nije postojala statistički značajna razlika u nivou standardnih lipidskih parametara (Grafikon br.6.).

Istovremeno procenjujući povezanost standardnih lipidskih parametara sa parametrima insulinske rezistencije, dobijena je značajna povezanost nivoa HDL-h sa ovim parametrima. Naime, nivo HDL-h je statistički značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u negativnom smeru, kao i sa OGIS-om, ali u pozitivnom smeru (Tabela br.7.). Istovremeno nivo triglicerida je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i HOMA-IR-om u pozitivnom smeru, a sa OGIS-om u negativnom smeru (Tabela br.7.).

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, nivo triglicerida određuje nivo bazalne insulinemije i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu, dok nivo OGIS-a prediktuje u negativnom smeru.

Kada su standardni lipidski parametri zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, nivo HDL-h u pozitivnom smeru prediktuje nivo OGIS-a.

Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuje nivo triglicerida. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, ova veza neznatno smanjuje nivo značajnosti, što ne ukazuje na značajan doprinos samog prisustva gojaznosti na vezu između insulinske rezistencije i prisutne dislipidemije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Logističkom linearnom analizom nivo standardnih lipidskih parametara ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima većine autora, koje su pokazali da izmene u nivou triglicerida ne moraju značajno korelirati sa parametrima periferne insulinske rezistencije, merene nivoom Si, ali značajno koreliraju sa drugim parametrom procene insulinske senzitivnosti, HOMA-IR (36), što se verovatno može objasniti činjenicom da HOMA-IR pre svega odražava insulinsku rezistenciju na nivou jetre u bazalnim uslovima (36) i da je sinteza triglicerida, odnosno VLDL-Tg određena

supresijom neesterifikovanih masnih kiselina u uslovima očuvane insulinske sekrecije i senzitivnosti na insulin u jetri (36,82). Ispitivanja proteklih godina, iako vrlo opsežna, ipak nisu sasvim rasvetlila složene interakcije insulinske rezistencije i poremećaja metabolizma lipoproteina, kako u dijabetičara, tako i u nedijabetičara. Naime, pokazano je da je nivo VLDL-triglicerida determinisan brzinom sinteze VLDL-triglicerida u jetri, ali i brzinom odstranjivanja VLDL-triglicerida iz perifernih tkiva (87,99). Sa druge strane, koncentracija prisutnog insulina i raspoloživost supstrata su dva osnovna regulatora brzine odstranjivanja VLDL-triglicerida (91,92,97)

Takođe, pokazano je da u gojaznih nedijabetičara, osoba sa oštećenom tolerancijom glukoze i osoba sa tipom 2 dijabetesa insulinska rezistencija sa kompenzatornom hiperinsulinemijom značajno povećava sintezu VLDL-triglicerida u jetri (77,79).

Udruženost hiperinsulinemije i hipertrigliceridemije nađena je i u velikim populacionim studijama (35,36,37,75), dok je u prospektivnim studijama pokazano da hiperinsulinemiji prethodi pojavi hipertrigliceridemije (35,37).

U dosadašnjim ispitivanjima pokazano je da u tipu 2 dijabetesa hipertrigliceridemija može biti rezultat povećane produkcije VLDL-triglicerida. (83,84,86,87).

Međutim, u osoba sa tipom 2 dijabetesa, pored hiperinsulinemije, postoji i poremećaj metabolizma glukoze, a pokazano je da je u tim uslovima povećano dopremanje glukoze i slobodnih masnih kiselina u jetru uz porast i glukoneogeneze u jetri, što čini dodatni supstrat za sintezu VLDL-triglicerida. (15,82,86,87). Pored toga, u tipu 2 dijabetesa postoji i smanjenje klirensa VLDL-triglicerida, ali i rezistencija lipoproteinske lipaze na delovanje insulina (90,99).

Iz navedenog proizilazi da u osoba sa tipom 2 postojanje hipertrigliceridemije nije rezultat samo hiperinsulinemije, već i udruženog delovanja i drugih metaboličkih poremećaja koji postoje u dijabetesu, prvenstveno na nivou metabolizma glukoze i slobodnih masnih kiselina u jetri, što može modulirati nalaz nivoa triglicerida u pacijenata sa dijabetesom u naše ispitivanju.

Moguće objašnjenje dobijenih rezultata koji se odnose na povezanost stepena insulinske rezistencije i povišenog nivoa triglicerida, odnosno nižeg nivoa HDL-h, a

koje je u skladu sa literarnim podacima jesu i rezultati dobijeni u našem ispitivanju. Naime, analizom dobijenih rezultata iako nije registrovana značajna razlika u nivou SMK između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika, niti samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa (Grafikon br.15.). potvrđena je povezanost parametara insulinske senzitivnosti HOMA-IR i OGIS-a i bazalne insulinemije i nivoa SMK. Da su mehanizmi nastanka arterijske hipertenzije u tipu 2 dijabetesa izuzetno kompleksni i da u njihovoj osnovi nije samo insulinska rezistencija potvrđuje i nalaz da nivo SMK značajno određuje stepen insulinske rezistencije meren nivo HOMA-IR, odnosno bazalnom insulinemijom, ali istovremeno ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije.

I konačno, ekperimentalnim radovima je pokazano da u uslovima povišenja nivoa SMK dolazi i do smanjenja klirensa portalnog insulina što, imajući u vidu i prethodno iznete činjenice, u krajnjem dovodi do hiperinsulinemije, odnosno do insulinske rezistencije na nivou mišića i jetre. Složenim metodama merenja insulinske senzitivnosti, pokazano je da u uslovima abdominalne gojaznosti postoji smanjenje insulinske senzitivnosti i na nivou jetre i perifernog mišićnog tkiva (26,27,36). Dakle, krajnji rezultat povišenog nivoa SMK nađenog u abdominalnoj gojaznosti je smanjena insulinska senzitivnost u jetri, pojačana hepatska produkcija glukoze i hiperinsulinemija delom uzrokovana zbog smanjenog hepatskog klirensa insulina, a većim delom zbog insulinske rezistencije u perifernom mišićnom tkivu. Vrlo značajno istraživanje u ovoj oblasti sprovedli su Boden i sar. (66) koji su pokazali da u uslovima dugotrajne infuzije lipida (odnosno slobodnih masnih kiselina) dolazi do značajnog smanjenja insulinske senzitivnosti (mereno klamp metodom). Svi ovi poremećaji pokazani u abdominalnoj gojaznosti su i početni poremećaji koji postoje u stanjima oštećene tolerancije glukoze i tipu 2 dijabetesa (16,38).

Prema dobijenim rezultatima u okviru ovoga rada, kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nije uočena povezanost između nivoa ukupnog holesterola kao ni nivoa LDL-h i ispitivanih indeksa insulinske senzitivnosti (OGIS, HOMA-IR), kao ni nivoa bazalne insulinemije (Tabela br.5.). Ovako dobijen negativan nalaz može ukazivati da u uslovima postojanja tipa 2 dijabetesa izmene u lipidnom statusu (niži nivo HDL-h i povišeni nivo triglicerida) su u značajnoj meri posledica izmenjenog stepena insulinske rezistencije, koje udruženo mogu dovesti do češće pojave arterijske hipertenzije.

Značajno je naglasiti da moguće objašnjenje ovako negativnog nalaza je u činjenici da je merenjem LDL-h ne merimo strukturne promene u LDL čestici, za koje je poslednjih godina pokazano da imaju značajnu ulogu u procesu ateroskleroze. U tom smislu, studije koje su se bavile ovim istraživanjima su pokazale da insulinemija, kao i stepen insulinske rezistencije meren klamp tehnikom značajno korelira sa "malim gustim" LDL (88-96). Na žalost u našem radu nije obuhvaćena analiza prisustva malih gustih LDL čestica.

Takođe poslednjih godina ukazano je i na značaj postprandijalne lipemije ne samo za razvoj ateroskleroze, već i u generisanju trigliceridima bogatih lipoproteina, što za posledicu ima i već opisane strukturne promene LDL i HDL partikule. Naime, stepen porasta postprandijalne lipemije je značajno veći kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, a korelira i sa hiperinsulinemijom (82). Nedavno je pokazano i da insulinska rezistencija i/ili hiperinsulinemija per se mogu biti glavni denominator brzine uklanjanja trigliceridima bogatih lipoproteina u postprandijalnom metabolizmu (81).

Sa druge strane, epidemiološke studije su ukazale na čestu negativnu korelaciju nivoa insulina i nivoa HDL-h, kako u nedijabetičara (95), tako i u dijabetičara (96,97,99).

S obzirom da do sada nije sasvim razjašnjena uloga insulinske rezistencije u nastanku navedenih poremećaja metabolizma lipoproteina, a u cilju ispitivanja determinanti aterogenog uticaja insulinske rezistencije u dijabetesu, u radu je analizirana i povezanost ispitivanih parametara insulinske senzitivnosti u ispitivanih pacijenata sa detektovanim promenama u nivou apolipoproteina.

Analizom dobijenih rezultata značajna razlika je registrovana jedino u nivou ApoA1 između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br.7.). Kada je analiza sprovedena samo između pacijenata sa tipom 2 dijabetesa statistički značajna razlika nije registrovana u nivou apolipoproteina (Grafikon br.7.)

Detaljnijom analizom značajna razlika u nivou ApoA1 je postojala između grupa koje se međusobno razlikuju i odnosu na gojaznost i u odnosu na hipertenziju (Grafikon br.7.). Takođe statistički značajna razlika je registrovana u nivou ApoA2 između grupa koje se međusobno razlikuju i po prisustvu gojaznosti i arterijske hipertenzije, i grupa koje se međusobno razlikuju samo po prisustvu gojaznosti (Grafikon br.8.).

Kada je analizirana povezanost izmenjenog nivoa apolipoproteina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa dobijena je značajna korelacija između nivoa ApoA1 i ApoE sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR i to ApoA1 u negativnom smeru, a sa ApoE u pozitivnom smeru (Tabela br.8.).

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, nivo ApoE određuje nivo bazalne insulinemije i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu.

Kada su apolipoproteini zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, nivo ApoE u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR, dok nivo ApoA2 određuje u negativnom smeru nivo bazalne insulinemije, a u pozitivnom smeru nivo oba parametra insulinske senzitivnosti HOMA-IR-a i OGIS-a.

Naši rezultati su uskladu sa literaturnim podacima. Istraživanja Golay i sar. (97) su pokazala da u tipu 2 dijabetesa, uprkos pojačane sinteze postoji snižen nivo HDL-h koji je rezultat pojačane Apo A1/HDL degradacije koja se ne može nadoknaditi ni pojačanom sintezom Apo A1 i HDL-a i u dijabetičara i u nedijabetičara. Golay i sar. su pokazali snažnu korelaciju povišenog nivoa insulina i sniženog nivoa apo A1 i HDL-h. Sa druge strane, pokazano je da u uslovima insulinske rezistencije i kompenzatorne hiperinsulinemije postoji ubrzana lipoliza VLDL-a što usporava transfer apolipoproteina i estara holesterola u HDL, a krajnji rezultat je povišen nivo VLDL-a i snižen nivo HDL-h, ali i da je aktivnost hepatičke lipaze koja reguliše klirens HDL-a (86) značajno povećana u stanjima hiperinsulinemije (91,99) Iz navedenog proizilazi da u uslovima hiperinsulinemije dolazi do značajnog poremećaja reverznog puta holesterola (ka jetri) sniženjem nivoa HDL-h i Apo A1 (79,80).

Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om i OGIS-om, kao i nivo bazalne insulinemije predikuje nivo ApoA2. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, ova veza neznatno smanjuje nivo značajnosti.

Dobijeni rezultati ukazuju na značajnu ulogu dijabetesa per se na vezu između parametara insulinske rezistencije i prisutne dislipidemije, bez obzira na stepen gojaznosti pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Istovremeno registrovane promene u nivou apolipoporteina ne predikuju prisustvu arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, naime rezultati dobijeni logističkom linearnom analizom u ispitivanoj grupi pacijenata, upravo to pokazuju.

Prema prethodno iznetim rezultatima u okviru ovoga rada i u svetlu dosadašnjih istraživanja proizilazi da insulinska rezistencija uočena kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom, ne ostvaruje svoj aterogeni uticaj u dijabetesu u većoj meri kroz poremećaje metabolizma različitih lipoproteinskih frakcija, kao i da uočene promene u nivou ispitivanih lipoproteina nisu povezane sa pojavom arterijske hipertenzije.

