

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Danijela Grizelj**

**Adiponektin i omentin u masnom tkivu  
vrata i serumu bolesnika s  
metaboličkim rizikom**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Danijela Grizelj**

**Adiponektin i omentin u masnom tkivu  
vrata i serumu bolesnika s  
metaboličkim rizikom**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2019.**

Disertacija je izrađena u Zavodu za bolesti uha, grla i nosa, Odjelu za vaskularnu kirurgiju, Zavodu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma i Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava

Voditelj rada: dr. sc. Vlatka Pandžić Jakšić, dr. med.

Zahvaljujem se mentorici na strpljenju i pomoći, mojoj obitelji, kolegama, prijateljima i svima koji su mi pomogli prilikom izrade ove disertacije.

# ***ADIPONEKTIN I OMENTIN U MASNOM TKIVU VRATA I SERUMU BOLESNIKA S METABOLIČKIM RIZIKOM***

SADRŽAJ

POPIS TABLICA

POPIS SLIKA

POPIS KRATICA

PROSLOV

1. UVOD I SVRHA RADA.....	1
1.1. METABOLIČKI RIZIK .....	2
1.2. GRAĐA, RASPODJELA I RAZLIKE MASNOG TKIVA .....	5
1.3. MASNO TKIVO VRATA.....	7
1.4. METABOLIČKA ULOGA ODJELJAKA MASNOG TKIVA .....	11
1.4.1. <i>Osjetljivost na inzulin</i> .....	11
1.4.2. <i>Slobodne masne kiseline i lipoliza</i> .....	13
1.4.3. <i>Termogenetski učinak masnog tkiva</i> .....	15
1.4.3.1. Smeđe masno tkivo .....	16
1.4.3.2. Bež adipociti .....	17
1.4.4. <i>Upala u masnom tkivu</i> .....	18

1.4.5.	<i>Endokrini učinak masnog tkiva</i> .....	21
1.5.	ADIPOKINI .....	21
1.5.1.	<i>Adiponektin</i> .....	22
1.5.1.1.	Biokemijska svojstva i struktura adiponektina i receptora .....	22
1.5.1.2.	Biološka uloga adiponektina.....	24
1.5.1.2.1.	Adiponektin i inzulin .....	24
1.5.1.2.2.	Adiponektin i lipidi .....	26
1.5.1.2.3.	Adiponektin i pretilost .....	27
1.5.1.2.4.	Adiponektin i kardiovaskularni sustav.....	27
1.5.1.2.5.	Adiponektin i upala.....	29
1.5.2.	<i>Omentin</i> .....	30
1.5.2.1.	Biokemijska svojstva i struktura omentina i receptora .....	30
1.5.2.2.	Biološka uloga omentina-1 .....	31
1.5.2.2.1.	Omentin-1 i inzulinska osjetljivost .....	32
1.5.2.2.2.	Omentin-1 i lipidi.....	32
1.5.2.2.3.	Omentin-1 i pretilost .....	33
1.5.2.2.4.	Omentin i kardiovaskularni sustav.....	34
1.5.2.2.5.	Omentin i upala.....	35

1.5.3.	<i>Ostali važni adipokini</i> .....	36
1.5.3.1.	Leptin .....	36
1.5.3.2.	Rezistin .....	38
1.5.3.3.	TNF $\alpha$ .....	40
1.5.3.4.	IL-6 .....	41
1.5.3.5.	RBP4 .....	42
2.	HIPOTEZA .....	45
3.	CILJEVI RADA.....	46
4.	MATERIJALI I METODE .....	47
4.1.	ISPITANICI I DIJAGNOSTIČKI POSTUPCI .....	47
4.1.1.	<i>Antropometrijska mjerenja</i> .....	48
4.1.2.	<i>Indeks tjelesne mase</i> .....	48
4.1.3.	<i>Analiza sastava tijela</i> .....	48
4.1.4.	<i>Ultrazvučno mjerenje</i> .....	49
4.1.5.	<i>Laboratorijska obrada</i> .....	50
4.1.5.1.	ELISA (od eng. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) .....	51
4.1.5.1.1.	Određivanje adiponektina .....	51
4.1.5.1.1.1.	Kemikalije i uzorci koji su korišteni: .....	51

4.1.5.1.1.2. Procedura.....	51
4.1.5.1.2. Određivanje omentina .....	52
4.1.5.1.2.1. Kemikalije i uzoci .....	52
4.1.5.1.2.2. Procedura.....	53
4.1.5.2. Metoda RNA izolacije i reverzne transkripcije .....	54
4.1.5.2.1. Umnažanje cDNA i relativna kvantifikacija gena za omentin i adiponektin .....	54
4.1.5.2.2. Evaluacija RT-PCR podataka .....	56
4.2. ANALIZA PODATAKA .....	56
4.2.1. Statističke metode.....	56
4.3. ETIČKA NAČELA .....	56
5. REZULTATI.....	57
5.1. OBILJEŽJA ISPITANIKA .....	57
5.2. USPOREDBA ISPITANIKA SA I BEZ METABOLIČKOG SINDROMA .....	58
5.3. KORELACIJSKA ANALIZA .....	59
5.3.1. Povezanost demografskih i antropometrijskih obilježja i sastava tijela na cijelom uzorku.....	59

5.3.2. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na cijelom uzorku .....	61
5.3.3. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima ženskog spola .....	62
5.3.4. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima muškog spola.....	63
5.3.5. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na cijelom uzorku .....	65
5.3.6. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na ispitanicima ženskog spola.....	66
5.3.7. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na ispitanicima muškog spola. ....	67
5.3.8. Povezanost između tkivnog izražaja adiponektina i omentina-1 u masnom tkivu vrata i njihove serumske koncentracije.....	68
5.3.9. CIMT .....	69
5.4. ANALIZA IZRAŽAJA ADIPONEKINA U POTKOŽNOM I PARAKAROTIDNOM MASNOM TKIVU VRATA	71



5.4.1.	<i>Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza na cijelom uzorku .....</i>	71
5.4.2.	<i>Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata - analiza kod ispitanika s metaboličkim sindromom .....</i>	72
5.4.3.	<i>Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza kod ispitanika bez metaboličkog sindroma .....</i>	73
5.5.	ANALIZA IZRAŽAJA OMENTINA-1 U POTKOŽNOM I PARAKAROTIDNOM MASNOM TKIVU VRATA <sup>74</sup>	
5.5.1.	<i>Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza na cijelom uzorku.....</i>	74
5.5.2.	<i>Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza kod ispitanika s metaboličkim sindromom.....</i>	75
5.5.3.	<i>Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza kod ispitanika bez metaboličkog sindroma .....</i>	76
5.6.	ANALIZA SERUMSKIH KONCENTRACIJA ADIPONEKTINA I OMENTINA-1 .....	77
5.6.1.	<i>Analiza serumskih koncentracija adiponektina kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom .....</i>	77
5.6.2.	<i>Analiza serumskih koncentracija omentina-1 kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom .....</i>	78
5.7.	POVEZANOST IZRAŽAJA ADIPONEKTINA U POTKOŽNOM I PARAKAROTIDNOM MASNOM TKIVU VRATA I NJEGOVE KONCENTRACIJE U SERUMU S POJEDINIM SASTAVNICAMA METABOLIČKOG SINDROMA .....	79

5.8. POVEZANOST IZRAŽAJA OMENTINA-1 U POTKOŽNOM I PARAKAROTIDNOM MASNOM TKIVU VRATA I NJEGOVE KONCENTRACIJE U SERUMU S POJEDINIM SASTAVNICAMA METABOLIČKOG SINDROMA .....	82
6. RASPRAVA .....	86
6.1. IZRAŽAJ ADIPONEKTINA U MASNOM TKIVU .....	86
6.2. IZRAŽAJ OMENTINA-1 U MASNOM TKIVU .....	87
6.3. ADIPONEKTIN U SERUMU .....	87
6.4. OMENTIN-1 U SERUMU .....	90
6.5. OPSEG VRATA .....	92
6.6. CRP .....	94
6.7. CIMT .....	95
6.8. OGRANIČENJA U ISTRAŽIVANJU .....	97
7. ZAKLJUČAK .....	98
8. SAŽETAK .....	100
9. SUMMARY .....	101
10. POPIS LITERATURE .....	102
11. ŽIVOTOPIS .....	142

## Popis tablica:

Tablica 1. Smjesa za PCR za GAPDH gen .....	55
Tablica 2. Smjesa za PCR za ADIPOQ gen.....	55
Tablica 3. Smjesa za PCR za ITLN1 gen.....	55
Tablica 4. Dob, antropometrijska i metabolička obilježja ispitanika te udio masti u tijelu .....	57
Tablica 5. Usporedba antropometrijskih i metaboličkih odrednica, te sastava tijela kod ispitanika sa metaboličkim sindromom i bez njega .....	58
Tablica 6. Povezanost demografskih i antropometrijskih obilježja i sastava tijela na cijelom uzorku .....	59
Tablica 7. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na cijelom uzorku .....	61
Tablica 8. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima ženskog spola .....	62
Tablica 9. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima muškog spola.....	63
Tablica 10. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na cijelom uzorku .....	65

Tablica 11. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na ispitanicima ženskog spola .....	66
Tablica 12. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima muškog spola.....	67
Tablica 13. Povezanost tkivnog izražaja adiponektina i omentina-1 u masnom tkivu vrata međusobno i njihove serumске koncentracije – analiza na cijelom uzorku .....	68
Tablica 14. Povezanost CIMT s mjerenim antropometrijskim i metaboličkim parametrima te sa tkivnim izražajem i serumskom koncentracijom adiponektina i omentina - analiza na cijelom uzorku .....	69
Tablica 15. Tkivni izražaj i serumска koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti ŠBT2.....	79
Tablica 16. Tkivni izražaj i serumска koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti triglicerida u serumu.....	79
Tablica 17. Tkivni izražaj i serumска koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti HDL-kolesterola u serumu .....	80
Tablica 18. Tkivni izražaj i serumска koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti arterijske hipertenzije .....	80
Tablica 19. Tkivni izražaj i serumска koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti opsega struka .....	82
Tablica 20. Tkivni izražaj i serumска koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti ŠBT2.....	82