U nameri da se ispita povezanost uočene insulinske rezistencije i prisutne gojaznosti u pojavi arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa u ovom radu je ispitivana povezanost insulinske rezistencije sa poremećajima u izmenjenog nivoa adipocitokina.

U osnovi, smatra se da su mehanizmi koji dovode do pojave arterijske hipertenzije i kod gojaznih i negojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa vrlo slični, ali je pokazano da u gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa postoje brojne specifičnosti čiji značaj do sada nije u potpunosti razjašnjen (2,8,9). Danas je jasno pokazano da masno tkivo eksprimira i sekretuje brojne metabolite, hormone i citokine koji imaju značajnu ulogu u razvoju insulinske rezistencije. Potencijalna veza između gojaznosti i arterijske hipertenzije je adipocitokin leptin, za koji je pokazano da doprinosi pojačanju simpatičke aktivnosti, povećanoj reapsorpciji natrijuma i ubrzanju srčanog ritma (10,113,117,121). Postoje jasni eksperimentalni dokazi da adipocitokini koreliraju sa stepenom gojaznosti i parametrima insulinske reistencije kao i da se njihov nivo značajno razlikuje kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa u odnosu na zdrave osobe. Istovremeno je pokazana izraženija povezanost nivoa adipocitokina adiponektina sa insulinemijom i parametrima insulinske senzitivnosti kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nego sa stepenom gojaznosti i parametrima glikoregulacije (138).

Dobijeni rezultati u okviru ovog rada su u skladu se većinom do sada objavljenih nalaza i potvrdili značajno niži nivo adiponektina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, istovremeno najniži nivo adiponektina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i prisustvom arterijske hipertenzije (Tabela br.9.).

Međutim detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou adiponektina između grupa gojaznih dijabetičara, niti između grupa negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.11.). Naši rezultati potvrđuju da je niži nivo adiponektina najverovatnije posledica samog prisustva tipa 2 dijabetesa.

Moguće objašnjenje ovakvih nalaza je i u činjenici da nivo adiponektina značajno korelira sa stepenom insulinske rezistencije, koja je u osnovi patogeneze tipa 2 dijabetesa. U tom smislu su i naši dobijeni rezultati. Registrovani niži nivo adiponektina je bio značajno povezana sa parametrima insulinske rezistencije i to nivoom bazalne insulinemije i HOMA-IR-om (Tabela br.10.). Nivo adiponektina je određivao nivo bazalne insulinemije, ali i stepen periferne insulinske rezistencije meren OGIS indeksom.

Na značaj povezanosti nivoa adiponektina i stepena insulinske rezistencije značajnu ulogu ima i stepen gojaznosti, koje značajno menjaju posebno nivo bazalne insulinemije i posledično hepaticnu insulinsku rezistenciju. Naime, multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR korelira sa nivoom adiponektina. Kada se u ovaj model unese ITM ova veza gubi na značajnosti za insulinemiju i HOMA-IR, ali postaje značajnija za OGIS.

Očekivano u skladu sa literaturnim podacima najviši nivo leptina registrovan je u grupi gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom (Tabela br.9.).

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou leptina između grupa gojaznih dijabetičara, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.12.). Međutim nivo leptina se značajno razlikovao između grupa koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa, koje se karakterišu odsustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.12.).

Istovremeno nivo leptina nije značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i indeksima insulinske senzitivnosti u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2

dijabetesa (Tabela br.11.), ali je njegov nivo u negativnom smeru određen parametrima insulinske senzitivnosti OGIS i HOMA-IR, a u pozitivnom smeru nivoom bazalne insulinemije.

U modelu multivarijantne regresiona analize nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR korelira sa nivoom leptina, ali kada se u ovaj model unese ITM ova veza gubi na značajnosti za insulinemiju, HOMA-IR i za OGIS. Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima koji ukazuju da stepen gojaznosti prvenstveno određuje nivo leptina, pa i u uslovima prisustva tipa 2 dijabetesa (103,104,112,120).

Istovremeno je značajno je naglasiti da nivo leptina značajno određuje prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez obzira na njihov stepen gojaznosti.

Nivo trećeg adipocitokina koji smo određivali je bio najviši u grupi gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i prisutnom arterijskom hipertenzijom. Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou rezistina između pacijenata sa dijabetesom i grupe zdravih ispitanika (Tabela br.9.).

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou rezistina između grupa gojaznih dijabetičara, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.13.). Međutim nivo rezistina se značajno razlikovao između grupa koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa, koje se karakterišu odsustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.13.). Istovremeno nađena je značajna razlika u nivou rezistina između grupa sa prisutnom arterijskom hipertenzijom i grupa bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.13.). Dobijeni rezultati su uskladu sa dosadašnjim literaturnim podacima koji ukazuju da stepen gojaznosti značajne od prisustva dijabetesa utiče na nivo rezistina (155,170,175,176).

Istovremeno nivo rezistina je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i stepenom hepatične insulinske rezistencije (HOMA-IR), ali ne i sa nivoom periferne

insulinske rezistencije (OGIS) (Tabela br.12.), ali je zato značajno određivao nivo HOMA-IR u pozitivnom, a OGIS u negativnom smeru (Tabela br.12.).

Sam nivo rezistina je bio značajno određen stepenom hepatične insulinske rezistencije, meren HOMA-IR, dok u modelu multivarijantne regresione analize nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR ne korelira sa nivoom rezistina.

Ovako dobijeni neusklađeni podaci su u skladu sa literatirnim podacima koji takođe nisu usaglašeni u pogledu nivoa rezistina i stepena insulinske rezistencije (167,170,179,180).

Gojaznost i bolesti povezane sa gojaznošću kao što su esencijalna hipertenzija i tip 2 dijabetesa se odlikuju stanjem stalno prisutne hronične inflamacije niskog nivoa aktivnosti. Gojazne osobe kao i osobe sa tipom 2 dijabetesa imaju povišen nivoa markera inflamacije kao što su tumor necrosis factor (TNF) α , interleukin (IL)-6, ali i standardnih markera inflamacije: C reaktivni protein (CRP) i fibrinogen (12). Smatra se da prisutni markeri inflamacije u uslovima postojanja insulinske rezistencije predstavljaju pre svega njenu posledicu, odnosno da insulinska rezistencija nije udružena sa poremećajima inflamacije, već da je povezanosti markera inflamacije kao što je CRP u uslovima insulinske rezistencije uslovljena prisustvom gojaznosti (275,277,309,314,319).

U dobijenim rezultatima nije nađena statistički značajna razlika u nivo CRP-a i fibrinogena između ispitivanih grupa dijabetičara (Tabela br.13.).

Istovremeno najviši nivo nivo TNF- α je bio u grupi gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom, a najniži u grupi zdravih ispitanika (Tabela br.14.). Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou TNF- α između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Tabela br.14.).

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou TNF- α između grupa gojaznih dijabetičara, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.15.). Međutim nivo TNF- α se statistički visoko značajno razlikovao između grupa koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa koje se karakterišu odsustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na

prisustvo gojaznosti (Grafikon br.15.). Istovremeno nađena je visoko statistički značajna razlika u nivou TNF- α između grupa sa prisutnom arterijskom hipertenzijom i grupa bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.15.).

U pogledu insulinske rezistencije nivo TNF- α je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije kao i sa oba parametra insulinske senzitivnosti: HOMA-IR i OGIS-om (Tabela br.15.).

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR i OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, njihov nivo je određen nivoom TNF- α i to HOMA-IR i insulin u bazalnim uslovima u pozitivnom, a OGIS u negativnom smeru.

Kada je TNF- α zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo u pozitivnom smeru predikuje nivo bazalne insulinemije.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinsku senzitivnost određenu OGIS-om predikuje nivo TNF- α . Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, onda se ova veza gubi, što ukazuje da prisustvo gojaznosti značajno doprinosi izmenjenom nivo TNF- α kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, najverovatnije posredstvom insulinske rezistencije.

Međutim sam nivo TNF- α ne predikuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

S druge strane, najviši nivo IL-6 je bio u grupi gojaznih dijabetičara bez arterijske hipertenzije, a najniži u grupi zdravih ispitanika (Tabela br.14.). Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou IL-6 između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br.14.).

Detaljnijom analizom nije nađena značajna razlika u nivou IL-6 između grupa gojaznih dijabetičara, kao ni između grupa negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.16.). Međutim nivo IL-6 se značajno razlikovao između grupa koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo

gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa koje se karakterišu prisustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.16.). Istovremeno nađena je statistički značajna razlika u nivou IL-6 između grupa sa prisutnom arterijskom hipertenzijom, koje se međusobno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa, bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.16.).

Istovremeno nivo IL-6 je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u pozitivnom smeru, kao i sa OGIS-om ali u negativnom smeru (Tabela br.16.).

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, IL-6 određuje nivo bazalne insulinemije i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu.

Kada je IL-6 zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njegov nivo u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR-a.

Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuje nivo IL-6. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, onda se ova veza gubi, što ukazuje na da prisustvo gojaznosti značajno doprinosi izmenjenom nivo IL-6 kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, najverovatnije posredstvom insulinske rezistencije.

Međutim sam nivo IL-6 ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima koji ukazuju na značaj gojaznosti kao mogućeg uzročnog faktora koji doprinosi povećanju insulinske rezistencije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, menjajući stepen hronične inflamacije, a koji s druge strane nije dovoljan sam po sebi da bi doveo da pojave arterijske hipertenzije (246,248,251,266,274).

Prethodna istraživanja su pokazala da povišena koncentracija slobodnih radikala koja odražava povišen nivo oksidativnog stresa ubrzava proces ateroskleroze i kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, ali i kod nedijabetičara (332,334,336). Poznato je da superoksid dismutaza inhibira biološku aktivnost azot oksida (NO) koji je faktor

relaksacije endotela, što dovodi do vazokonstrikcije, ali istovremeno ostvaruje i direktan uticaj na endotel i glatke mišićne ćelije krvnih sudova. Takođe je pokazano da insulinska rezistencija korelira sa povećanom produkcijom superosid dizmutaze, ali i manjim nivoom NO (367,370,372,373). Istovremeno angiotenzinogen II, vazokonstriktor udružen sa arterijskom hipertenzijom, ima suprotan efekata od NO, doprinoseći produkciji slobodnih radikala, i povećavajući ekspresiju proinflamatornog citokina IL-6 (362).

Analizom dobijenih rezultata nije registrovana značajna razlika u nivou GSH-PX, SOD i TAS između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikoni br. 17., 18. i 19.).

Detaljnijom analizom nađena je statistički značajna razlika u nivou GSH-Px između gojaznih pacijenta sa tipom 2 diabetesa bez arterijske hipertenzije i zdravih ispitanika, kao i između grupe negojaznih pacijenata sa tipom 2 diabetesa i prisustvom arterijske hipertenzije i zdrave kontrole (Grafikon br.17.). Takođe, u nivou GSH-Px je nađena statistički značajna razlika između grupa koje se međusobno razlikuju samo u odnosu na stepen gojaznosti (Grafikon br.17.). Između grupa koje se takođe razlikuju po stepenu gojaznosti, ali ne i po prisustvu arterijske hipertenzije nađena je statistički značajna razlika u nivou SOD (Grafikon br.18.).

Istovremeno nije nađena statistički značajna koreacija između ispitivanih parametara antioksidatnog statusa i nivoa bazalne insulinemije niti sa parametrima insulinske senzitivnosti, HOMA-IR-om niti sa OGIS-om (Tabela br.17).

Kada su ispitivani parametri antioksidatnog statusa zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 diabetesa, nivo TAS u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR-a, a nivo bazalne insulinemije u negativnom smeru.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo insulina u bazalnim uslovima i insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuje nivoi GSH-Px i TAS. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija kao fiksna varijabla ova veza se i dalje održava.

Logističkom linearnom analizom interakcija nivoa bazalne insulinemije i SOD, interakcija HOMA-IR i SOD kao i interakcija OGIS-a i TAS prediktuje prisustvo

arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa ali u sa veoma malom verovatnoćom. Istovremeno interakcija između FM i SOD predikuje prisustvo arterijske hipertenzije sa nešto većom verovatnoćom.

Nivo NO je bio najviši kod negojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez arterijske hipertenzije, a najniži kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa i arterijskom hipertenzijom (Grafikon br. 20.).

Istovremeno najviši nivo NOS-e je bio u grupi gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez arterijske hipertenzije, a najniži u grupi gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa sa arterijskom hipertenzijom (Grafikon br.21.).

Analizom dobijenih rezultata registrovana je značajna razlika u nivou NO, NOS-e između ispitivanih grupa dijabetičara i zdravih ispitanika (Grafikon br.20.i 21.).

Detaljnijom analizom nađena značajna razlika i u nivou NO i NOS-e između grupa gojaznih dijabetičara, kao i između grupa negojaznih dijabetičara, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije (Grafikon br.20. i 21.). Takođe, nivo NO i NOS-e se visoko statistički značajno razlikovao između grupa koje se istovremeno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije, kao i grupa koje se karakterišu prisustvom arterijske hipertenzije, ali se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti (Grafikon br.20. i 21.). Istovremeno nađena je značajna razlika u nivou NO i NOS-e i između grupa koje se međusobno razlikuju i za prisustvo gojaznosti i arterijske hipertenzije. Međutim između grupa bez arterijske hipertenzije, koje se međusobno razlikuju u odnosu na prisustvo gojaznosti registrovana je značajna razlika samo u nivou NO (Grafikon br.20. i 21.).

Istovremeno nivo NO i NOS-e je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u negativnom smeru, kao i sa OGIS-om, ali u pozitivnom smeru (Tabela br.18.).

Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, NO u negativnom smeru određuje nivo bazalne insulinemije, dok NOS u negativnom smeru određuje nivo HOMA-IR, a OGIS u pozitivnom smislu.

Kada su NO i NOS zavisna varijabla u linearnoj regresionoj analizi, u ovoj grupi ispitivanih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, njihov nivo u pozitivnom smeru predikuje nivo OGIS-a.

Multivarijantnom regresionom analizom nivo NO i NOS-e prediktuje insulinska senzitivnost određena OGIS-om. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija kao fiksna varijabla, onda se ova veza ne menja.

Logističkom linearnom analizom niti nivo NO niti NOS-e ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa.

Logističkom linearnom analizom interakcija nivoa bazalne insulinemije i NO i NOS-e, interakcija HOMA-IR i NO i NOS-e kao i interakcija OGIS-a i NOS-e prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa sa značajnom verovatnoćom. Istovremeno interakcija između parametara gojaznosti, ITM, FM i OS sa NO i NOS-om ne predikuje prisustvo arterijske hipertenzije.

Dobijeni rezultati ukazuju da u procesu nastanka arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa značajnu ulogu ima pre svega interakcija stepena insulinske rezistencije i nivoa NO i NOS-a, a ne i stepen gojaznosti.

V ZAKLJUČCI

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Postoji povezanost između nivoa periferne insulinske rezistencije i prisustva arterijske hipertenzije kod pacijenta sa tipom 2 dijabetesa

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Nivo insulinske rezistencije meren OGIS indeksom je bio značajno niži kod pacijenata sa T2D u odnosu na zdravu kontrolu
- (b) Nivo insulinske rezistencije meren OGIS indeksom je bio najniži kod gojaznih pacijenata sa T2D i prisutnom arterijskom hipertenzijom, a najviši kod negojaznih pacijenata sa T2D bez prisustva arterijske hipertenzije
- (c) Nivo OGIS indeksa se nije razlikovao između pacijenata sa T2D kod kojih nije registrovano prisustvo arterijske hipertenzije
- (d) Nivo OGIS indeksa je značajno određivao prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D u vidu negativne korelacije

2. Hepatična insulinska rezistencija nije povezana sa pojavom arterijske hipertenzije već sa prisustvom gojaznosti kod pacijenata sa T2D

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Najviši nivo HOMA-IR-a je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdrave kontrole
- (b) Značajna razlika je registrovana između grupa pacijenata sa prisutnom arterijskom hipertenzijom, ali koje se međusobno razlikuju po prisustvu gojaznosti
- (c) HOMA-IR nije odražavao razliku u stepenu insulinske senzitivnosti ni između grupa gojaznih dijabetičara, niti između grupa negojaznih

dijabetičara, koje su se međusobno razlikovale u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije

- (d) HOMA-IR nije značajno određivao prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D

3. Nivo bazalne insulinemije nije povezan sa pojavom arterijske hipertenzije već sa prisustvom gojaznosti kod pacijenata sa T2D

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Najviši nivo bazalne insulinemije je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D, a najniži kod zdrave kontrole
- (b) Značajna razlika je registrovana između grupa pacijenata sa prisutnom arterijskom hipertenzijom, ali koje se međusobno razlikuju po prisustvu gojaznosti
- (c) Nivo bazalne insulinemije nije odražavao razliku u stepenu insulinske senzitivnosti ni između grupa gojaznih dijabetičara, niti između grupa negojaznih dijabetičara, koje su se međusobno razlikovale u odnosu na prisustvo arterijske hipertenzije
- (d) Nivo bazalne insulinemije nije značajno određivao prisustvo arterijske hipertenzije, ali je odražavao prisustvo gojaznosti kod pacijenata sa T2D

4. Step en visceralne gojaznosti značajno utiče na prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D posredstvom insulinske rezistencije

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa registrovana je značajna pozitivna korelacija između OS i nivoa bazalne insulinemije
- (b) OS je određuje prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D
- (c) U modelu logističke linearne regresione analize kada je hipertenzija zavisna varijabla, kao njen prediktor izdvaja se OS, koji je pozitivno korelira sa pojavom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa

- (d) Kod pacijenata sa T2D registrovana je značajna pozitivna korelacija između ITM i insulinemije i HOMA-IR, kao i parametara insulinske rezistencije
- (e) Masa masnog tkiva je značajno pozitivno korelirala sa nivoom HOMA-IR kod pacijenata sa T2D
- (f) Negativni prediktor pojave arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa je FFM
- (g) Negativni prediktor pojave arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa je i nivo OGIS indeksa
- (h) Multivarijantnom analizom masa masnog tkiva značajno korelira sa parametrima insulinske senzitivnosti i HOMA-IR i OGIS, kao i nivoom bazalne insulinemije. Kada je u ovaj model uneta i arterijska hipertenzija, značajnosti ove korelacije postaje slabija.

5. Značajno snižen nivo adiponektina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nije povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije već sa insulinskom rezistencijom

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Najniži nivo adiponektina je registrovan kod gojaznih pacijenata sa T2D i prisutnom arterijskom hipertenzijom
- (b) Nivo adiponektina je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i nivoom HOMA-IR u ispitivanim grupama pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (c) Nivo bazalnog insulina je određen nivoom adiponektina i to u negativnom smeru
- (d) Nivo adiponektina je značajno određivao stepen periferne insulinske rezistencije određen OGIS indeksom
- (e) Nivo adiponektina ne određuje prisustvo arterijske hipertenzije
- (f) Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR korelira sa nivoom adiponektina.

6. Nivo leptina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa je povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije posredstvom insulinske rezistencije i gojaznosti

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Najviši nivo leptina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D i arterijskom hipertenzijom
- (b) Nivo leptina značajno određuje prisustvo arterijske hipertenzije
- (c) Nivo leptina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, u negativnom smeru prediktuju parametri insulinske senzitivnosti OGIS i HOMA-IR, a u pozitivnom smeru nivo bazalne insulinemije
- (d) Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinska senzitivnost određena OGIS-om i HOMA-IR korelira sa nivoom leptina. Kada se u ovaj model unese ITM ova veza gubi na značajnosti za insulinemiju, HOMA-IR i za OGIS.

7. Nivo rezistina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa nije povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije već samo sa insulinskom rezistencijom

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima:

- (a) Najviši nivo rezistina je registrovan u grupi gojaznih pacijenata sa T2D i arterijskom hipertenzijom
- (b) Nivo rezistina je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i HOMA-IR, ali ne i sa OGIS-om
- (c) Nivo rezistina kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, u pozitivnom smeru određuje HOMA-IR.
- (d) Nivo rezistina ne određuje prisustvo arterijske hipertenzije.

8. Nivo lipidskih parametara nije povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa već sa insulinskom rezistencijom

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima.

- (a) Nivo HDL holesterola je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u negativnom smeru, kao i sa OGIS-om, ali u pozitivnom smeru
- (b) Nivo triglicerida je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i HOMA-IR-om u pozitivnom smeru, a sa OGIS-om u negativnom smeru
- (c) Nivo triglicerida određuje nivo bazalne insulinemije i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu, dok nivo OGIS-a prediktuje u negativnom smeru
- (d) Nivo HDL holesterola u pozitivnom smeru predikuje nivo OGIS-a
- (e) Nivo lipiskih parametara ne određuje prisustvo arterijske hipertenzije kod pacijenata sa T2D.

9. Nivo slobodnih masnih kiselina nije povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa već samo sa insulinskom rezistencijom

Zaključak se bazira na sledećim rezultatima:

- (a) SMK ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (b) nivo SMK u pozitivnom smeru predikuje nivo HOMA-IR, a u negativnom smeru nivo bazalne insulinemije.

10. Nivo TNF α nije povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa već sa insulinskom rezistencijom i stepenom gojaznosti

Zaključak se bazira na sledećim rezultatima:

- (a) Najviši nivo TNF- α je bio kod gojaznih pacijenata sa tipom 2 dijabetesa bez prisustva arterijske hipertenzije
- (b) Nivo TNF- α je značajno korelira sa nivoom bazalne insulinemije kao i sa oba parametra insulinske senzitivnosti: HOMA-IR i OGIS-om

- (c) Nivo HOMA-IR i OGIS i bazalne insulinemije je određen nivoom TNF- α i to HOMA-IR i insulin u bazalnim uslovima u pozitivnom, a OGIS u negativnom smeru
- (d) TNF- α ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (e) Multivarijantnom regresionom analizom nivo bazalne insulinemije i insulinsku senzitivnost određenu OGIS-om prediktuje nivo TNF- α . Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, onda se ova veza gubi.

11. IL-6 nije povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa već sa insulinskom rezistencijom stepenom gojaznosti

Zaključak se zasniva na sledećim rezultatima

- (a) Najviši nivo IL-6 je bio kod gojaznih pacijenata bez prisustva arterijske hipertenzije
- (b) Nivo IL-6 je značajno korelirao sa nivoom bazalne insulinemije i sa HOMA-IR u pozitivnom smeru, kao i sa OGIS-om ali u negativnom smeru
- (c) IL-6 određuje nivo bazalne insulinemije i nivo HOMA-IR u pozitivnom smislu
- (d) Logističkom linearnom analizom IL-6 ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (e) Multivarijantnom regresionom analizom insulinsku senzitivnost određenu HOMA-IR-om prediktuje nivo IL-6. Kada se u ovaj model unese arterijska hipertenzija ili ITM i parametri gojaznosti kao fiksna varijabla, onda se ova veza gubi.

12. Parametri endotelne disfunkcije su povezani sa prisustvom arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa posredstvom insulinske rezistencije

Zaključak bazira na sledećim rezultatima:

- (a) Najniži nivo NO i NOS-a je bio u grupi gojaznih pacijenata sa arterijskom hipertenzijom
- (b) Registrovana je značajna razlika u nivou NO i NOS-a između pacijenata sa i bez arterijske hipertenzije
- (c) Linearnom regresionom analizom kada su parametri insulinske senzitivnosti HOMA-IR, OGIS i bazalna insulinemija zavisna varijabla, NO u negativnom smeru određuje nivo bazalne insulinemije, dok NOS u negativnom smeru određuje nivo HOMA-IR, a OGIS u pozitivnom smislu
- (d) Niti nivo NO niti NOS-e ne prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa
- (e) Logističkom linearnom analizom interakcija nivoa bazalne insulinemije i NO i NOS-e, interakcija HOMA-IR i NO i NOS-e kao i interakcija OGIS-a i NOS-e prediktuje prisustvo arterijske hipertenzije kod ispitivane grupa pacijenata sa tipom 2 dijabetesa sa značajnom verovatnoćom. Istovremeno interakcija između parametara gojaznosti, ITM, FM i OS sa NO i NOS-om ne predikuje prisustvo arterijske hipertenzije .

Rezultati dobijeni u ovom radu pokazuju da je povišeni nivo insulinske rezistencije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa povezan sa prisustvom arterijske hipertenzije, i sa visceralnom gojaznošću. S druge strane, rezultati ukazuju da je uticaj povišene insulinske rezistencije u nastanku arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa povezan sa sniženjem nivoa HDL-holesterola, porastom nivoa triglicerida, ali ne i sa promenama drugih frakcija lipoproteina, kao i da postoji povezanost markera endotelne disfunkcije, NO, NO sintetaze i insulinske rezistencije u nastanku arterijske hipertenzije kod pacijenata sa tipom 2 dijabetesa, ali ne i sa promenama antioksidatnog statusa.