Tablica 21. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti triglicerida u serumu.....	83
Tablica 22. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti HDL-kolesterola u serumu .....	83
Tablica 23. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti arterijske hipertenzije .....	84
Tablica 24. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti opsega struka .....	84

## Popis slika:

Slika 1. Transverzalni prikaz vrata i anatomske lokacije različitih odjeljaka masnog tkiva vrata.....	9
Slika 2. Usporedba prosječne vrijednosti CIMT kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i sa metaboličkim sindromom .....	70
Slika 3. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata na cijelom uzorku .....	71
Slika 4. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika s metaboličkim sindromom .....	72
Slika 5. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika bez metaboličkog sindroma.....	73
Slika 6. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata na cijelom uzorku .....	74
Slika 7. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika s metaboličkim sindromom.....	75
Slika 8. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika bez metaboličkog sindroma .....	76
Slika 9. Serumske koncentracije adiponektina kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom .....	77
Slika 10. Serumske koncentracije omentina-1 kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom .....	78

## Popis kratica:

AdipoR1	- adiponektinski receptor 1
AdipoR2	- adiponektinski receptor 2
AMP	- adenzin monofosfat (od eng. <i>adenosine monophosphate</i> )
AMPK	- adenzin monofosfat kinaza (od eng. <i>adenosine monophosphate-activated protein kinase</i> )
ApoB	- apolipoprotein B
ATP	- adenzin trifosfat (od eng. <i>adenosine triphosphate</i> )
BMP	- koštani morfogenetski protein (od eng. <i>bone morphogenetic protein</i> )
c/EPB	- protein koji veže CCAAT-pojačivač
cAPN	- kolagenska domena adiponektina
cDNA	- komplementarna deoksiribonukleinska kiselina (od eng. <i>complementary deoxyribonucleic acid</i> )
CIMT	- debljina intima-medije karotidne arterije (od eng. <i>carotid intima-media thickness</i> )
COX	- Ciklooksigenaza (od eng. <i>cyclooxygenase</i> )
CRH	- kortikotropin otpuštajući hormon (od eng. <i>corticotropin-releasing hormone</i> )
CRP	- C-reaktivni protein
Ct	- prag ciklusa (od eng. <i>cycle treshold</i> )
D/ADIPO	- izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu
D/ITLN1	- izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu
DEPC	- Dietilpirokarbonat (od eng. <i>diethyl pyrocarbonate</i> )
DNA	- deoksiribonukleinska kiselina (od eng. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
EDTA	- etilendiamintetraoctena kiselina ( od eng. <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> )

eNOS	-	endotelna dušična sintetaza (od eng. <i>endothelial nitric oxide synthase</i> )
fAPN	-	adiponektin pune duljine
FGF	-	faktor rasta fibroblasta (od eng. <i>fibroblast growth factor</i> )
Fox	-	zupčasti (protein) (od eng. <i>Forkhead box</i> )
GADPH	-	gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenaza
gAPN	-	globularna domena adiponektina
HbA1c	-	glikolizirani hemoglobin
HCL	-	klorovodična kiselina
HDL- kolesterol	-	kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće
HOMA	-	model homeostatske procjene (od eng. <i>the homeostasis model assessment</i> )
HOX	-	obitelj homeotskih gena
HRP	-	streptavidin-hren peroksidaza (od eng. <i>horseradish peroxidase</i> )
ICAM	-	intercelularna adhezijska molekula (od eng. <i>intercellular adhesion molecule</i> )
IDF	-	međunarodna dijabetološka federacija (od eng. <i>International Diabetes Federation</i> )
IGF	-	faktor rasta nalik inzulinu (od eng. <i>insulin-like growth factor</i> )
IKK $\beta$	-	I $\kappa$ kinaza $\beta$ (od eng. <i>inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta</i> )
IL-6	-	interleukin 6
IMT	-	debljina intime medije (od eng. <i>intima-media thickness</i> )
IP	-	interval pouzdanosti
IRS	-	supstrat za inzulinski receptor (od eng. <i>insulin receptor substrate</i> )
ITLN1	-	intelektin 1
ITM	-	indeks tjelesne mase



JNK	-	C-Jun-N-terminalna kinaza
kcal	-	kilokalorija
KOGES	-	koreanska genomska i epidemiološka studija (od eng. <i>The Korean Genome and Epidemiology Study</i> )
KVB	-	kardiovaskularna bolest
LDL	-	lipoprotein niske gustoće (od eng. <i>low - density lipoprotein</i> )
MCP	-	kemoatraktivni protein monocita (od eng. <i>monocyte chemoattractant protein</i> )
MMW	-	srednja molekularna masa (od eng. <i>middle molecular weight</i> )
MR	-	magnetna rezonanca
NCEP-ATP	-	Nacionalni program obrazovanja o kolesterolu - panel za liječenje odraslih (od eng. <i>National Cholesterol Education Program - adult treatment panel</i> )
NFκB	-	nuklearni čimbenik κB (od eng. <i>nuclear factor κB</i> )
OB	-	opseg bokova
OS	-	opseg struka
OSAS	-	sindrom opstruktivne apneje u snu (od eng. <i>obstructive sleep apnea syndrome</i> )
OV	-	opseg vrata
P/ADIPO	-	izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu
P/ITLN1	-	izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu
PAI	-	inhibitor aktivatora plazminogena (od eng. <i>plasminogen activator inhibitor</i> )
PAPP-A	-	s trudnoćom povezani plazma protein A (od eng. <i>pregnancy associated plasma protein A</i> )
PCOS	-	sindrom policističnih jajnika (od eng. <i>polycystic ovary syndrome</i> )
PCR	-	polimerazna lančana reakcija (od eng. <i>polymerase chain</i>

	-	<i>reaction)</i>
PGES	-	prostaglandin E sintetaza
PPAR	-	peroksizomni proliferatorsko-aktivirani receptor (od eng. <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i> )
PRDM	-	član koji sadrži pozitivnu regulatornu domenu (od eng. <i>Positive regulatory domain member</i> )
PROCAM	-	prospektivna kardiovaskularna studija Münster (od eng. <i>the prospective cardiovascular Münster (study)</i> )
QC1	-	konrola kvalitete 1 (od eng. <i>quality control 1</i> )
QC2	-	kontrola kvalitete 2 (od eng. <i>quality control 2</i> )
RBP4	-	retinol vežući protein 4 (od eng. <i>retinol binding protein 4</i> )
RNA	-	ribonukleinska kiselina (od eng. <i>ribonucleic acid</i> )
SD	-	standardna devijacija
SHBG	-	globulin koji veže spolne hormone (od eng. <i>sex hormone binding globulin</i> )
SMK	-	slobodne masne kiseline
SREBP	-	sterol regulacijski element koji veže protein (od eng. <i>sterol regulatory element-binding protein</i> )
SV	-	srednja vrijednost
ŠBT1	-	šećerna bolest tip 1
ŠBT2	-	šećerna bolest tip 2
TBX .	-	T-box transkripcijski faktor (od eng. <i>T-box transcription factor</i> )
TG	-	trigliceridi
TM	-	tjelesna masa
TNF $\alpha$	-	faktor nekroze tumora $\alpha$ (od eng. <i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> )
TRH	-	tireotropin otpuštajući hormon (od eng. <i>thyrotropin-releasing hormone</i> )
TV	-	tjelesna visina

- UCP-1 - odvajajući protein 1 (od eng. *uncoupling protein-1*)
- VCAM - adhezijska molekula vaskularnih stanica (od eng. *vascular cell adhesion molecule*)
- VEGF - faktor rasta vaskularnog endotela (od eng. *vascular endothelial growth factor*)
- VSMC - glatkomišićne vaskularne stanice (od eng. *vascular smooth muscle cells*)
- WHO - Svjetska zdravstvena organizacija (od eng. *World Health Organisation*)
- WNT - signalni put (od eng. *wingless/integrated*)

# 1. UVOD I SVRHA RADA

Masno tkivo nalazimo u brojnih životinjskih vrsta i gotovo svih kralježnjaka gdje ono predstavlja sofisticirani način pohrane energije. Sposobnost organizma da pohrani višak energije biološka je prilagodba i golema prednost. Brojni organizmi su razvili ovu sposobnost i iako se višak energije može pohraniti u obliku masnih kapljica u brojnim organima, razvoj masnog tkiva kao specijaliziranog organa je svojevrsni evolucijski napredak (1, 2).

Tijekom evolucije čovjek je razvio niz prilagodbi koje su relativno rijetke. To uključuje odgođeno sazrijevanje, vrlo visok omjer veličine tijela i mozga te značajno širenje neokorteksa i područja mozga povezanih s intenzivnim i složenim društvenim interakcijama, jezikom, simbolizmom i kulturom (3). Dokazi iz longitudinalnih istraživanja ukazuju na to da tjelesna masa nije čvrsto regulirana jer ima tendenciju da se mijenja prema gore od oko 0,2 do 2,0 kg godišnje tijekom odraslog života (4). Ljudi, kao uostalom i većina drugih životinja, daleko su tolerantniji na pozitivnu, nego na negativnu energetska ravnotežu (5). Povećana količina masnog tkiva u tijelu koja negativno utječe na zdravlje pojedinca definira se kao pretilost. Evolucijski pristupi objašnjenja pretilosti doveli su do različitih hipoteza, no svakoj je naglasak na konceptu štednje. Koncept štedljivog genotipa sugerira da su se populacije mijenjale genetski u predispoziciji za pohranu energije zbog razlike u izloženosti predaka u "ciklusima izobilja i gladi" (6). Prema ovoj teoriji dva primarna faktora koja utječu na životnu strategiju su rizik od smrtnosti i dostupnost energije. Jedna od ključnih postavki teorije je da se konačna količina energije mora podijeliti između konkurentskih funkcija, od kojih su najvažnije održavanje, rast, reprodukcija i imunološki sustav (7). Masno tkivo spremanjem energije u tijelu služi zapravo kao zaštita od kratkoročnih ekoloških i energetskih perturbacija, dopuštajući da se organizmi vode dugoročnim ciljevima te tako predstavlja značajan faktor fenotipske fleksibilnosti unutar i između generacija.

Činjenica da je masno tkivo izvor brojnih signalnih molekula naglašava njegovu ulogu u usklađivanju za život bitnih odluka, a s druge strane pokazatelji koji njegovo gomilanje povezuju sa lošim zdravstvenim ishodima i stanjem kronične upale daju mu oznaku toksičnosti. Ovaj na prvi pogled jednostavan, a opet tako složen sustav sve se više destabilizira u mnogim ljudskim populacijama (8). U modernim društvima pojedinci su izloženi brojnim signalima koji favoriziraju nakupljanje masnoća, posebice u sredinama u kojima stvarna dostupnost energije ima visoku stabilnost. Iako masno tkivo ima ulogu pufera

u doba energetske nestabilnosti, brojne spoznaje upućuju da njegova prekomjerna akumulacija, posebice na nekim lokacijama u tijelu, vodi metaboličkom riziku pogodujući nizu nepovoljnih događaja.

Debljina kao stanje prekomjernog nakupljanja masnog tkiva smatra se rizičnim čimbenikom za razvoj niza metaboličkih poremećaja kao što su inzulinska rezistencija, dislipidemija, hipertenzija i ateroskleroza. Ipak, odnos nije jednostavan, pogotovo ako u obzir uzmemo činjenicu da svaka osoba s prekomjernom tjelesnom masom nema metabolički poremećaj, niti sve osobe s metaboličkim poremećajem imaju povećanu tjelesnu masu (9). Štoviše, u bolesnika s malignim tumorima, zatajenjem bubrega ili već postojećim kardiovaskularnim bolestima kao što su zatajenje srca i koronarna arterijska bolest, uočeno je smanjenje morbiditeta i mortaliteta povećanjem indeksa tjelesne mase (ITM). Taj povoljni metabolički učinak u literaturi je nazvan „paradoks debljine“ razotkrivajući važnost ne samo količine, već ponajprije funkcionalnog statusa masnog tkiva.

Suvremena istraživanja novootkrivene endokrine uloge masnog tkiva u raznolikim fenotipovima debljine sve više doprinose boljem razumijevanju patofizioloških mehanizama metaboličkih poremećaja. Posebice se izdvajaju istraživanja pojedinih specifičnih odjeljaka masnog tkiva kao jedinstvenih malih endokrinih organa koji mogu imati i važnu neposrednu lokalnu ulogu.

## **1.1. Metabolički rizik**

Rizik se poopćeno definira kao izračunata prognoza, u negativnom slučaju, moguće štete, gubitka ili opasnosti, a biti pod rizikom znači biti subjekt štete nekog procesa ili aktivnosti. Kada govorimo o metaboličkom riziku, Vague je 1947. godine opisao da je visceralna pretilost često povezana s metaboličkim abnormalnostima koje su viđene u KVB i ŠBT2 (10), a 1965. godine u Europskoj udruzi za proučavanje ŠBT2 opisan je sindrom koji uključuje hipertenziju, hiperglikemiju i pretilost (11). Veliki korak u sistematizaciji čimbenika metaboličkog rizika učinio je Reaven 1988. godine kada je opisao "skupinu faktora rizika za ŠBT2 i kardiovaskularne bolesti" i nazvao ga "sindromom X". Njegov glavni doprinos bio je uvođenje koncepta otpornosti na inzulin kao glavne poveznice spomenutih faktora rizika (12). Nekoliko godina je istraživao otpornost na inzulinom posredovani unos glukoze i primjetio da je poremećaj prisutan i kod ispitanika s ŠBT2, ali i kod onih s normalnom tolerancijom glukoze. Stvorio je hipotezu da je otpornost na inzulin zajednički etiološki faktor za skupinu

poremećaja koji se sastoji od oštećene tolerancije glukoze, hiperinzulinemije, visoke razine triglicerida, niske razine HDL-kolesterola i hipertenzije. Također je istaknuo povećani rizik za aterosklerozu kod pojedinaca sa sindromom, a naglasio je učinak i genetike i čimbenika okoliša na masu inzulinske rezistencije. Iznenadujuće je izostavio abdominalnu pretilost iz definicije koja je kasnije dodana kao ključna abnormalnost. Tek je u definiciji *National Cholesterol Education Program - adult treatment panel III* (NCEP-ATP III) (13) koja datira iz početka ovog stoljeća prepoznata prognostička važnost i uključen opseg struka kao jedan od kriterija.

Metabolički sindrom, definiran konstelacijom međusobno povezanih fizioloških, biokemijskih, kliničkih i metaboličkih čimbenika koji izravno povećavaju rizik od aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti i ŠBT2, kao pojam održao se, uz brojne preinake, sve do danas. Ono što je bitno je činjenica da se rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti u metaboličkom sindromu povećava sinergijski sa svakim faktorom rizika, što dokazuje da što je više faktora rizika metaboličkog sindroma veća je vjerojatnost razvoja KVB. Iako i ovdje postoje brojna nesuglasja, u studiji PROCAM (14) četverogodišnji rizik od infarkta miokarda kod muškaraca između 40 i 65 godina povećan je 2,5 puta u prisutnosti bilo ŠBT2 ili hipertenzije, 8 puta u prisutnosti i ŠBT2 i hipertenzije, a 19 puta u prisutnosti sva tri faktora rizika uključujući hipertenziju, ŠBT2 i dislipidemiju. S vremenom su u entitet dodane druge abnormalnosti kao što su kronična upala, protrombotsko stanje, nealkoholna masna jetra i sindrom apneje u snu čime je njegova definicija postala još složenija (15). Pored mnogih komponenti i kliničkih implikacija MS-a, još uvijek nema opće prihvaćenih patogenih mehanizama ili jasno definiranih dijagnostičkih kriterija, niti je jasno, predstavlja li specifični sindrom ili je surogat kombiniranih čimbenika rizika koji osobu stavljaju pod osobit rizik. Njegove slabe točke i danas, kao i u počecima, najviše se ističu u nemogućnost preciznijeg predviđanja kardiovaskularnog rizika u odnosu na njegove pojedine sastavnice kao i neodređenost relativnog utjecaja pojedinih čimbenika u svakodnevnom kliničkom radu (16).

Brojne organizacije su tijekom proteklih desetljeća formirale svoje definicije što unosi dodatnu konfuziju za klinički rad, počevši od dijagnostičkih kriterija do izračuna opasnosti koju svaki pojedinačno nosi. Primjerice, prema WHO definiciji pojedinačno postojanje sastavnica ne nosi značajan rizik, ali se on povećava značajno tijekom njihove grupacije, s tim da se poseban naglasak stavlja na inzulinsku rezistenciju (17). S druge strane, prema NCEP-ATP III (13) svaka sastavnica ima jednaku težinu, a prisutnost centralnog adipoziteta,

odnosno povećanog opsega struka je „*conditio sine qua non*“ u definiciji metaboličkog sindroma prema *International Diabetes Federation (IDF)* (18). Kao glavna prednost navodi se jednostavnost i neinvazivnost mjerenja. Iako je opseg struka kao mjera centralnog adipoziteta izravni pokazatelj metabolički nepovoljnih odjeljaka masnog tkiva, njegov nedostatak dolazi do izražaja kod pojedinaca kod kojih je on uredan, a imaju više faktora koji sugeriraju povišen metabolički rizik. Iz navedenog proizlazi koliko je teško kvantificirati udio pojedinog faktora zasebno na razvoj kardiovaskularnih neželjenih ishoda, a pogotovo dati jednažbu koja bi bila primjenjiva u kliničkoj praksi. Iako su brojna provedena istraživanja pokušala dati odgovor na to pitanje, rezultati nisu jednoznačni (19). Primjerice, u istraživanju Forda i suradnika (20), omjer ugroženosti od kardiovaskularnog mortaliteta, prema WHO definiciji metaboličkog sindroma, bio je 1,93 naspram 1,65 kada se uzela definicija NCEP. Definicija WHO uvjetuje postojanje ŠBT2, intolerancije glukoze ili inzulinske rezistencije za postojanje metaboličkog sindroma jer se ovaj pojam ponajviše koristi kao detektor čimbenika rizika za razvoj ŠBT2 i posljedičnih komplikacija (18). U prilog ovoj tezi govori i spomenuto istraživanje Forda i suradnika. Ipak, mora se napomenuti da i pojedinci bez poremećenog metabolizma glukoze, s akumulacijom ostalih čimbenika imaju povećan rizik za kardiovaskularni mortalitet (21).