VII LITERATURA

1. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991, 14:173-194.
2. Frontoni S, Bracaglia D et Gigli F. Relationship between autonomic dysfunction, insulin resistance and hypertension, in diabetes. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2005; 15: 441-449.
3. Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadona R. Insulin resistance in essential hypertension. *New England Journal of Medicine*. 1987;317:350.
4. Giles TD, Berk BC, Black HR et al. The Hypertension writing group. Expanding definition and classification of hypertension. *J Clin Hypertens*. 2005;7:505-512.
5. American Heart Association and American Stroke Association. Heart disease and stroke statistics-2007 update.
6. Franklin SS, Gustin W, IV, Wong ND et al. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1997;96:308-15.
7. Chobanian AV, Bakris GR, Black HF, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Rocella EJ for National Heart, Lung and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee: Seventh Report of Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure; the JNC 7 report. *Journal of American Medical Association*. 2003; 289: 2560-2572.
8. Neaton JD, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316,099 men. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Arch Intern Med*. 1992;152:56-64.

9. Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wenworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*. 1993;16:434-444.
10. Thomas F, Bean K, Pannier B et al. Cardiovascular mortality in overweight subjects: key role of associated risk factors. *Hypertension*. 2005;46:654-659.
11. Hu FB. Overweight and increased cardiovascular mortality. No French paradox. *Hypertension*. 2005;46:645-646.
12. Aiyer AN, Kip KE, Mulukutla SR, Marroquin OC, Hipps L.Jr, Reis SE. Predictors of significant short-term increases in blood pressure in a community-based population. *American Journal of Medicine*. 2007;120:960-967.
13. Grundy SM, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation*. 2005; 112(17): 2735-2752.
14. Conen D, Ridker PM, Mora S, Buring JE, Glynn RJ. Blood pressure and risk of developing type 2 diabetes mellitus: The Women's Health Study. *Eur Heart J*. 2007; 28(23):2937-2943.
15. DeFronzo RA: Lilly lecture 1987: the triumvirate: β -cell, muscle, liver: a collusion responsible for NIDDM. *Diabetes*. 1988, 37:667-687.
16. Garvey WT, Hermayer KL. Clinical implication of the insulin resistance syndrome. *Clin Cornerstone*. 1998;1:13-28.
17. Reaven GM: Banting Lecture. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988, 37:1595-1607.
18. DeFronzo RA, Ferrannini E: Insulin resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991, 14:173-194.
19. Himsworth H: Diabetes mellitus: a differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. *Lancet*. 1936, 1:127-130.
20. National Diabetes Data Group. Report of the expert committee on glycosylated hemoglobin. *Diabetes Care*. 1984, 7:602-606.

21. Yalow RS, Berson SA: Plasma insulin concentrations in nondiabetic and early diabetic subjects: determination by a new sensitive immunoassay technique. *Diabetes*. 1960, 9:254-260.
22. Kahn CR, Neville DM, Roth J: Insulin-receptor interactions in the obese-hyperglycemic mouse: a model for insulin resistance. *J Biol Chem*. 1973, 248:244-250.
23. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R: Glucose clamp technique: a method for qualifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979, 273: E214-E223.
24. Bergman RN: Lilly Lecture: toward physiological understanding of glucose tolerance: minimal- model approach. *Diabetes*. 1989, 38: 1512-1526.
25. Golay A, DeFronzo RA, Ferrannini E et al: Oxidative and nonoxidative glucose metabolism in non-obese type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. 1988, 31: 585-591.
26. Tayek JA, Katz J: Glucose production, recycling and gluconeogenesis in normals and diabetics: a mass isotopomer (U-¹³C) glucose study. *Am J Physiol*. 1996, 270: E709-E717.
27. Saad MF, Anderson RL, Laws A et al: A comparison between the minimal model and the glucose clamp in the assessment of insulin sensitivity across the spectrum of glucose tolerance. *Diabetes*. 1994; 43: 1114-1121.
28. Mari A, Pacini G, Murphy E et al: A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*. 2001, 24: 539-548.
29. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS et al: Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985, 28: 412-419.
30. Tripathy D, Carlsson M, Almgren P et al: Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance. Lessons from the Botnia study. *Diabetes*. 2000, 49: 975-980.
31. Reaven GM, Lithell H, Lansberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities-the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *The New England Journal of medicine*. 1996;334(6):374-381.

32. Parker DR, Weiss ST, Troisi R, Cassano PA, Vokonas PS, Lansberg L. Relationship of dietary saturated fatty acids and body habitus to serum insulin concentration: the Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr.* 1993;58:129-136.
33. Welborn TA, Wearne K. Coronary heart disease incidence and cardiovascular mortality in Busselton with reference to glucose and insulin concentrations. *Diabetes Care.* 1979; 2: 154–160.
34. Despres JP, Lamarche B, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, Lupien PJ. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med.* 1996; 334: 952–957.
35. Pyorala M, Miettinen H, Halonen P, Laakso M, Pyorala K. Insulin resistance syndrome predicts the risk of coronary heart disease and stroke in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 538–544.
36. Bonora E, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, Marini F, Zenari L, et al. HOMA-estimated insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care.* 2002; 25: 1135–1141.
37. Fontbonne AM, Eschwege EM. Insulin and cardiovascular disease: Paris Prospective Study. *Diabetes Care.* 1991; 14: 461–469.
38. King GL, Wakasaki H: Theoretical mechanisms by which hyperglycemia and insulin resistance could cause cardiovascular diseases in diabetes. *Diabetes Care.* 1999; 22 (Suppl 3) C31-C37.
39. Reaven GM: Non-insulin dependent diabetes mellitus, abnormal lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Metabolism.* 1987, 36(Suppl. 1):1-8.
40. Kissebah AH, Adams PW, Wynn V: Inter-relationship between insulin secretion and plasma free fatty acid and triglyceride transport kinetics in maturity onset diabetes and the effect of phenethylbiguanide (Phenformin). *Diabetologia.* 1974, 10: 119-130.
41. Zavaroni I, Bonora E, Pagliara M, Dall'Aglio E, Luchetti L, Buonanno G, Bonati PA, Bergonzani M, Gnudi L, Passeri M, Reaven G: Risk factors for coronary

- artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucose tolerance. *N Engl J Med.* 1989, 320: 703-706.
42. Orchard TJ, Becker DJ, Bates M: Plasma insulin and lipoprotein cholesterol concentrations: an atherogenic association? *Am J Epidemiol.* 1983, 118: 326-337.
43. Burke GL, Webber LS, Srinivasan SR: Fasting plasma glucose and insulin levels and their relationship to cardiovascular risk factors in children: Bogalusa. *Metabolism.* 1986, 35: 441-446.
44. Garcia-Webb P, Bosner AM, Whitting D: Insulin resistance: a risk factor for coronary heart disease? *Scand J Clin Lab Invest.* 1983, 43: 677-685.
45. Golay A, Felber JP, Jequier E, DeFronzo RA, Ferrannini E: Metabolic basis of obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev.* 1988, 4:727-747.
46. Young W, Gofman JW, Tandy R, Malamud N, Waters ES. The quantitation of atherosclerosis, III: the extent of correlation of degrees of atherosclerosis within and between the coronary and cerebral vascular beds. *Am J Cardiol.* 1960; 6: 300–308.
47. Taskinen MR: Lipoprotein lipase in diabetes. *Diabetes Metab Rev.* 1987, 3:551-570.
48. Taskinen MR, Nikkila EA, Kuusi T: Lipoprotein lipase activity and serum lipoproteins in untreated type 2 (insulin-independent) diabetes associated with obesity. *Diabetologia.* 1982, 22: 46-50.
49. Kaplan NM: The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension. *Arch Intern Med.* 1989, 149:1514-1520
50. Folsom A.R., Rasmussen M.L., Chambless L.E., Howard G., et al. Prospective associations of fasting insulin, body fat distribution, and diabetes with risk of ischemic stroke. *Diabetes Care.* 1999, 22: 1077-1083.
51. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP: Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 1983, 67:968-977.

52. Rabinowitz D, Zirler KL. Forarm metabolism in obesity and its response to intraarterial insulin. Characterization of insulin resistance and evidence of adaptive hyperinsulinism. *J Clin Invest.* 1962;12:2173-2181.
53. Pasquali R, Casimirri F, Cantobwlli S, Melchionda N, Labbate AMM, Fabrri R, Capelli M, Bortozoli L. Effect of obesity and body fat distribution on sex hormones and insulin in men. *Metabolism.*1991;40:101-104.
54. Bogardus CS, Lillioja S, Mott D, Raeven G, Kashiwagi A, Foley J. Relationship between obesity and maximal insulin stimulated glucose uptake in vivo and in vitro in Pima Indians. *J Clin Invest.* 1984;73:800-805.
55. Ferrannini E, Natali A, Bell P, Cavalo-Perin P, Lalic N, Mingrone G, on behalf of the European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). Insulin resistance and Hypersecretion in Obesity. *J Clin Invest.* 1997;100(5):1166-1173.
56. Depres JP. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome? 2006. *Ann Med* 38:52-63.
57. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Kodama K, Retzlaff BM, Brunzell JD, Shofer JB, Fish BE, Knopp RH, Kahn SE. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for metabolic syndrome. 2004. *Diabetes;* 53:2087-2094.
58. Ferrannini E, Balkau B, Coppack SW, Dekker JM, Mari A, Nolan J, Walker J, Natali A, Beck-Nielsen H and RISC Investigators. Insulin resistance, insulin response, and obesity as indicators of metabolic risk. *J Clin Endocrin Metab.* 2007.
59. DeFronzo RA. The triumvirate:beta cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM.*Diabetes.*1988;37:667-687.
60. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC. Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus:contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism.* 1989;38:387-395.
61. Fery F. role of hepatic glucose production and glucose uptake in the pathogenesis of fasting hyperglycemia in type 2 diabetes:normalization of glucose kinetics by short-term fasting. *J Clin Endocrin Metab.* 1994;78:536-542

62. Henry RR, Wallace P, Olefsky JM. Effects of weight loss on mechanisms of hyperglycemia in obese non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 1986;35:990-998.
63. Campbell PJ, Mandarino Lj, Gerich JE. Quantification of the relative impairment in actions of insulin on hepatic glucose production and hepatic glucose production and peripheral glucose uptake in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 1988;37:15-21.
64. Bogardus C, Lillioja S, Howard BV, Reaven G, Mott D. Relationships between insulin secretion, insulin action, and fasting plasma glucose concentration in nondiabetic and noninsulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Invest*. 1984;74:1238-1246.
65. Gastaldelli A, Baldi S, Pettiti M, Toschi E, Camastra S, Natali A, Landau BR, Ferrannini E. Influence of obesity and type 2 diabetes on gluconeogenesis and glucose output in humans. A quantitative study. *Diabetes*. 2000;49:1367-1373.
66. Boden G, Chen X, Stein TP. Gluconeogenesis in moderately and severely hyperglycemic patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol*. 2001;280:E23-E30.
67. Gastaldelli A, Toschi E, Pettiti M, Frascerra S, Quinones-Galvan A, Sironi AM, Natali A, Ferrannini E. Effects of physiological hyperinsulinemia on gluconeogenesis in nondiabetic subjects and in type diabetic patients. *Diabetes*. 2001;50:1807-1812.
68. Brochu M, Starling RD, Tschernoff A, Matthews DE, Garcia-Rubi E, Poehlman ET. Visceral adipose tissue is an independent correlate of glucose disposal in older obese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:2378-2384.
69. Zierath JR, Livinston JN, Thorne A, Bolinder J, Reynisdottir S, Lonnqvist F, Arner P. regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes: relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signaling through the insulin receptor substrate-1 pathway. *Diabetologia*. 1998;41:1343-1354.

70. Meek SE, Nair KS, Jensen MD. Insulin regulation of regional fatty acid metabolism. *Diabetes*. 1999;48:10-14.
71. Albu JB, Curi M, Shur M, Murphy L, Matthews DE, Pi-Sunyer Fx. Systemic resistance to antilipolytic effect of insulin in black and white women with visceral obesity. *Am J Physiol*. 1999;277:E551-E560.
72. Gastaldelli A, Miyazaki Y, Pettiti M, Matsuda M, Mahankali S, Santini E, DeFronzo R, Ferrannini E. Metabolic effects of visceral fat accumulation in type 2 diabetes. *J Clin Endo and Metab*. 2002;87(11):5098-5103.
73. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol*. 2001;280:E827-E847.
74. Sironi AM, Gastaldelli A, Mari A, Ciociaro D, Postano V, Buzzigoli E, Ghione S, Turchi S, Lombardi M, Ferrannini E. Visceral fat in hypertension: influence on insulin resistance and beta cell function. *Hypertension*. 2004;44:127-133.
75. Kannel WB, McGee DL: Diabetes and cardiovascular risk factors: the Framingham Study. *Circulation*. 1979, 59: 8-13.
76. Jarrett RJ, Shipley MJ: Mortality and associated risk factors in diabetics. *Acta Endocrinol*. 1985, 110 (Suppl 272): 21-26.
77. Reaven GM. Insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia, and hypertension: parallels between human disease and rodent models. *Diabetes Care*. 1994; 14:195-202.
78. Pollare T, Lithell H, Berne C. Insulin resistance is a characteristic feature of primary hypertension independent of obesity. *Metabolism* 1990;39:167-174.
79. Hopkins GJ, Chang LBE, Barter PJ: Role of lipid transfers in the formation of a subpopulation of small high density lipoproteins. *J Lipid Res*. 1985, 26:218-229.
80. Shieh SM, Shen MDM, Fuh MMT, Chen YDI, Reaven GM. Plasma lipid and lipoprotein concentrations in Chinese males with coronary artery disease, with and without hypertension. *Atherosclerosis*. 1987;67:49-55.
81. Mykkanen L, Kuusisto J, Haffner SM, Pyorala K, Laakso M: Hyperinsulinemia predicts multiple atherogenic changes in lipoproteins in elderly subjects. *Arterioscler Thromb*. 1994, 14: 518-526.

82. Byrne CD, Wareham NJ, Brown DC et al: Hypertriglyceridemia in subjects with normal and abnormal glucose tolerance: relative contributions of insulin secretion, insulin resistance and suppression of plasma non-esterified fatty acids. *Diabetologia*. 1994; 37: 889-896.
83. Kissebah AH, Alfarsi S, Evans DJ, Adfams PW: Integrated regulation of very low density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B kinetics in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 1982, 31:217-225.
84. Abrams JJ, Ginsberg HN, Grundy SM: Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in non-ketotic diabetes mellitus. *Diabetes* 1982, 31: 903-910.
85. Ginsberg HN, Grundy SM: Very low density lipoprotein metabolism in non-ketotic diabetes mellitus: effect of dietary restriction. *Diabetologia*. 1982, 23:421-425.
86. Dunn FL, Raskin P, Bilheimer DW, Grundy SM: The effect of diabetic control on very low density lipoprotein triglyceride metabolism in patients with type II diabetes mellitus and marked hypertriglyceridemia. *Metabolism*. 1984, 33:117-123.
87. Taskinen MR: The effect of non-insulin dependent diabetes on very low density lipoprotein and low density lipoprotein metabolism in man. *Metabolism*. 1987, 36: 870-877.
88. Haffner SM, Mykkanen L, Valdez RA et al: Low density lipoprotein size and subclass pattern in a biethnic population. *Arteriscl Thromb*. 1993; 13: 1623-1630.
89. Haffner SM, Mykkanen L, Robbins D et al: A preponderance of small dense LDL is associated with specific insulin, proinsulin and the components of the insulin resistance syndrome in non-diabetic subjects. *Diabetologia*. 1995; 38: 1328-1336.
90. Tchernof A, Lamarche B, Prudhomme D et al: The dense LDL phenotype: association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care*. 1996; 19: 629-637.

91. Stewart MW, Laker MF, Dyer RG et al: Lipoprotein compositional abnormalities and insulin resistance in type 2 diabetic patients with mild hyperlipidemia. *Arterioscl Thromb*.1993; 13: 1046-1052.
92. Tan KCB, Cooper MB, Ling LLE et al: Fasting and postprandial determinant for the occurrence of small dense LDL species in non-insulin-dependent diabetic patients with and without hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis*. 1995; 113: 273-287.
93. Reaven GM, Chen YDI, Jeppesen J et al: Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small dense low density lipoprotein particles. *J Clin Invest* 1993; 92: 141-146.
94. Mykkanen L, Haffner SM, Rainwater DL et al: Relationship of LDL size to insulin sensitivity in normoglycemic men. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 1447-1453.
95. Lahdenpera S, Sane T, Vuorinen-Markkola H et al: LDL particle size in mildly hypertriglyceridemic subjects: no relation to insulin resistance or diabetes. *Atherosclerosis* 1995; 113: 227-236.
96. Slyper AH, Zvereva S, Schectman G et al: Insulin resistance is not a major determinant of low-density lipoprotein particle size. *Metabolism* 1997; 46: 1275-1280.
97. Golay A, Zech L, Shi MZ, Chiou Y-AM, Reaven GM, Chen Y-DI: High density lipoprotein (HDL) metabolism in non-insulin dependent diabetes mellitus: measurement of HDL turnover using tritiated HDL. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987, 65:512-518.
98. Howard BV: Insulin resistance and lipid metabolism. *Am J Cardiol*. 1999; 84: 28J-32J.
99. Ai M, Tanaka A, Ogita K et al: Relationship between hyperinsulinemia and remnant lipoprotein concentrations in patients with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85 (10): 3557-3560.
100. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*. 2001;104:531-543.

101. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* 2004;92:347-355.
102. Saltiel AR. You are what you secrete. *Nat Med.* 2001;7:887-888.
103. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, et al. Recent advances in relationship between obesity, inflammation and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17:4-12.
104. Antuna-Puente B, Feve B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes & Metabolism.* 2008;34:2-11.
105. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu rev Physiol.* 2000;62:413-437
106. Vidal H, Auboeuf D, De Vos P, Staels B, Riopu JP, Auwerx J et al. The expression of ob gene is not acutely regulated by insulin and fasting in human abdominal subcutaneous adipose tissue. *J Clin Invest.* 1996;98:251-255.
107. Havel PJ, Kasim-Karakas S, Dubuc GR, Mueller W, Phinney SD. Gender differences in plasma leptin concentrations. *Nat Med.* 1996; 2:949-950.
108. Larsson H, Elmstahl S, Ahren B. Plasma leptin levels correlate to islet function independently of body fat in postmenopausal women. *Diabetes.* 1996;45:1635-1637.
109. Cnop M, Landchild MJ, Vidal J, Knowles NG, Wang F, Hull RL, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Kahn SE, Carr DR, Havel PJ, Walden CE. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations. *Diabetes.* 2002; 51(4):1005-1015.
110. Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brebman ML, Wang DJ, et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J.* 1998;12:57-65.
111. Abdel-Hafez M, Yan H, Kermouni A, Lau DC. Adipose-tissue derived cytokines modulate preadipocyte differentiation and leptin production. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26:S66.
112. Lau D, Yan H, Abdel-Hafez M, Kermouni A. Adipokines and the paracrine control of their production in obesity and diabetes. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;106:S111.

113. Cooke JP, Oka RK. Does leptin cause vascular disease? *Circulation*.2002;106:1904-1905.
114. Konstantidines S, Schafer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism of atherotrombotic disease in obesity. *J Clin Invest*. 2001;108:1533-1540.
115. O'Rourke L, Gronning LM, Yeaman SJ, Sheperd PR. Glucose dependent regulation of cholesterol ester metabolism in macrophages by insulin and leptin. *J Biol Chem*.2002;277:42557-42562.
116. Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science*. 1998;281:1683-1686.
117. Luo JD, Zhang GS, Chen MS. Leptin and cardiovascular diseases. *Timely Top Med Cardiovasc*. 2005;9:E34
118. Shek EW, Brands MW, Hall JE. Chronic leptin infusion increases arterial pressure. *Hypertension* 1998;32:376-377.
119. Mark AL, Shaffer RA, Correia M, Morgan DA, Sigmund CD, Haynes WG. Contrasting blood pressure effects of obesity in leptin-deficient ob/ob mice and agouti yellow obese mice. *J Hypertens*. 1999;17:1949-1953.
120. Barba G, Russo O, Siani A, Iacone R, Farinero E, Gerardi MC et al. Plasma leptin and blood pressure in men: graded association independent of body mass and fat pattern. *Obes Res* 2003;11:160-166.
121. Haynes WG. Role of leptin in obesity-related hypertension. *Exp Physiol*. 2005;90:683-688.
122. Coatmellec-Taglioni G, Dausse JP, Giudicelli Y, Ribiere C. Sexual dimorphism in cafeteria diet-induced hypertension is associated with gender-related differences in renal leptin receptor down-regulation. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;305:362-367.
123. Beltowski J, Jomroz-Wisniewka A, Borkowska E, Wojcicka G. Up regulation of renal Na, K ATPase: the possible novel mechanism of leptin induced hypertension. *Pol J Pharmacol*. 2004;56:213-222.

124. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995;270:26746-26749.
125. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem.* 1996;120:803-812.
126. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;221:286-289.
127. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzel JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma proteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia.* 2003;46:459-469.
128. Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;219:9-15
129. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SF, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin correlates with thiazolidine-mediated improvements in insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 1995;270:12152-12162.
130. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kitasawa T, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shinata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423:762-769.
131. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Tazawa T, Iwabu M, et al. Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 cause abrogation of adiponectin binding and metabolic action. *Nat Med.* 2007;13:332-339.

132. Bjursell M, Ahnmark A, Bohlooly YM, William-Olsson L, Rhedin M, Peng XR, et al. Opposing effects of adiponectin receptors 1 and 2 on energy metabolism. *Diabetes*. 2007;56:583-593.
133. Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, Pedersen SN, Toubro S, Astrup A, et al. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285:E527-E533.
134. Fasshauer M, Klein J, Lossner U, Paschke R. Negative regulation of adipose-expressed galectin 12 by isoproterenol, tumor necrosis factor α , insulin and dexamethasone. *Eur J Endocrinol*. 2002;147:553-559.
135. Ott V, Fasshauer M, Dalski A, Meier B, Perwitz N, Klein HH, Tschop M, Klein J. Direct peripheral effects of ghrelin include suppression of adiponectin expression. *Horm Metab Res*. 2002;34:640-645.
136. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M; Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Nishikai K, Saruta T. Correlation of the adipocyte derived protein adiponectin with insulin resistance index serum high-density lipoprotein-cholesterol in Japanese population. *Clin Sci*. 2002;103:137-142.
137. Arita Y, Kihara S, Ouchi N et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:70-83.
138. Hotta K, Funahashi T, Arita Y et al. Plasma concentrations of novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1595-1599.
139. 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;86:1930-1935.
140. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:134-141.
141. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL et al. Circulating concentrations of adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity

- during progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes*. 2001;50:1126-1133.
142. Stefan N, Vozarova B, Funahashi T et al. Plasma adiponectin concentration is associated with skeletal muscle insulin receptor tyrosine phosphorylation, and low plasma concentration precedes a decrease in whole-body insulin sensitivity in humans. *Diabetes*. 2002;51:1884-1888.
143. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med*. 2002;8:1288-1295.
144. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005;26:439-451.
145. Winzer C, Wagner O, Festa A, Schneider B, Roden M, Bancher-Todesca D, Pacini G, Funahashi T, Kautzky-Willer A. Plasma adiponectin, insulin sensitivity, subclinical inflammation in women with prior gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004;27:1721-1727.
146. Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2003;278:45021-45026.
147. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100:2473-2476.
148. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*. 2001;103:1057-1063.
149. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y et al. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth cell. *Circulation*. 2002;105:2893-298.
150. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-

- kappaB signaling through a camp-dependent pathway. *Circulation*. 2000;102:1296-1301.
151. Adamzak M, Wiecek A, Funahashi T, Chudek J, Kokot F, Matsuzawa Y. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2003;16:72-75.
152. Skurk T, Van Harmelen V, Lee YM, Wirth A, Hauner H. Relationship between IL-6, leptin and adiponectin and variables of fibrinolysis in overweight and obese hypertensive patients. *Horm Metab Res*. 2002;34:659-663.
153. Kim KH, Lee K, moon YS, Sul HK. A cyteine-rich adipose tissue specific secretory factors inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2001;276:11252-11256.
154. Holcomb IN, Kavakoff RC, Chan B et al. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflamation, defines a new gene family. *EMBO J*. 2001;19:4046-4055.
155. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409:307-312.
156. Rajala MW, Obici S, Scherer , Rosseti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest* 2003;111:225-230.
157. Kaser S, Kasr A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by pro-inflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;309:286-290.
158. Lehrke M, Reilly MP, Millington SC, Iqbal N, Rader DJ, Lazar MA. An inflammatory cascade leading to hyperresistinemia in humans. *Plos Med*. 2004;1:e45.
159. Fain JN, Cheema PS, Bahouth SW, Lloyd Hiler M. Resistin release by human adipose tissue explants in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;300:674-678.
160. Bertolani C, Sancho-Bru P, Failli P, Bataller R, Aleffi S, De-Franco R, Mazzighi B, Romagnani P, Milani S, Gines P, Colmenero J, Parola M, Gelmini S, Tarquini R, Laffi G, Pinzani M, Marra F. Resistin as an intrahepatic cytokine:

- overexpression during chronic injury and induction of proinflammatory actions in hepatic stellate cells. *Am J Pathol.* 2006;169:2042-2053.
161. Burnett MS, Lee CW, Kinnaird TD, Stabile E, Durrani S, Dulum MK, Devaney JM, Jang GJ, Andrews JA, Zhu J, Epstein SE. The potential role of resistin in atherogenesis. *Atherosclerosis.* 2005;182:241-248.
162. Jung HS, Park KH, Cho YM, Chung SS, Cho HJ, Cho SY, Kim SJ, Kim SY, Lee HK. Resistin is secreted from macrophages in atheromas and promotes atherosclerosis. *Cardiovasc Rev.* 2006;69:76-85.
163. Filkova M, Haluzik M, Gay S, Senolt I. The role of resistin as a regulator of inflammation: implication for various human pathologies. *Clin Immunol.* 2009;133:157-170.
164. Patel SD, Rajala MW, Rossetti L, Scherer PE, Shapiro L. Disulfide-dependent multimeric assembly of resistin-like molecules. *Science.* 2004;304:1154-1158.
165. Daquignag AC, Zhang Y, Amaya-Manzanares F, Simmons PJ, Kolonin MG. An isoform of decorin is a resistin receptor on the surface of adipose progenitor cells. *Cell Stem Cell.* 2011;9:74-86.
166. Walcher D, Hess K, Berger R, Aleksic M, Heinz P, Bach H, Durst R, Hausauer A, Hombach V, Marx N. Resistin: a newly identified chemokine for human CD4-positive lymphocytes. *Cardiovascular Research.* 2010;85:167-174.
167. Benomar Y, Gertler A, De Lacy P, Crepin D, Ould Hamouda H, Riffault L, Taouis M. Central resistin overexposure induces insulin resistance through toll-like receptor 4. *Diabetes.* 2013;62:102-114.
168. Hivert MF, Sullivan LM, Fox CS, Nathan D, D'Agostino RB, Wilson PWF, Meigs JB. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor- α with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:3165-3172.
169. Degawa-Yamauchi M et al. Serum resistin (FIZZ3) protein is increased in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:5452-5455.
170. Heilbronn LK et al. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetics subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:1844-1848.

171. Youn BS, 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. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:150-156.
172. Osawa H, et al. The G/G genotype of a resistin single nucleotide polymorphism at -420 increases type 2 diabetes mellitus susceptibility by inducing promoter activity through specific binding of Sp1/3. *Am J Hum Genet.* 2004;75:678-686.
173. Osawa H, Tabara Y, Kawamoto R, Ohashi M, Onuma H, Nishida W, Yamada K, Nakura J, Kohara K, Miki T, Makino H. Plasma resistin, associated with single nucleotide polymorphism -204 is correlated with insulin resistance, lower HDL cholesterol, and high sensitivity C-reactive protein in Japanese general population. *Diabetes Care.* 2007;30:1501-1506.
174. Ochi M, et al. Frequency of the G/G genotype of resistin single nucleotide polymorphism at -420 appears to be increased in young-onset type 2 diabetes. *Diabetes.* 2007;56:2834-2848.
175. Gerber M, et al. Serum resistin levels of obese and lean children and adolescents: biochemical analysis and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:4503-4509.
176. Chen CC, et al. Serum resistin level among healthy subjects: relationship to anthropometric and metabolic parameters. *Metabolism.* 2005;54:471-475.
177. Pfitzner A, Langerfeld M, Kuni T, Lobig M, Forst. Evaluation of human resistin assays with serum from patients with type 2 diabetes and different degrees of insulin resistance. *Clin Lab* 2003;49:571-576.
178. Lee JH, et al. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4848-4856.
179. Kielstein JT, et al. Increased resistin blood levels are not associated with insulin resistance in patients with renal disease. *Am J Kidney Dis.* 2003;42:62-66.

180. Pagano C, et al. Increased serum resistin in nonalcoholic fatty liver disease is related to liver disease severity and not to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1081-1086.
181. Perseghin G, et al. Increased serum resistin in elite endurance athletes with high insulin sensitivity. *Diabetologia.* 2006;49:1893-1890.
182. Beckers S, et al. Analysis of genetic variations in resistin gene shows no associations with obesity in women. *Obesity.* 2008;16:905-907.
183. Wilkinson M, Wilkinson D, Wiesner G, Morash B, Ur. E. Hypothalamic resistin immunoreactivity is reduced by obesity in the mouse:co-localization with alpha-melanostimulating hormone. *Neuroendocrinology.* 2005;81:19-30.
184. Brunetti L, Orlando G, Recinella L, Michelotto B, Ferrante C, Vacca M. Resistin, but not adiponectin, inhibits dopamine and norepinephrine release in the hypothalamus. *Eur J Pharmacol.* 2004;493:41-44.
185. Tovar S, Nogueiras R, Tung LY, et al. Central administration of resistin promotes short-term satiety in rats. *Eur J Endocrinol.* 2005;153:R1-R5.
186. Muse ED, Lam, TK, Scherer PE, Rossetti L. Hypothalamic resistin induces hepatic insulin resistance. *J Clin Invest.* 2007;117:1670-1678.
187. Vazquez MJ, Gonzalez CR, Varela L, et al. Central resistin regulates hypothalamic and peripheral lipid metabolism in nutritional-dependent fashion. *Endocrinology.*2008;149:4534-4543.
188. Singhal NS, Lazar MA, Ahima RS. Central resistin induces hepatic insulin resistance via neuropeptide Y. *J Neurosci.* 2007;27:1294-12932.
189. Nagaev I, Bokarewa M, Tarkowki A, Smith U. Human resistin is a systemic immune-derived proinflammatory cytokine targeting both leukocytes and adipocytes. *Plos ONE* 1 2006:e31.
190. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol.* 2005;174:5789-5795.
191. Silswal N, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyaya S, Glosch S, Ethesham NZ. Human resistin stimulates the pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-12 in

- macrophages by NF- κ B-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;334:1092-1101.
192. Shetty GK, Economides PA, Horton ES, Mantzoros CS, Veves A. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients. *Diabetes Care.* 2004;27:2450-2457.
193. Reilly MP, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation.* 2005;111:932-939.
194. Konrad A et al. Resistin in an inflammatory marker of inflammatory bowel disease in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007;19:1070-1074.
195. Sunden-Cullberg J, et al. Pronounced elevation of resistin correlates with severity of disease in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 2007;35:1536-1542.
196. Momiyama Y, Ohmori R, Uto-Kondo H, Tanaka N, Kato R, et al. Serum resistin levels and cardiovascular events in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18:108-114.
197. Weikert C, Westphal S, Berger K, Dierkes J, Mohlig M, et al. Plasma resistin levels and risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:2647-2653.
198. Chen C, Jiang J, Lu JM, Chai H, Wang X, et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010;299:H193-201.
199. Verma S, Li SH, Wang CH, Fedak PW, Li RK, Rhoades B, Qi Y, et al. Resistin promotes endothelial activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 2003;108:736-740.
200. Hsu WY, Chao YW, Tsai YL, Lien CC, Chang CF, et al. Resistin induces monocyte-endothelial cell adhesion by increasing ICAM-1 and VCAM-1 expression in endothelial cells via p38MAPK-dependent pathway. *J Cell Physiol.* 2011;226:2181-2188.
201. Langheim S, Dreas L, Veschini L, Maisano F, Fogelien C, et al. Increased expression and secretion of resistin in epicardial adipose tissue of patients with

- acute coronary syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;298:H746-753.
202. Xu W, Yu L, Zhou W, Luo M, et al. Resistin increases lipi acumulation and CD36 expression in human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;351:376-382.
203. Lee TS, Lin CY, Tsai JY, Wu YL, Su KH, et al. Resistin increases lipid accumulation by affecting class A scavenger receptor, CD36 and ATP-binding cassette transporter-A1 in macrophages. *Life Sci*. 2009;84:97-104.
204. Costandi J, Melone M, Zhao A, Rashid S. Human resistin stimulates overproduction of atherogenic Apo-B containing lipoprotein particles by enchansing ApoB stability and impairing intracellular insulin signaling. *Circ Res*. 2011;108:727-747.
205. Melone M, Wilsie L, Palyha O, Strack A, Rashid S. Discovery of a new role of human resistin in hepatocyte low density lipoprotein suppression mediated in part by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:1697-1705.
206. Zhang JL, Qin YW, Zheng X, Qiu JL, Zou DJ: Serum resistin level in essential hypertension patients with different glucose tolerance.
207. Takata Y, Osawa H, Kurata M, Kurokawa M, Yamauchi J, Ochi M, et al. Hyperresistinemia is associated with coexistence of hypertension and type 2 diabetes. *Hypertension*. 2008;51:534-539.
208. Furuhashi M, Ura N, Higashiura K, Murakami H, Shimamoto K. Circulating resistin levels in essentila hypertension. *Clin Endocrinol (Oxd)*. 2003;59:507-510.
209. Androulakis ES, Tousoulis D, Papageorgiou N, Tsioufis C, Kallikazaros I, Stefanadis S. Essential hypertension: is there a role for inflammatory mechanisms? *Cardiol Rev*. 2009;17:216-221.
210. Tsioufis C, Dimitriadis K, Selima M, Milliou A, Toutouzas K, Roussos D, et al. Association of resistin with urinary albumin excretion in nondiabetic patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2010;23:681-686.

211. Shin HJ, Park S, Yoon SJ, Choi DS, Cho DK, Kim JS, et al. Association between serum resistin and carotid intima media thickness in hypertension patients. *Int J Cardiol.* 2008;125:79-84.
212. Fang C, Lee J, Zhou SX, Zhang YL, Yuan GY, Wang JF. Association of higher resistin levels with inflammatory activation and endothelial dysfunction in patients with essential hypertension. *Chin Med J.* 2013;126 (4):646-649.
213. Zhang L, Curhan GC, Forman JP. Plasma resistin levels associate with risk for hypertension among nondiabetic women. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(7):1185-1191.
214. Dusserre E, Moulin P, Vidal H. Differences in mRNA expression of the proteins secreted by adipocytes in human subcutaneous and visceral tissues. *Biochim Biophys Acta* 2000;1500:88-96.
215. Van Harmelen V, Ariapart P, Hoffstedt J, Lundkvist I, Bringman S, Arner P. Increased adipose angiotensinogen gene expression in human adiposity. *Obes Res* 2000;8:337-341.
216. Wittamer V, et al. Specific recruitment of antigen presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J Exp Med.* 2003;198:977-985.
217. Bozaoglu K, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology.* 2007;148:4687-4694.
218. Goralski KB, et al. Chemerin: a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J Biol Chem.* 2007;282:28175-28188.
219. Roh S-g, et al. Chemerin-a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;362:1013-1018.
220. Yang RZ, et al. Identification of omentin as novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290:E1253-1261.
221. De Souza Batista CM, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes.* 2007;56:1655-1661.

222. Tan BK, et al. Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. Ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose. *Diabetes*. 2008;57:801-808.
223. Yang Q, et al. Serum retinol binding protein contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 2005;436:356-362.
224. Graham TE, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Eng J Med*. 2006;354:2552-2563.
225. Broch M, Vendrell J, Ricart W, Richart C, Fernandez-Real JM. Circulating retinol-binding protein-4, insulin sensitivity, insulin secretion, and insulin disposition index in obese and nonobese subjects. *Diabetes Care*. 2007;30:1802-1806.
226. Silha JV, Nyomba BL, Leslie WD, Murphy LJ. Ethnicity, insulin resistance, and inflammatory adipokines in women at high and low risk vascular disease. *Diabetes Care*. 2007;30:286-291.
227. Von Eynatten M, Humpert PM. Retinol-binding protein-4 in experimental and clinical metabolic disease. *Expert Rev Mol Diagn*. 2008;8:289-299.
228. Hida K, et al. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:10610-106115.
229. Kloting N, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Comm*. 2006;339:430-436.
230. Youn BS, et al. Serum vaspin concentration in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2008;57:372-377.
231. Samal B, et al. Cloning and characterization of the DNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol*. 1994;14:1431-1437.
232. Chen MP, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:295-299.