Već spomenuta opažanja Vaguea o povezanosti distribucije masnog tkiva i metaboličkih abnormalnosti naišla su na skepticizam tadašnje znanstvene i medicinske zajednice (10, 22). Trebalo je gotovo 40 godina dok je njegova hipoteza u potpunosti potvrđena modernim kliničkim i epidemiološkim studijama. Razvojem modernih radioloških tehnika, poput magnetne rezonance i kompjutorizirane tomografije, omogućen je značajan napredak u analizi sastava ljudskog tijela i distribucije masnog tkiva. Sposobnost da se selektivno i precizno mjeri područje visceralnog i potkožnog abdominalnog masnog tkiva bio je značajan napredak koji je donio revoluciju u analizi sastava tijela. Veliki doprinos u ovom području dali su Matsuzawa i suradnici početkom 80-ih godina prošlog stoljeća razvivši metodu analize masnog tkiva diobom tijela na 11 cilindričnih segmenata. Iz analize abdominalnog masnog tkiva primijetili su značajnu varijaciju raspodjele masnog tkiva između potkožnih i intraabdominalnih odjeljaka (23, 24). Brojna istraživanja koja su uslijedila potvrdila su da je distribucija bitnija od količine, što je dovelo do shvaćanja da je ITM parametar prihvatljiv za opis debljine populacije, ali robustan i nedovoljan na individualnoj razini, posebice kada je potrebno diskriminirati pretile pojedince od onih s povišenim metaboličkim rizikom (25, 26, 27). Obzirom da su radiološke tehnike za distinkciju abdominalnog masnog tkiva skupe, opseg struka kao marker koji dobro korelira s ITM, ali bolje opisuje abdominalno masno tkivo

se pokazao adekvatnim za klinički rad. Koncept da masno tkivo samo po sebi ne nosi nužno metabolički rizik već njegov obrazac raspodjele usmjerio je istraživačke napore na identifikaciju i razumijevanje metaboličkih razlika odjeljaka.

## **1.2. Građa, raspodjela i razlike masnog tkiva**

Do sredine prošlog stoljeća masno tkivo se kategoriziralo kao vrsta vezivnog tkiva kojem je osnovna funkcija pohrana viška energije. Otkrićem adipocitokina krajem 80-ih i početkom 90-ih godina prošlog stoljeća, ali poslije i brojnih drugih molekula kao što su proinflamatorni citokini, kemokini i hormoni, masno tkivo se pozicionira kao endokrini organ s autokrinom, parakrinom, endokrinom, regenerativnom, termogenetskom te mehaničkom ulogom (28). Anatomski gledano bijelo masno tkivo se pojednostavljeno može podijeliti na potkožno i unutarnje, iako ta podjela ima nedostataka, posebice uz određene nedosljednosti u literaturi. Potkožno masno tkivo je zapravo evolucijski mlađe i vjerojatno mu je uloga prvenstveno skladište viška energije. Unatoč ovoj ulozi kapacitet pojedinaca, a i ovog odjeljka je konačan. Rasprostranjeno je u području hipodermisa, na njega otpada u pravilu oko 80% ukupnog masnog tkiva cijelog tijela, a najveće količine se nalaze u abdominalnoj, subskapularnoj i gluteofemoralnoj regiji (29, 30).

Unutarnje masno tkivo uključuje intratorakalno i intraabdomino-zdjelično masno tkivo (31). Odjeljak koji odgovara široko korištenoj oznaci "visceralno masno tkivo" podrazumjeva intra abdomino-zdjelično masno tkivo i može se podijeliti na tri glavna skladišta: omentalnu mast koja okružuje crijeva, mezenterijsku mast koja je duboko ukopana oko crijeva i retroperitonealnu mast blizu bubrega, na leđnoj strani trbušne šupljine. Ostalo unutarnje masno tkivo nalazimo u medijastinumu (intratorakalno ili parakardijalno masno tkivo) i oko pojedinih određenih organa, kao što su srce (epikardijalno masno tkivo), želudac (epigastrično masno tkivo) i krvne žile (perivaskularno masno tkivo) (32).

U patološkim stanjima lipidi se također mogu akumulirati unutar ne-masnog tkiva i stvarati ektopične odjeljke, naročito u jetri, skeletnim mišićima, srcu, gušterači i oko zidova krvnih žila. Ovi odjeljci mogu ometati funkciju organa oko kojih se nalaze mehaničkom kompresijom, ali i lučenjem biološki aktivnih tvari (33).

Masno tkivo građeno je od zrelih adipocita koji čine otprilike trećinu stanične populacije masnog tkiva. Tu su i preadipociti, živčane okončine, fibroblasti, makrofazi, limfociti, ali i pluripotentne stanice sa sposobnošću diferencijacije u brojne heterogene stanične linije,



uključujući i one mezodermalnog podrijetla (34). Udio preadipocita iznosi 15-50% u ukupnom broju stanica u masnom tkivu i vjerojatno predstavljaju najveću populaciju multipotentnih staničnih progenitora što uvelike olakšava regeneraciju u slučaju ozljeda, ali i pozitivne energetske ravnoteže (35). Zreli adipociti pojavljuju se u dva osnovna morfološki i funkcionalno različita stanična tipa: bijeli i smeđi adipociti. Osnovna mikroskopska razlika između ta dva stanična tipa očituje se u činjenici da bijeli adipociti sadrže lipide organizirane u jednu veliku unilokularnu kapljicu veličine i do 50  $\mu\text{m}$  koja zauzima većinu intracelularnog prostora tako poprimajući gotovo savršeni sferični oblik. Promjer bijelih adipocita iznosi između 30 i 70  $\mu\text{m}$ , ovisno o lokalizaciji, premda i na istim lokacijama, ovisno o stanju uhranjenosti, veličina je podložna dramatičnim varijacijama, što ovu stanicu čini jedinstvenom (36).

Masno tkivo, osim u dva programirana razdoblja intenzivnog rasta, od kojih se prvo odvija između prvog trimestra intrauterinog razvoja i 18. mjeseca života, a drugo tijekom puberteta, je jedinstveno zbog svoje sposobnosti enormnog povećanja volumena tijekom cijelog života (37). Masno tkivo u mršavih odraslih ljudi iznosi 9% do 18% tjelesne mase u muškaraca i 14% do 28% u žena. Ono se može povećati i do 4 puta u pretilih osoba i dosegnuti 60% do 70% ukupne tjelesne mase (38).

Regionalna distribucija masnog tkiva kod ljudi je izrazito varijabilna i ovisi o niz faktora kao što su uhranjenost, dob, spol, hormonalni status, tjelesna aktivnost i genetska predispozicija. Dok muškarci uglavnom pohranjuju mast u visceralnim i potkožnim regijama gornjeg dijela tijela, žene pohranjuju više masti u potkožnim područjima, posebno u glutealnim i femoralnim skladištima (39), te tako visceralno masno tkivo čini oko 20% ukupne tjelesne masti kod muškaraca i samo oko 6% u žena u premenopauzi, a ove razlike u distribuciji se smanjuju sa starenjem (40).

Kod oba spola predadipociti iz visceralnih skladišta, u usporedbi s potkožnim preadipocitima, pokazuju slabiji odgovor na indukciju diferencijacije putem puta aktiviranog receptora proliferatora peroksisoma (PPAR) (41). Kod žena veći izražaj glukokortikoidnih receptora u potkožnim preadipocitima dodatno doprinosi višem stupnju diferencijacije nego kod visceralnih. Ova rodna razlika može djelomično pridonijeti sklonosti žena da mast akumuliraju više u potkožnu regiju. Tijekom razdoblja pozitivne energetske ravnoteže odjeljci masnog tkiva rastu kroz hiperplaziju i/ili hipertrofiju (42). U nekim odjeljcima novi adipociti se mnogo brže generiraju u odnosu na ostale te tako primjerice potkožno tkivo glutealne

regije raste na račun hiperplazije dok u potkožnoj regiji abdomena rast se odvija gotovo isključivo zahvaljujući hipertrofiji (43). Ti tzv. „mršavi“ adipociti nastali hiperplazijom ne proizvode štetne metaboličke signale. Kada se pod utjecajem pozitivne energetske ravnoteže mali adipociti "prepune", postaju hipertrofični i prebacuju se na drugi, proinflamatorni program (44). Regionalne razlike u replikaciji, diferencijaciji i genskom izražaju vjerojatno su uzrok ovakvim razlikama u tkivu. Važno je napomenuti da studije genoma sugeriraju da je raspodjela masti u tijelu, mjereno omjerom struka i bokova, povezana s varijacijama gena koji sudjeluju u formiranju obrazaca tijekom embrionalnog razvoja, angiogenezi, preadipocitnoj signalizaciji i razvoju adipocita, što sve upućuje na hereditarne razlike u karakteristikama adipocita (45, 46). Ostale varijacije gena povezane s omjerom struka i bokova uključuju razlike u inzulinskoj signalizaciji, aktivnost lipaze, lipidinu biosintezu i intracelularni kalcijску signalizaciju. Ti odnosi su neovisni o ITM, a razlikuju se između žena i muškaraca (47).

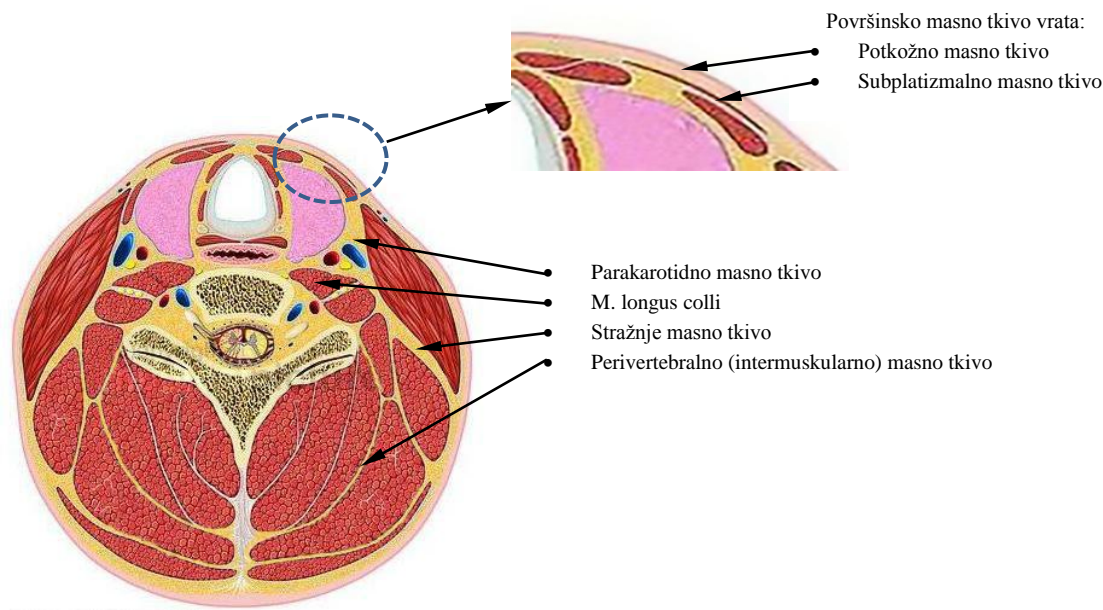
Razlike u dinamičkim obilježjima preadipocita su autonomne. Stanične linije dobivene od preadipocita iz različitih odjeljaka, kultivirane u istim uvjetima, zadržavaju različitu sposobnost za replikaciju, apoptozu i genski izražaj, i nakon brojnih generacija, usprkos činjenici da potječu od istog pojedinca (48, 49). Kod ljudi preadipociti iz potkožnog masnog tkiva imaju najveću sposobnost replikacije, nešto manju oni iz mezenterija, a najmanju omentalni preadipociti. U skladu s time, telomere su kraće kod potkožnih preadipocita nego kod omentalnih. Regionalne razlike u replikativnom potencijalu pojedinih preadipocita su nasljedne kroz niz staničnih generacija i ne ovise o prisutnosti drugih staničnih tipova, ali postoje i individualne razlike među pojedinim staničnim klonovima. Izražaj PPAR $\gamma$  i C/EBP $\alpha$  je veći u abdominalnim potkožnim, nego u omentalnim preadipocitima. Unutar kolonija izražaj C/EBP $\alpha$  je povišen u onima koji imaju lipidne inkluzije, neovisno o podrijetlu preadipocita, što navodi na zaljučak da regionalne varijacije u adipogenezi ovise kako o izražaju transkripcijskih faktora tako i o okolišnim mehanizmima (50).

### **1.3. Masno tkivo vrata**

Spoznaja da visceralno masno tkivo ne objašnjava u potpunosti korelacije između čimbenika metaboličkog rizika dovela je do pretpostavke da drugi mehanizmi ili drugi odjeljci masnog tkiva također mogu doprinijeti njihovu razvoju. Novija istraživanja pokazuju da potkožno masno tkivo gornjeg dijela tijela, koje se može procijeniti dijelom i putem opsega vrata, može

ovaj rizik dodatno, a možda i bolje kvantificirati od visceralnog masnog tkiva, opisanog u kliničkoj praksi opsegom struka (51).

Masno tkivo vrata se može podijeliti na površinsko i duboko masno tkivo. Površinsko masno tkivo obuhvaća potkožni i subplatizmalni odjeljak. Duboko masno tkivo obuhvaća ono uz karotidnu arteriju i venu iz karotidne ovojnice, masno tkivo uz mišić longus colli, stražnje cervikalno masno tkivo u regiji između sternokleidomastoidnog, skalenskih i trapezoidnog mišića i perivertebralno masno tkivo disperzirano oko i između paravertebralne cervikalne muskulature (52, 53). U literaturi postoje različite podjele pa se tako u nekim radovima dio vratne masti, koji se nalazi između štitnjače, mišića *sternocleidomastoidea* i *longus colli*, naziva prednjim dijelom dubokog masnog tkiva. Ova regija je dostupna tijekom rutinske operacije štitnjače, karotida ili prednjeg dijela vratne kralježnice kada se izravno uzorkovanje masti može obaviti. U prednju regiju se ubraja i parakarotidno, masno tkivo oko mišića longus colli i prevertebralno masno tkivo. Stražnje duboko masno tkivo obuhvaća ono između mišića trapezijusa i perivertebralnih mišića te tkivo oko tijela kralježaka i između perivertebralnih mišića (54, 55).



Slika 1. Transverzalni prikaz vrata i anatomske lokacije različitih odjeljaka masnog tkiva vrata

(preuzeto i modificirano s <https://pictures.doccheck.com>) (56)

U istraživanjima nisu nađene značajne razlike u količini masnog tkiva kod mršavih osoba bez obzira na spol, dok je kod pretilih žena nađena značajno veća količina potkožnog masnog tkiva nego kod muškaraca, čak i nakon uparivanja prema ITM i dobi. S druge strane, kod muškaraca je nađena veća količina intermuskularnog masnog tkiva (53).

Nekoliko studija dokazalo je vezu između opsega vrata i kardiometaboličkih čimbenika rizika. U presječnom istraživanju na 43.595 žena pokazalo se da one koje su imale opseg vrata u gornjoj tercili imaju dvostruko veći rizik od ŠBT2 u odnosu na one u donjoj tercili, čak i nakon prilagodbe za druge mjere adipoziteta (57). U drugoj poprečnoj studiji na 541 osobi, opseg vrata u najvišem kvintilu bio je povezan s gotovo peterostrukim povećanjem rizika za poremećaj razine glukoze natašte kod žena dok nije nađena statistički značajna korelacija za muškarce (58). U spomenutom istraživanju opseg vrata bio je povezan s približno trostrukim povećanjem omjera izgleda za hipertenziju, čak i nakon prilagodbe za ITM kod muškaraca i žena.

I kod sudionika Framingham heart study proučavana je povezanost između opsega vrata i kardiometaboličkih čimbenika rizika. Dobiveni rezultati pokazali su da je opseg vrata povezan s kardiometaboličkim čimbenicima rizika, a ta povezanost je bila značajnija kod žena u usporedbi s muškarcima. Također, opseg vrata, visceralno masno tkivo i ITM neovisno pridonose metaboličkom riziku, a uočena je i povezanost između opsega vrata i visceralnog masnog tkiva za nekoliko drugih čimbenika rizika, gdje su pojedinci koji su imali veći opseg vrata i visoke razine visceralne masti imali najnepovoljniju razinu faktora rizika. U ovoj studiji je potvrđeno da je opseg vrata diskretan i neovisan parametar patogenog nakupljanja masnog tkiva, ali sinergistički i neovisan o visceralnom masnom tkivu (59). Ono što je zanimljivo je činjenica da je značajnija povezanost opsega vrata s čimbenicima metaboličkog rizika kod žena u usporedbi s muškarcima. Nisu sasvim poznati mehanizmi kojima se ostvaruje ova razlika po spolu. Jedan od predloženih je veći udio slobodnih masnih kiselina kod žena (60). Entitet koji se povezuje s povećanim opsegom vrata je i apneja u snu, no još nije jasno je li ona uzročni faktor u razvoju metaboličkih čimbenika rizika ili je samo poveznica zbog svoje povezanosti s pretilošću (61).

Upotrebom slikovnih tehnika učinjen je iskorak u istraživanju masnog tkiva vrata i povezanosti njegovih odjeljaka s čimbenicima metaboličkog rizika. U istraživanju Torrianija i suradnika, stražnje i potkožno masno tkivo su bili dosljednije povezani s istraživanim čimbenicima rizika, posebno kod žena, a pokazali su korelaciju i s visceralnim masnim tkivom i trigliceridima te gotovo 1,5 puta većim omjerom prevalencije za metabolički sindrom nakon podešavanja prema dobi i ITM. U oba spola, stražnji i perivertebralni odjeljak pokazali su najveći prirast između mršavih i pretilih osoba (53).

Akumulacija masnog tkiva u vratu danas se smatra markerom metaboličkih bolesti neovisnim o ITM ili OS. Za razliku od abdominalnog masnog tkiva čiji su odjeljci relativno dobro anatomski i metabolički definirani, spoznaje o masnom tkivu vrata su nešto skromnije. Iako su veze masnog tkiva vrata i metaboličkog rizika registrirane relativno nedavno, valja naglasiti da je ova regija već dulje vrijeme intrigantna zbog neobičnih otklona u količini masnog tkiva koji su divergentni ali dobro definiranog metaboličkog učinka (55). Primjerice, Cushingov sindrom karakterizira akumulacija masnog tkiva na vratu, tzv. "buffalo hump". Lipodistrofija kod bolesnika na antiretrovirusnoj terapiji očituje se gubitkom masnog tkiva na licu i ekstremitetima te njegovom ekspanzijom na vratu i abdomenu (62). Svi ti poremećaji su jasno povezani s otpornošću na inzulin i rezultirajućim metaboličkim abnormalnostima (51).

Nasuprot tome, multipla simetrična lipomatoza tip I, s ekspanzijom masnog tkiva vrata, gornjeg dijela trupa i proksimalnih djelova udova nema metaboličkih posljedica (63).

Anatomske, masno tkivo gornjeg dijela tijela je jedinstveno skladište koji se nalazi u odvojenom odjeljku u usporedbi s visceralnim masnim tkivom. SMK mjerene sustavno najvećim dijelom potječu iz potkožnog masnog tkiva gornjeg dijela tijela, što upućuje na to da ovaj odjeljak masti može imati važnu ulogu u patogenezi faktora rizika (64). Ono što ga čini privlačnim za kliničku upotrebu je činjenica da je lako mjerljivo i može biti važan prediktor metaboličkog rizika. Ovo skladište masti može dovesti i do boljeg razumijevanja učinaka adipoziteta kod muškaraca i žena, a buduće prvenstveno logitudinalne studije potrebne su za razumijevanje odnosa s ostalim metaboličkim čimbenicima rizika.

## **1.4. Metabolička uloga odjeljaka masnog tkiva**

Masno tkivo je središnji metabolički organ u regulaciji homeostaze energije cijelog tijela (65). Ono izlučuje brojne hormone i citokine koji kontroliraju energetske ravnoteže usklađujući signale iz središnjeg živčanog sustava i metaboličku aktivnost u perifernim tkivima. Tijekom njegove akumulacije dolazi do kvantitativnih i kvalitativnih promjena što može dovesti do promjene spektra lučenja adipokina, promjena u stromalnoj frakciji, povećanog naseljavanja imunoloških stanica i nekontroliranih upalnih reakcija. Sve ovo dovodi do sustavne upale niskog stupnja i niza metaboličkih poremećaja (66, 67).