233. Haider DG, et al. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1578-1581.
234. Filippatos TD, et al. Increased plasma visfatin levels in subjects with metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest.* 2008;38:71-72.
235. Berndt J, et al. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes.* 2005;54:2911-2916.
236. Klöting N, et al. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;339:430-436.
237. Pagano C, et al. Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:3165-3170.
238. Revollo JR, et al. Nampt/PBEF/visfatin regulates insulin secretion in beta cells via systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab.* 2007;6:363-375.
239. Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology.* 2006;131:934-945.
240. Sell H, Eckel J. Regulation of retinol binding protein 4 production in primary human adipocytes by adiponectin, troglitazone and TNF-alpha. *Diabetologia.* 2007;50:2221-2223.
241. Faggioni R, Feingold KR, Grunfeld. Leptin regulation of immune response and immunodeficiency of malnutrition. *FASEB J.* 2001;15:2565-2571.
242. Simmons PJ, van den Pangaart PS, van Roomen CP, Aerts JM, Boon L. Cytokine-mediated modulation of leptin and adiponectin secretion during in vitro adipogenesis: evidence that tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta-treated human preadipocytes are potent leptin producers. *Cytokine.* 2005;32:94-103.
243. Moschen AR, et al. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol.* 2007;178:1748-1758.

244. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nat Clin Rheumatol*. 2007;3:716-724.
245. Cash JL, et al. Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23. *J Exp Med*. 2008;205:767-775.
246. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91.
247. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*. 1995;95:2409-2415.
248. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116:1793-1801
249. Al-Shukaili A, Al-Ghafri, Al-Mrhoobi, Al-Abri S, Al-Lawati J, Al-Maskari M. Analysis of inflammatory mediators in type 2 diabetes patients. *International Journal of Endocrinology*. 2013 <http://dx.doi.org/10.1155/2013/976810/>
250. Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Tromb*. 2010;17:332-341
251. Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of innate immune system? *Diabetologia*. 1998;41(10):1241-1248.
252. Hu FB, Meigs JB, Li TY, Rifai N, Manson JE. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes*. 2004;53(3):693-700.
253. Schmidt MI, Duncan AR, Scharett AR et al. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (atherosclerosis risk in communities study): a cohort study. *The Lancet*. 1999;353(9165):1649-1652.
254. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Burning JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *The Journal of the American Medical Association*. 2001;286(3):327-334.
255. Mavridis G, Souliou E, Diza E et al. Inflammatory cytokines in insulin-treated patients with type 2 diabetes. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*. 2008;18(7):471-476.

256. Warner SJ, Libby P. Human vascular smooth muscle cells. Target for and source of tumor necrosis factor. *Am Immunol.* 1989;142:100-109.
257. Barath P, Fishbein MC, Cao J, Berenson J, Helfant RH, Forrester JS. Detection and localization of tumor necrosis factor in human atheroma. *Am J Cardiol.* 1990;65:297-302.
258. Aggarwal BB, Vilcek J (Eds): Biological actions of TNFs. U *Tumor Necrosis Factors*. III deo, New York, Dekker, 1992, 431-452.
259. Feingold KR, Grunfeld C: Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes.* 1992; 41(2):97-101.
260. Grunfeld C, Feingold KR. The metabolic effects of tumor necrosis factor and other cytokines. *Biotherapy.* 1991;3:143-158.
261. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112:1796-1808.
262. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JR, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112:1821-1830.
263. Vilcek J, Lee TH. Tumor necrosis factor, new insights into molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem.* 1991;266:7313-7316
264. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature.* 1997;398:610-614.
265. Hotamisligil GS, Spiegelman . Tumor necrosis faktor alpha: key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes.* 1994;43:1271-1278.
266. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280:E745-E751.
267. Jellema A, Plat J, Mensink RP. Weight reduction, but not a moderate intake of fish-oil, lowers concentrations of inflammatory markers and PAI-1 antigen in

- obese men during the fasting and postprandial state. *Eur J Clin Invest.* 2004;34:766-773.
268. Zinman B, Hanley AJ, Harris SB, Kwan J, Fantus IG. 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.
269. Myazaki 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.
270. Rush EC, Plank LD, Yajnik CS. Interleukin-6, tumor necrosis factor- α and insulin relationships to body composition, metabolism and resting energy expenditure in migrant Asian Indian population. *Clin Endocrinol (Oxd).* 2007;66:684-690.
271. Zavaroni I, Numeroso F, Dongiovanni P, Ardigo D, Valenti L, Fracanzani A, Valtuena S, Delsignore R, Fargion S, Reaven GM. What is the contribution of differences in three measures of tumor necrosis factor- α activity to insulin resistance in healthy volunteers? *Metabolism.* 2003;52:1593-1596.
272. Bernstein LE, Berry J, Kim S, Canavan B, Grinspoon SK. Effects of etanercept in patients with metabolic syndrome. *Arch Intern Med.* 2006;166:902-908.
273. Dominquez H, et al. Metabolic and vascular effects of tumor necrosis factor- α blockade with etanercept in obese patients with type 2 diabetes. *J Vasc Res.* 2005;42:517-525.
274. Chrysohoou C, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Skoumas J, Stefanadis C. Association between prehypertension status and inflammatory markers related to atherosclerotic disease: The ATTICA Study. *Am J Hypertension.* 2004;17:568-573.
275. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppel SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:972-978.

276. Stumpf C, John S, Jukic J, Yilmaz A, Raaz D, Schmieder RE, et al. Enhanced levels of platelet P-selectin and circulating cytokines in young patients with mild arterial hypertension. *J Hypertens*. 2005;23:995-1000.
277. Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gammara G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2005;19:149-154.
278. Furumoto T, Saito N, Dong J, Mikami T, Fujii S, Kitabatake A. Association of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in Japanese hypertensive patients: implications for early atherosclerosis. *Hypertens Res*. 2002;25:475-480.
279. Ito H, Ohshima A, Tsuzuki M, Ohto N, Takao K, Hijii C, et al. Association of serum tumor necrosis factor alpha with serum low-density lipoprotein-cholesterol and blood pressure in apparently Japanese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28:188-192.
280. Fernandez-Real JM, Lainez B, Vendrell J, Rigla M, Castro A, Penarroja G, et al. Shedding of TNF-alpha receptors, blood pressure, and insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;282:E959-959.
281. Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, et al. Relation of serum cytokine concentrations in cardiovascular risk factors and coronary heart disease. *Heart*. 1997;78:273-277.
282. Sheu WHH, Lee WJ, Chang RL, Chen YT. Plasma tumor necrosis factor alpha levels and insulin sensitivity in hypertensive subjects. *Clin Exp Hypertens*. 2000;22:595-606.
283. Yoshizumi M, Perrella MA, Burnett JC Jr, Lee ME. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res*. 1993;73:205-209.
284. Paz Y, Frolkis I, Pevni D, Shapira I, Yuhas Y, Iana A, et al. Effect of tumor necrosis factor-alpha on endothelial and inducible nitric oxide synthase messenger ribonucleic acid expression in nitric oxide synthesis in ischemic and nonischemic isolated rat heart. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:1299-1305.
285. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation* 1997;96:3042-3047.

286. Wang P, Ba ZF, Chaundry IH. Administration of tumor necrosis factor alpha in vivo depresses endothelium-dependent relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994;266:H2535-H2541.
287. Choy JC, Granville DJ, Hunt DW, McManus BM. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implication for atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol*. 2001;33:1673-1690.
288. Dalziel B, Gosby AK, Richmann RM, Bryson JM, Caterson ID. Association of the TNF-alpha -308 G/A promoter polymorphism with insulin resistance in obesity. *Obes Res*. 2002;10:401-407.
289. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen TM. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or indifferent? *Diabetes*. 2005;54:S114-S124.
290. Fried Sk, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:847-850.
291. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004;14:52272-52282.
292. Kamimura D, Ishiara K, Hirano T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003;149:1-38.
293. Maachi M, Pieroni L, Bruckert E, Jardel C, Fellahi S, Hainque B, et al. Systemic low grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNFalpha, leptin and IL-6 levels in obese women. *Int J Obes* 2004;28:993-997.
294. Ridker PM. Clinical implication of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107:363-369.
295. Nonogaki K, Fuller GM, Fuentes NL, Moser AH, Staprans I, Grunfeld C, et al. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. *Endocrinology* 1995;136:2143-2149.
296. Bastrad JP, Maachi M, Train Van Nhieu J, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, et al. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of

- glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2084-2089.
297. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis* 2000;148:209-214
298. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, 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;85:3338-3342.
299. Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW, Yamamoto K, Silvennoinen O. Signaling through the hematopoietic cytokine receptors. *Annu Rev Immunol* 1995;13:369-398.
300. Kroder G, Bossenmaier B, Kellerer M, Capp E, Stoyanov B, Muhlhofer A, et al. Tumor necrosis factor-alpha and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. *J Clin Invest* 1996;97:1471-1477.
301. Pedersen BK, Fischer CP. Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. *Curr Opin Nutr metab Care* 2007;10:265-271.
302. Sadagurski MNL, Farhang J, D Aquino K, Copps K, White MF. Human IL6 enhances leptin action in mice. *Diabetologia* DOI:10.1007/s00125-009-1580-8
303. Geiger PC, Hancock C, Wright DC, Han DH, Holloszy JO. IL-6 increases muscle sensitivity only in superphysiological levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292:E1842-E1846
304. Glund S, Deshmukh A, Long YC, Moller T, Koistinen HA, Caidahl K, et al. Interleukin-6 directly increases glucose metabolism in resting human skeletal muscle. *Diabetes* 2007;56:1630-1637.
305. Carey AL, Steinberg GR, Macaulay SL et al. Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes*.2006;55:2688-2697.
306. Ruge T, Lockton JA, renstrom F, Lystig T, Sukonina V, Svensson M, Eriksson JW. Acute hyperinsulinemia raises plasma interleukin-6 in both nondiabetic and

- type 2 diabetes mellitus subjects, and this effect inversely associated with body mass index. *Metabolism Clinical and Experimental* 2009;58:860-866.
307. Brevetti G, Silvestro A, Di Giacomo S, Bucur R, Di Donato A, Schiano V, et al. Endothelial dysfunction in peripheral arterial disease is related to increase in plasma markers of inflammation and severity of peripheral circulatory impairment but not classic risk factors and atherosclerotic burden. *J Vasc Surg* 2003;38:374-379.
308. Rifai N, Joubran R, Yu H, Asmi M, Jouma M. Inflammatory markers in men with angiographically documented coronary heart disease. *Clin Chem* 1999;45:1967-1973.
309. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342:836-843.
310. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension* 2001;38:399-403.
311. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell Jm et al. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1154-1159.
312. Furumoto T, Saito N, Dong J, Mikami T, Fujii S, Kitabatake A. Association of cardiovascular risk factors and endothelial dysfunction in Japanese hypertensive patients: implications for early atherosclerosis. *Hypertens Res* 2002;25:475-480-
313. Ridker PM, Koenig W, Fuster V. C-reactive protein and coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004;351:295-298
314. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events. An 8-year follow up of 14719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107:391-397.
315. Rutter MK, Meigs Jb, Sullivan LM, D'Agostino RB, Wilson PW. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and prediction of cardiovascular events in Framingham Offspring Study. *Circulation* 2004;110:380-385.

316. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly: results from the cardiovascular health study and the rural health promotion project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1121-1127.
317. Koenig W, Sund M, Frohlich M, et al. C-reactive protein, sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men. *Circulation* 1999;99:237-242.
318. 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;359:2195-2207.
319. Festa A, D'Agostino R, Howard G, Mykkanen L, Tracy R, Haffner S. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome. The insulin resistance atherosclerosis study (IRAS). *Circulation* 2000;102:42-47.
320. Saiso Y, Hirose H, Yamamoto Y et al. Combination of C reactive protein and high mollecular weight (HMW)-adiponectin reflects further metabolic abnormalities compared with each them alone in Japanese type 2 diabetic subjects. *Endocrin Journal* 2008;55:331-338.
321. Festa A, Hanley AJG, Tracy RP, D Agostino R Jr, Haffner SM. Inflammation in the prediabetic state is related to increased insulin resistance rather than decreased insulin secretion. *Circulation* 2003;108:1822-1830
322. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D Armiento M, D Andrea F, Giugliano D. Effects of mediterranean-style diet on ednotheilial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004;292:1440-1446.
323. 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; 13:113-121.
324. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem*. 2009;55:229-238, 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.

325. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakanura T, Nishida M, Nishizawa H, Maeda N, Kobayashi H, Hiraoka H, Matsusawa Y. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107:671-674.
326. Calbro P, Golia E, Maddaloni V, Malvezzi M, Casillo B, Matotta C, Calbro R, Golino P. Adipose tissue-mediated inflammation: the missing link between obesity and cardiovascular disease? *Interm Emerg Med* 2009;4:25-34.
327. King DE, Egan BM, Mainous AG, Geesey ME. Elevation of C-reactive protein in people with prehypertension. *J Clin Hypertens* (Greenwich) 2004;6:562-568.
328. Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cell by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001;103:2531-2534.
329. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002;106:913-918
330. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* 2002;106:1439-1444.
331. Boos CJ, Lip GYH. Is Hypertension an inflammatory process? *Current Pharmaceutical Design* 2006;12:1623-1635
332. Steinberg D, Witztum JL. Is oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? *Circulation* 2002;105:2107-2111.
333. Chilsom GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radical Biol Med.* 2000;28:1815-1826.
334. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular disease: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000;87:840-844.
335. Turko IV, Marcondes S, Murad F. Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid CoA-transferase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281(6):H2289-2294.
336. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB3rd: Diabetes, oxidative stress-activated signaling pathways: A review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003;17(1):24-38.

337. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress activated signalling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrin Rev* 2002;23(5):599-622.
338. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signalling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003;52(1):1-8.
339. Nakazano K, Watanabe N, Matsuno K, Sasaki J, Sato T, Inoue M. Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:10045-10048.
340. Fortuno A, Oliván S, Beloqui O, San Jose G, Moreno MU, Diez J, Zalba G. Association of increased phagocytic NAD(P)H oxidase-dependent superoxide production with diminished nitric oxide generation in essential hypertension. *J Hypertens* 2004;22:2169-2175.
341. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Katsuura H, Oshima T, Chayama K. Endothelial function and oxidative stress in renovascular hypertension. *N Eng J Med* 2002;16:333-336.
342. Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft KD. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free Radic Biol Med* 2004;36:226-232.
343. Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Yoshikawa J. Oxidative stress in leukocytes is possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reactive protein. *Hypertension* 2002;39:1169-1174.
344. Orié NN, Zidek W, Tepel M. Reactive oxygen species in essential hypertension and non insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 1999;12:1169-1174.
345. Lacy F, Kailasam MT, O'Connor DT, Schmid-Schonbein GW, Parmer RJ. Plasma hydrogen peroxide production in human essential hypertension: role of heredity, gender, and ethnicity. *Hypertension* 2000;36:878-884.
346. Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schonbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens* 1998;16:291-303.

347. Fukui T, Ishizawa N, Rajagopalan S, Laursen JB, Capers QIV, Taylor WR, Harrison DG, de Leon H, Wilcox JN, Griendling KK. P22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity increased in aortas from hypertensive rats. *Circ Res* 1997;80:45-51.
348. Touyz RM, Schiffrin EL. Increased generation of superoxide by angiotensin II in smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive patients: role of phospholipase D-dependent NAD(P)H oxidase-sensitive pathways. *J Hypertens* 2001;19:1245-1254.
349. Touyz RM, Yao G, Quinn MT, Pagano PJ, Schiffrin EL. P47phox associates with the cytoskeleton through cortactin in human vascular smooth muscle cells: role in NAD(P)H oxidase regulation by angiotensin II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:512-518.
350. Zalba G, San Jose G, Moreno MU, Fortuno A, Diez J. NADPH oxidase-mediated oxidative stress: genetic studies of the p22(phox) gene in hypertension. *Antioxid Redox Signal* 2005;7:1327-1336.
351. Redon J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, saez GT. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension* 2003;41:1096-1101.
352. Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bachler JP. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res* 2007;30:1159-1167.
353. Saez GT, Tormos C, Giner V, Chaves J, Lozano JV, Iradi A, redon J. Factors related to the impact of antihypertensive treatment in antioxidant activities and oxidative stress by-products in human hypertension. *Am J Hypertens* 2004;17:809-816.
354. Simic DV, Mimic-Oka J, Pljesa-Ercegovac M, Savic-Radojevic A, Opacic M, Matic D, Ivanovic B, Simic T. Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with different degrees of essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2006;20:149-155.

355. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its implication to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993;84:407-412.
356. Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamelč WA, Souka S, Lowe JE, Abdel-Aleem S. Depletion of total antioxidant capacity in type 2 diabetes. *Metabolism* 1999;48:1414-1417.
357. Maxwell SRJ, Thomason H, Sandler D, Le Guen C, Baxter MA, Thorpe GHG, Jones AF, Barnett AH. Poor glycemic control is associated with reduced serum free radical scavenging (antioxidant) activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1997;34:638-644.
358. Kashyap MK, Yadav V, Sherawat BS, Jain S, Kumari S, Khullar M, Sharma PC, Nath R. Different antioxidant status, total antioxidant power and free radicals in essential hypertension. *Mol Cell Biochem* 2005;277:89-99.
359. Lopes HF, Martin KL, nashar K, Morrow JD, Goodfriend TL, Egan BM. DASH diet lowers blood pressure and lipi-induced oxidative stress in obesity. *Hypertension* 2003;41:422-430.
360. Paravicini TM, Touyz RM. NADPH oxidase, reactive oxygen species, and hypertension. Clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care* 2008;31(1):S170-S180.
361. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
362. Luscher TF, Vanhoutte PM. The endothelium: modulator of cardiovascular function. Boca Raton, FL, CRC Press, 1999.
363. Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, Versari D, Salvetti A. Mechanisms of endothelial dysfunction: clinical significance and preventive non-pharmacological therapeutic strategies. *Curr Pharm Des* 2003;9:2385-2402,
364. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferranninni E, Halcox J, Kiowski W, Luscher TF, Mancia G, Natali A, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Spieker LE, Taddei S, Webb DJ. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases: a

- statement by working group on endothelins and endothelial factors of European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005;23:233-246.
365. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS, Epstein SE. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:1145-1151.
366. Murakami T, Mizuno S, Kaku B. Clinical morbidities in subjects with Doppler-evaluated endothelial dysfunction of coronary artery. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:419A.
367. Williams SB, Cusco JA, Roddy MA, Johnstone MT, Creager MA. Impaired nitric oxide-mediated vasodilatation in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:567-574.
368. Rossi R, Chiurlia E, Nuzzo A, Cioni E, Origiani G, Modena MG. Flow-mediated vasodilatation and the risk of developing hypertension in healthy postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1636-1640.
369. Rossi R, Cioni E, Nuzzo A, Origiani G, Modena MG. Endothelial-dependent vasodilatation and incidence of type 2 diabetes in population of healthy postmenopausal women. *Diabetes Care* 2005;28:702-707
370. Baron AD. Insulin and vasculature-old actors, new roles. *J Investig Med* 1996;44:406-412.
371. Utrianen T, Makimattila S, Virkamaki A, Bergholm R, Yki-Jarvinen H. Dissociation between insulin sensitivity of glucose uptake and endothelial function in normal subjects. *Diabetologia* 1996;39:1477-1482.
372. Tack C, Ong M, Lutterman J, Smits P. Insulin-induced vasodilatation and endothelial function in obesity/insulin resistance: effects of troglitazone. *Diabetologia* 1998;41:569-576.
373. Natali A, Taddei S, Quinones-Galvan A, Camastra S, Baldi S, Frascerra S, Viridis S, Sudano I, Salvetti, Ferranninni E. Insulin sensitivity, vascular reactivity, and clamp-induced vasodilatation in essential hypertension. *Circulation* 1997;96:849-855.

374. Natali A, Toschi E, Baldweg S, Ciociaro D, Favilla S, Sacca L, Ferranninni E. Clustering of insulin resistance with vascular dysfunction and low grade inflammation in type 2 diabetes. *Diabetes* 2006;55:1133-1140.
375. Balletschofer B, Ritting K, Enderle M, Volk A, Maerker E, Jacob S, Matthaei S, Rett K, Haring H. Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation* 2000;101:1780-1784.

BIOGRAFIJA

Ljiljana Lukić je rođena. 1970. g. u Zrenjaninu, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju sa odličnim uspehom.

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je završila 1995.g. (u apsolventskom roku) sa prosečnom ocenom 8,64 i odbranila diplomski rad na temu "Transplantacija fetalnih ostrvaca endokrinog pankreasa u terapiji insulin-zavisnog dijabetesa" sa ocenom 10. dalje školovanje nastavlja na istom fakultetu.

U toku obaveznog lekarskog staža započinje volonterski rad na Institutu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije.

Specijalistički ispit iz Interne medicine polaže 2000.g. sa odlikom.

Od 2001.g. je zaposlena na neodređeno vreme, kao lekar specijalista na Odeljenju za metaboličke poremećaje, intenzivni tretman i ćelijsku terapiju u dijabetesu Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog Centra Srbije.

Odbanom magistrarskog rada iz oblasti endokrinologije sa temom " *Ispitivanje determinanti sposobnosti insulinske sekrecije izolovanih humanih fetalnih ostrvaca u toku kultivacije u pretransplantacionom periodu*" 2003.g. stiče zvanje Magistra medicinskih nauka.

Odbanom rada iz uže specijalizacije iz oblasti endokrinologije sa temom " *Redukcija telesne mase u gojaznih pacijenata sa koronarnom bolešću: poređenje uticaja dijete na metaboličke faktore rizika za koronarnu bolest u tipu 2 dijabetesa u odnosu na nedijabetičare*" 2005.g. postaje supspecijalista endokrinolog.

Saradnik je na naučno-istraživačkim projektima Republičkog ministarstva za nauku i tehnologiju od 1998.g.

2009. g. je stekla zvanje Istraživača saradnika iz oblasti endokrinologija, a od 2011.g. je Klinički asistent na katedri za internu medicinu, oblast endokrinologija Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Do sada je autor ili koautor u 303 publikovana rada (prvi autor u 29 radova) objavljenih kao poglavlja u monografijama nacionalnog značaja (7), u celini u međunarodnim časopisima (26), u celini u domaćim časopisima (8) izlaganih na međunarodnim (188) i domaćim (75) naučnim skupovima objavljenih u izvodu.

Saradnik je u međunarodnim projektima u okviru Evropske istraživačke grupe za ispitivanje insulinske rezistencije (EGIR): "EGIR-RISC, Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular Disease Risk" od 2002.g., a od 2010.g. i međunarodnom projektu o gestacijskom dijabetesu u okviru Mediteranske grupe za studije dijabetesa (MGSD).

Član je Endokrinološke sekcije Srpskog lekarskog društva (SLD), EGIR, MGSD, Evropske asocijacije za studije u dijabetesu (EASD), kao i studijske grupe EASD-a za dijabetes i kardiovaskularne bolesti (D&CVD).

Dobitnik je nagrade za najbolji rad u kategoriji dijabetesa na 3.svetskom kongresu o kontraverzama u dijabetesu, gojaznosti i hipertenziji (3rd World Congress on Controversies to Consensus in Diabetes, Obesity and Hypertension (CODHy)) u Pragu, 2010.

Govori engleski jezik.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Јулијана Лукић

број уписа _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

АНАЛИЗА МЕТАБОЛИЧКИХ ДЕТЕРМИНАНТИ НАСТАЈКА АРТЕРИЈСКЕ ХИПЕРТЕНЗИЈЕ КОЈ ГЛАВНИХ ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПОМ 2 ДИАБЕТЕСА

- 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.

Јулијана Лукић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Јулијана Лукић

Број уписа _____

Студијски програм _____

Наслов рада АНАЛИЗА МЕТАБОЛИЧКИХ ДЕТЕРМИНАНТИ НАСТАЈА АРТЕРИЈСКЕ
ХИПЕРТЕНЗИЈЕ КОД ПОЈАЗНИХ ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПИЧНОМ 2. ДИЈАБЕТЕСА

Ментор проф др Небојша М. Малић

Потписани Јулијана Лукић

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.

Јулијана Лукић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

АНАЛИЗА МЕТАБОЛИЧКИХ ПЕРМЕНТАНТИ НАСТАЈКА АРТЕРИЈСКЕ ХИПЕРТЕНЗИЈЕ КОЈА ГОЈАЗНИХ ПАЦИЈЕНАТА СА ТИПОМ 2 ДИАБЕТЕСА

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

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

Потпис докторанда

У Београду, 18.10.2013.

Љиљана Ђукић

1. Ауторство - Дозвољавање 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. Дозвољавање 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. Дозвољавање 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. Дозвољавање 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. Дозвољавање 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. Дозвољавање 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.