### **1.4.1. Osjetljivost na inzulin**

Prekomjerna akumulacija masnog tkiva povezana je s inzulinskom rezistencijom u perifernim ciljnim tkivima (68). Glavna odrednica metaboličkog zdravlja je sposobnost potkožnog masnog tkiva da pohrani višak masnoća i tako spriječi njihovo nakupljanje u ektopičnim skladištima, uključujući jetru, mišiće, perikard te u visceralnim skladištima koji potiču metaboličke komplikacije pretilosti (69, 70). Sposobnost regrutacije i diferencijacije prekursorskih stanica u adipocite je pod genetskom regulacijom, a značajnu ulogu imaju WNT i BMP4 signalni putevi (71). Disregulacija ovih putova povezana je s oštećenom adipogenezom što u konačnici dovodi do hipertrofičnih, disfunkcionalnih i na inzulin otpornih adipocita sa smanjenim sadržajem GLUT4, glavnog inzulinom reguliranog transportera glukoze. Ovo dovodi do smanjene utilizacije glukoze u masnom tkivu i *de novo* lipogeneze.

Jedna od hipoteza je da višak lipida u adipocitima i ektopična akumulacija u jetri i mišićima može dovesti do inzulinske rezistencije stvaranjem metaboličkih toksičnih produkata. Zasićene masne kiseline povećavaju proizvodnju ceramida, što čini se da pridonosi otpornosti na inzulin (72). Lipidi kao što su triacilglicerol pretvaraju se u diacilglicerol uz pomoć lipaza masnog tkiva, a nakon toga se hidroliziraju pomoću hormon osjetljive lipaze. Izražaj spomenutih lipaza u skeletnom mišiću povećava akumulaciju unutarstaničnih diacilglicerola koji negativno utječu na inzulinsku signalizaciju (73). Sadržaj jetrenog diacilglicerola također pokazuje snažnu korelaciju sa sustavnom inzulinskom rezistencijom. Ovi lipidi mogu aktivirati signalne putove koji negativno utječu na transdukciju inzulinskog signala, a i proizvodi nepotpune oksidacije masnih kiselina također mogu utjecati na jedan ili više koraka u signalnoj kaskadi inzulina ili u putovima kojima se regulira (74). Upala je također identificirana kao jedan od posrednika sustavne inzulinske rezistencije. U prisutnosti povećanog unosa kalorija, adipociti u potkožnom masnom tkivu sa smanjenim adipogenim potencijalom hipertrofiraju, nakon čega dolazi do lokalne hipoksije i infiltracije makrofaga (75). Istraživanja su pokazala da preadipociti kod bolesnika s ŠBT2 pokazuju smanjeni izražaj gena uključenih u diferencijaciju, što upućuje na smanjenu adipogenezu (76). Kada se kod bolesnika s ŠBT2 istraživao odnos između veličine masnih stanica i osjetljivosti na inzulin, pokazalo se da je promjer adipocita nezavisni marker otpornosti na inzulin (77). Povećanjem ITM dolazi do smanjenog angiogenog potencijala u potkožnom masnom tkivu trupa. Smanjenje angiogeneze potkožnog masnog tkiva korelira s inzulinskom rezistencijom i može pridonijeti metaboličkim komplikacijama (78).

Za razliku od potkožnog masnog tkiva gornjeg dijela tijela, ono na donjem dijelu ima zaštitni učinak i povezano je s povoljnijim lipidnim profilom i urednim metabolizmom glukoze (79). Iako danas u dostupnoj literaturi ne postoji jasan konsenzus oko mehanizma pa čak ni koje masno tkivo igra glavnu ulogu u inzulinskoj rezistenciji može se reći da višak unosa kalorija uglavnom dovodi do povećanja količine potkožnog masnog tkiva. Ova puferska funkcija potkožnog masnog tkiva ima ograničeni kapacitet nakon čijeg prevazilaženja dolazi do smanjenje adipogeneze, angiogeneze i upalne reakcije, poremećaja regulacije staničnog inzulinske signalizacije i regrutiranja dodatnih makrofaga (80). U ovom trenutku pozitivna energetska ravnoteža rezultira rasipanjem masnih kiselina i triglicerida u ektopijska tkiva (81, 82). Moguće je da se, ovisno o ekološkim i genetskim čimbenicima, ova „točka prelijevanja“ može postići na različitim razinama adipoziteta, čak i prije dosezanja stupnja pretilosti, ali se ne mora doseći ni kod morbidne pretilosti. Mnogi istraživači sugeriraju da je visceralno

masno tkivo glavni čimbenik u inzulinskoj rezistenciji. Jedna od teza je da je ovaj odjeljak sam inherentno dijabetogen zbog spektra adipokina koje luči (83). Druga mogućnost je da je nakupljanje visceralnog masnog tkiva surogatni pokazatelj akumulacije ektopičnih lipida i lipotoksičnosti u jetri i mišićima. Moguće je i da nakupljanje lipida u visceralnom masnom tkivu dovodi do akumulacije makrofaga koji oslobađaju upalne citokine, što može narušiti osjetljivost na inzulin (84).

Iako ne postoje istraživanja na staničnoj razini, nekoliko studija istraživalo je opseg vrata i njegovu vezu s ŠBT2 i drugim metaboličkim odstupanjima iz čega je proizašlo nekoliko predloženih mehanizama kojima bi se mogla objasniti njihova povezanost. Veći opseg vrata može promijeniti periferni protok krvi i dovesti do endotelne disfunkcije (85) što može smanjiti isporuku inzulina i potaknuti inzulinsku rezistenciju (86). U studiji KoGES opseg vrata je pozitivno korelirao s razinama triglicerida i negativno s razinama HDL-kolesterola, od kojih oba mogu poslužiti kao robusni markeri za smanjenje osjetljivosti na inzulin (87). Veći opseg vrata s pojačanom simpatičkom aktivnošću također može doprinijeti otpornosti na inzulin, što može dovesti do razvoja ŠBT2 (88). Kod povećanog opsega vrata može doći do kompresije larinksa. Ponovljena hipoksija i reoksigenacija kao posljedica opstrukcije dišnih puteva koja se vidi kod povećanja opsega vrata mogu povećati proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva koji također imaju važnu ulogu u razvoju metaboličkih komplikacija (89).

#### **1.4.2. Slobodne masne kiseline i lipoliza**

Masno tkivo je izuzetno fleksibilno u smislu skladištenja i oslobađanja energije. Odgovarajući na hormonske i energetske signale služi kao izvor masnih kiselina bogatih energijom tijekom negativne energetske ravnoteže, smanjujući njegovu pohranu i oslobađajući ih ciljnim tkivima koja trebaju energiju. Nasuprot tome, adipocitni unos lipida, esterifikacija i skladištenje u obliku triglicerida unutar kapljica lipida omogućuju širenje masnog tkiva, što je koristan, prilagodljiv odgovor na prekomjernu prehranu koji može spriječiti ektopijsko taloženje lipida i lipotoksičnost u drugim tkivima (90).

Nakon obroka masno tkivo akumulira hranjive tvari u obliku masnih kiselina koje su pohranjene kao triacilglicerol. Ova molekula se sastoji od 3 molekule masnih kiselina koje su esterificirane na molekulu glicerola i služi kao izvor energije tijekom razdoblja restriktivnog unosa kalorija. Tijekom gladovanja trigliceridi se razgrađuju na glicerol i slobodne masne kiseline koje služe kao gorivo za metabolički aktivna tkiva putem oksidacije i oslobađanja



ATP-a. Sustavno hranjenje stimulira lipogeni put i skladištenje TG-a u masnom tkivu, dok gladovanje potiče aktivaciju lipolitskog puta i potiče raspad TG-a i oslobađanje masnih kiselina iz masnog tkiva. Lipogeneza je proces koji obuhvaća *de novo* sintezu masnih kiselina iz acetil-koenzima A (acetyl-CoA) i TG biosintezu (91). Glukoza daje svoj metaboliti acetyl-CoA kao supstrat za *de novo* sintezu masnih kiselina, potiče izražaj acetyl-CoA karboksilaze, enzima koji ograničava brzinu lipogeneze i stimulira oslobađanje inzulina iz gušterače koji promiče lipogenezu. Kao rezultat, inzulin stimulira unos glukoze u adipocitima, aktivira glikolitičke i lipogene enzime i stimulira izražaj lipogenog genskog sterola koji veže regulatorni element 1 (SREBP1) koji kontrolira izražaj gena potrebnih za sintezu kolesterola, masnih kiselina, TG-a i fosfolipida (91, 92).

Masno tkivo može direktno preuzimati lipoproteine vrlo niske gustoće (VLDL-TG) i slobodne masne kiseline (SMK). Izravna pohrana sistemskih SMK u masno tkivo u postabsorptivnom stanju je različita između muškaraca i žena, a i među pojedinim odjeljcima. Žene mogu pohraniti znatno veći dio sustavnih SMK u gluteofemoralnoj regiji od muškaraca (93). Prekonoćno otpuštanje SMK po kilogramu masti je veće u potkožnom tkivu gornjeg dijela tijela, a u koje spada i masno tkivo vrata, u odnosu na potkožni dio donjeg dijela tijela, kako u muškaraca tako i u žena (94). Dugo se smatralo da u otpuštanju SMK značajan udio ima visceralno masno tkivo (95), no novija klinička ispitivanja kinetike SMK ne podupiru tu hipotezu. Čini se da se postapsorptivna razina SMK ne razlikuju između pretilih žena s visceralnom površinom masnog tkiva  $\geq 65 \text{ cm}^2$  i onih s površinom od  $< 65 \text{ cm}^2$ , mjereno CT-om na razini L4-L5. Uz to, kod pretilih muškaraca s visceralnom površinom masti  $\geq 130 \text{ cm}^2$  nađena je normalna razina SMK u plazmi, a povećana postapsorptivna koncentracija SMK kod tih pojedinaca čini se da je povezana sa smanjenom razgradnjom triacilglicerola (29). Iako visceralni / portalni protok SMK raste s povećanjem količine visceralne masti, njegov stvarni doprinos u sustavnoj cirkulaciji je obično manji od 5%. Relativni doprinos visceralne lipolize u ukupnoj količini SMK koje se isporučuju u jetru značajno varira među ispitanicima, što pokazuje da je u praksi teško procijeniti portalni protok SMK analizirajući sastav tijela i distribuciju tjelesne masti (60). Visceralno masno tkivo je otpornije na antilipolitički učinak inzulina od potkožnog, a čini se da je prelijevanje masnih kiselina poseban problem u splahnhičkoj cirkulaciji. U svakom slučaju, jetra je vjerojatno izložena višim koncentracijama SMK od periferije za vrijeme hiperinzulinemije, a ove porto-sustavne razlike mogu biti još izraženije kod pretilosti gornjeg dijela tijela i visceralne pretilosti (97). S metaboličkog stajališta povećan tok SMK u jetri dovodi do smanjenja izlučivanja inzulina, inhibicije

vezanja inzulina i njegove degradacije (98). Osim toga, SMK ubrzavaju glukoneogenezu, osiguravajući kontinuirano izvor energije (ATP) i supstrata (99). Osim djelovanja na jetru, povećanje toka SMK dovodi i do smanjenja perifernog djelovanja inzulina. U pretilih osoba koje su genetski predisponirane za razvoj ŠBT2, SMK mogu inhibirati izlučivanje inzulina, dovesti do periferne rezistencije na inzulin, što rezultira jetrenom hiperprodukcijom glukoze i perifernom neadekvatnom utilizacijom iste (100).

Potkožno masno tkivo gornjeg dijela tijela izvor je više od polovice sustavnih SMK pod bazalnim uvjetima (101). Lipoliza u gluteofemoralnoj regiji pridonosi oko 15% - 20% od bazalnog sistemnog otpuštanja SMK u mršavim odraslim osoba, a oko 28% u pretilih odraslim osoba (101). Upravo zbog činjenice da je gluteofemoralno masno tkivo toliko osjetljivo na inzulin, ali i kalorijsku restrikciju, ono i ne pridonosi značajno postprandijalnoj koncentraciji SMK kod pretilih što govori u prilog već spomenutoj činjenici da je njihova povišena postprandijalna koncentracija rezultat otpuštanja iz potkožnog tkiva gornjeg dijela tijela. Može se zaključiti da su adipociti na gornjem dijelu tijela rezistentniji na antilipolitičko inzulinsko djelovanje nego oni u gluteofemoralnoj regiji (80). Postojeća literatura ne daje točno objašnjenje ove činjenice, ali pretpostavlja se da je povezana i s povećanim abdominalnim i visceralnim adipocitima koji su čini se rezistentni na inzulin i imaju veći stupanj lipolize u odnosu na male adipocite, čak i kada potječu iz istog odjeljka (102). Iako za sada nema istraživačke studije koja bi dala podatak o količini slobodnih masnih kiselina iz potkožnog masnog tkiva vrata ili ga usporedila s abdominalnim potkožnim masnim tkivom, rezultati studije, koja je uz pomoć CT-a mjerila volumen masnog tkiva, upućuju da ova regija može biti značajna (54).

### **1.4.3. Termogenetski učinak masnog tkiva**

Bijelo masno tkivo se pozicioniralo kao ključna odrednica metaboličkog zdravlja, odnosno disfunkcije. Znanstvena potvrda da odrasli ljudi imaju smeđe masno tkivo transformiralo je još jednom razumijevanje kako masno tkivo regulira metabolizam i potrošnju energije (103). Jedan od važnijih koncepta u području metaboličkih bolesti je zakon energetske ravnoteže (104). To znači da uz rijetku iznimku malapsorpcije hranjivih tvari, ne može se dobiti ili izgubiti masu osim ako postoji neravnoteža između unosa i potrošnje energije. U tom kontekstu smeđe masno tkivo posebno je privlačna meta obzirom na svoju sposobnost transformacije kemijske energije u toplinu. Osim klasičnog smeđeg masnog tkiva, posljednjih

nekoliko godina došlo je i do značajnog napretka u razumijevanju inducibilne termogeneze i takozvanog bež masnog tkiva (105, 106).

#### **1.4.3.1. Smeđe masno tkivo**

Smeđe masno tkivo prvi puta je opisano 1551. godine kao "*nec pinguitudo nec caro*" (niti mast niti meso) od strane švicarskog istraživača Conrada Gessnera a tijekom povijesti su mu pripisivane raznolike funkcije (107). Tek mu je 1961. godine pripisana termogenetska uloga (108). Smeđe masno tkivo je posebna vrsta masnog tkiva koje nalazimo u svih sisavaca, a jedini za sad poznati izuzetak su svinje (109). Karakteristika ovih stanica je obilje mitohondrija koji sadrže takozvani nevezani protein-1 (UCP1) koji, kada je aktiviran, stvara elektrokemijski gradijent te dovodi do sinteze ATP-a i time stimulira aktivnost dišnog lanca. Toplina se generira iz izgaranja i distribuira u ostatak tijela kroz cirkulaciju (110). Supstrat za proizvodnju energije su dominantno masne kiseline i to uglavnom iz intracelularnih zaliha (111). Kod ljudi najveća količina smeđih adipocita se nalazi u interskapularnoj regiji dojenčadi (112). Dok skladišta smeđih adipocita kod glodavaca perzistiraju tijekom cijelog života, kod ljudi gotovo postupno iščezavaju sa starenjem, no i u odraslih osoba identificirano je u cervikalnim, supraklavikularnim, aksilarnim, perirenalnim i paravertebralnim područjima (113). Smeđe masno tkivo oko vrata odraslih ljudi i primata vjerojatno se održalo kako bi zaštitilo mozak zagrijavanjem krvi koja ga opskrbljuje (114). Danas se smatra da ono nastaje prije drugih odjeljaka i sadrži jedinstvenu populaciju adipocita. I prekursori smeđih adipocita potječu iz mezoderma kao i bijelo masno tkivo, ali i skeletni mišići (115). Otkriven je niz regulatora razvoja smeđeg masnog tkiva kao što su to PPAR $\alpha$ , koštani morfogenetski protein 7 (BMP7) i oreksin (116), ali je otkriveno i da je u diferencijaciji smeđih adipocita bitan i transkripcijski faktor PRDM. Kod ljudi se dugo vremena pretpostavljalo da je zapravo premala količina smeđeg masnog tkiva u tijelu da bi imala značajnu ulogu. Ipak, studije su pokazale da nije zanemariva ni aktivnost, ni količina smeđih adipocita (117, 118). Potvrđeno je da je smeđe masno tkivo, osim što je češće prisutno kod mlađih nego kod starijih pojedinaca, kod žena ima veću metaboličku aktivnost nego kod muškaraca, inverzno korelira s ITM, a funkcija mu slabi kod prisutnosti ŠBT2 (119).

Iako se hladoća smatra dominantnim regulatorom smeđeg masnog tkiva, ulogu ima i simpatički živčani sustav (120, 121). Noradrenalin agonistički djeluje na adrenergičke receptore na adipocitima što izaziva kaskadni prijenos signala koji vodi do adaptivnih povećanja izražaja gena za termogenezu (122). Valja spomenuti da hladnoća dovodi ne samo

do promjena u adipocitima, nego i ostalim stanicama u masnom tkivu, kako bi se postigla koordinacija i optimizacija toplinske proizvodnje. Hladnoća stimulira proizvodnju katekolamina u makrofazima, dolazi do razgranavanja simpatičkog živčanog sustava tijekom „posmeđenja“ (123), te do razvoja krvnih žila da bi se olakšala izmjena kisika i topline (124). Ovaj angiogeni učinak regulira se VEGF mehanizmom u koji nije uključena hipoksija (125).

Inzulin je važan za metabolizam smeđeg masnog tkiva (126), a njegova aktivacija potiče mobilizaciju perifernih lipida i oksidacijsko odlaganje, vjerojatno kao odgovor na povećane potrebe za SMK za termogenezu. SMK koje su jedini supstrat za aktivnost smeđeg masnog tkiva, proizlaze uglavnom iz intracelularne lipolize, ali je moguće da smeđe masno tkivo koristi cirkulirajuće SMK kada su unutarstanični izvori goriva iscrpljeni, što se događa nakon dugotrajnijeg izlaganja hladnoći (127). Spomenute činjenice upućuju da smeđe masno tkivo unatoč svojoj maloj veličini, može igrati ulogu u metabolizmu lipida, barem posredno.

#### **1.4.3.2. Bež adipociti**

Mogućnost transformacije, odnosno „posmeđenja“ prepoznata je 80-ih godina prošlog stoljeća kod bolesnika s feokromocitomom i to u perirenalnoj regiji u kojoj je kod zdravih ljudi bilo prisutno samo bijelo masno tkivo, a ova pojava je bila povezana s katekolaminskom stimulacijom (128). Bijeli adipociti imaju sposobnost prelaska iz statusa skladištenja u status potrošnje, odnosno pomaka od fenotipa bijelih prema fenotipu smeđih adipocita u slučaju specifičnih podražaja. Ova indukcija smeđeg adipocitnog fenotipa u literaturi se naziva posmeđenje i njime nastaju takozvani bež adipociti (129). Usprkos zajedničkim funkcionalnim karakteristikama ovo su različite stanice, nemaju jednako embrionalno podrijetlo i ekspimiraju različite gene (115, 130). Podrijetlo bež adipocita je još uvijek nejasno. Pretpostavljalo se da bež i smeđi adipociti potječu iz različitih staničnih linija i da bež adipociti čak mogu nastati iz bijelih adipocita (131). Rezultati novijih istraživanja upućuju da je ovaj scenarij rijedak, osobito u fiziološkim uvjetima i da većina bež adipocita nastaje iz prekursorskih stanica, a ne transdiferencijacijom (132). Još jedna bitna karakteristika ovih stanica je da je njihov termogeni profil reverzibilan. Nakon uklanjanja organizma iz hladnoće, bež adipociti koegzistiraju neko vrijeme u masnom tkivu, vjerojatno imaju funkcije slične bijelim adipocitima i bivaju uklonjeni tek putem uobičajenih mehanizama regulacije tkiva i staničnih populacija u njemu (133). Bež adipociti su pobudili biomedicinski interes zbog potencijalne uloge u borbi protiv metaboličkih bolesti jer su istraživanja na eksperimentalnim

životinjama pokazala da inducirana aktivnost ovih stanica sprječava razvitak pretlosti (134, 135).

Procjene mase i aktivnosti smeđeg masnog tkiva uz pomoć pozitronske emisijske tomografije s 18-fluor-2-deoksi-d-glukozom integrirane s kompjutorskom tomografijom sugeriraju da ga ljudi imaju u prosjeku 50 - 80 g. Taj podatak doveo je u pitanje činjenicu može li uopće endogena aktivnost smeđeg masnog tkiva biti relevantna za ljudski metabolizam i energetske ravnoteže (136). Ljudska vrsta je pomakla termogenetsku strategiju prema pasivnoj izolaciji potkožnim masnim tkivom. Ljudi su među najdebljim sisavcima, kako pri rođenju tako i tijekom života. Energetska ravnoteža regulirana je homeostatskim mehanizmima i, usprkos golemim fluktuacijama u unosu hrane i tjelesnoj aktivnosti, tjelesna masa pojedinaca je relativno stabilna kroz značajan vremenski period (104). To implicira da sve i kada bi se uspjela povećati energetska potrošnja kroz povećanje termogeneze, nema dokaza da tijelo ne bi napravilo kompenzaciju kroz intenziviranje osjećaja gladi ili energetske učinkovitosti u drugim tkivima, primjerice u mišićima (134).

#### **1.4.4. Upala u masnom tkivu**

Od prvotnog rezervoara viška energije, preko endokrinog organa danas se masno tkivo definira i kao imunološki organ sa značajnom ulogom u antimikrobnoj obrani, upali i zacijeljivanju rana. Ove spoznaje ipak nisu tako nove jer je već 1874. godine Ranvier (137) opisao imune agregate u masnom tkivu koje je nazvao „mliječnim točkama“. Naime, kirurzi stoljećima koriste zacijeljujuća svojstva omentuma tijekom operativnih zahvata: adherira i pridržava strana tijela kao što su drenovi, izolira i ograničava upalna žarišta, i djeluje kao prva linija obrane od peritonitisa (138). Unatoč otkriću mliječnih točaka i ljekovitih svojstava omentuma, složene interakcije između imunološke mreže masnog tkiva, adipocita i stromovaskularnog odjeljka tek se u posljednjih 20-ak godina detaljnije otkrivaju.

Hotamisligil i njegovi kolege su 1993. godine pokazali da masno tkivo u pretilih miševa izlučuje TNF $\alpha$ , proinflammatorni citokin koji tipično luče imunološke stanice i koji ima izravnu ulogu u pretilošću induciranoj otpornosti na inzulin (139). To je bila prva funkcionalna veza između pretilosti i upale, a tijekom godina je evoluirala u pojam metaboličke upale koja je široko prihvaćena kao važna mehanička povezanost između pretilosti i njenih komplikacija (140). Nakon TNF $\alpha$ , pokazalo se da masno tkivo proizvodi niz citokina i kemokina kao što su IL-6 i MCP-1, koji pozitivno ili negativno reguliraju metabolizam glukoze i lipida. Istodobno

su dvije studije pokazale da pretilost inducira infiltraciju masnog tkiva makrofazima u miševa i ljudi (141, 142), i na taj način dale objašnjenje za izvor citokina u masnom tkivu te ukazale na suprotstavljanje između imunih i metaboličkih stanica u masnom tkivu, odnosno „metaboličkom organu“ (142).

Prvih godina 21. stoljeća niz epidemioloških studija pokazao je da su cirkulirajući upalni markeri snažno povezani sa ŠBT2 i čimbenicima rizika za budući razvoj istoga (143, 144, 145). Ove kliničke, ali i opservacijske studije su imale uporište u pretkliničkim ispitivanjima koja su pokazala da pretilost aktivira upalu putem IKK $\beta$  / NF $\kappa$ B puta, te da inhibicija ovog puta genetskim brisanjem IKK $\beta$  i farmakološkim inhibitorima (visoke doze salicilata) smanjuje inzulinsku rezistenciju (146, 147). Istraživanja su pokazala da se u pretilosti povećava broj makrofaga masnoga tkiva i da upravo oni, a ne adipociti proizvode većinu citokina ključnih u patofiziologiji pretilosti (141, 142). Uslijedila je detekcija i ostalih imunoloških stanica uključenih u ovaj proces za koje se danas smatra da igraju značajnu ulogu u upali i inzulinskoj rezistenciji, baš kao i u klasičnoj upali.

Masno tkivo, posebice visceralno, je imunološki dinamično, s velikom koncentracijom rezidentnih leukocita. Ova populacija uključuje CD4 (148) i CD8 T-stanice (149), T regulatorne stanice, stanice prirodne ubojice (NK) (150), B-stanice, mastocite, eozinofile i makrofage (141). Ovdje treba napomenuti da bliske fizikalne i signalne interakcije između imunih i metaboličkih stanica također postoje u svim glavnim metaboličkim organima pretilih subjekata, primjerice jetri, mišićima i gušterači, što upućuje na to da je metabolička upala univerzalna značajka i patološka osnova za metaboličku disfunkciju izazvanu pretilošću (151). Makrofazi su najbrojniji leukociti u masnom tkivu i čini se da su u središtu upale koja se povezuje s pretilošću. Iako pokazuju sličnosti s adipocitima, danas se smatra da je njihovo podrijetlo iz koštane srži, a razvijaju se iz cirkulirajućih monocitnih progenitora (152). Kod normalno uhranjenih pojedinaca, makrofazi masnog tkiva su raspršeni i pokazuju alternativno aktivirani (M2) antiinflamatorni fenotip te izlučuju IL-10 potičući osjetljivost na inzulin u adipocitima. Smatra se da u stanju normalne uhranjenosti makrofazi u masnom tkivu čine oko 10% stanične populacije, a kod pretilih ljudi postotak raste i do 40%, no ovaj broj je dinamičan u oba smjera (153). Imaju značajnu ulogu u inhibiciji aktivacije imunološkog sustava, čemu u prilog govore i podaci da je kod eksperimentalnih životinja, kod kojih makrofazi nemaju posobnost iskazivanja M2 fenotipa, povišena proizvodnja proinflamatornih citokina kao što su TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  (154). M2 fenotip se održava uz pomoć brojnih stanica

uključujući i adipocite. S porastom mase masnog tkiva dolazi do promjena u adipokinskoj produkciji, a jednom od najvažnijih promjena se smatra pad sekrecije adiponektina, što rezultira padom utilizacije glukoze i reduciranom antiinflamatornom regulacijom (155). Masno tkivo proizvodi i druge adipokine koji utječu na broj imunoloških stanica od kojih su najpoznatiji kemoatraktivni protein monocita-1(MCP-1) i IL-6. MCP-1 je kemokin koji novači monocite, a njegova razina je povišena i kod bolesnika s ŠBT2 (156). Uloga IL-6 je složenija. Smatra se proinflamatornim medijatorom, a njegove razine su povišene u pretilih osoba i upravo se njegova uloga prema nekim istraživanjima smatra ključnom za akumulaciju makrofaga u masnom tkivu (157). Kao odgovor na pretilost, adipociti induciraju izražaj enzima koji pretvaraju arahidonsku kiselinu u proinflamatorne medijatore, uključujući leukotriene (158). Osim toga, u pretilosti dolazi do indukcije nekroze adipocita kao posljedice mikrohipoksije (159). Nekroza rezultira otpuštanjem različitih molekularnih kompleksa, kao što su dvolančana DNA, proteini toplinskog šoka, te različitih glikiranih produkata koji mogu privući imunološke stanice u masno tkivo, ali i potiču makrofage na proizvodnju proinflamatornih citokina (160), te dolazi do formacije krunastih struktura koje sačinjavaju adipociti okruženi prstenom formiranim od makrofaga (141).

Postoji nekoliko mehanizama kojima tkivna upala može dovesti do inzulinske rezistencije. Hipertrofija adipocita dovodi do povećane bazalne i katekolaminima inducirane lipolize koja dovodi do povećanog protoka SMK. One mogu izravno doprinijeti otpornosti na inzulin, ali i oštetiti funkciju  $\beta$ -stanica i izlučivanje inzulina (161). S druge strane, smanjen unos glukoze u adipocite tijekom upale može dovesti do povišene glukoze u serumu i njene toksičnosti (162). Korelacija između pretilosti, upale u masnom tkivu i metaboličkih bolesti na prvi pogled čini upalne putove atraktivnim ciljem za liječenje. Pokazalo se da je upala u masnom tkivu reverzibilan proces te kod pretilih nakon barijatrijskog liječenja dolazi do značajnog pada u razini cirkulirajućih proinflamatornih citokina (163). U tom kontekstu rezultati kliničkih ispitivanja antiinflamatornih lijekova su do sada bili razočaravajući. Najveći napredak je napravljen sa salicilatima koji dovode do smanjenja glikemije i razine HbA1c u krvi natašte no ovaj tretman nema utjecaja na osjetljivost na inzulin (164). Potkožno masno tkivo je u mnogim aspektima usporedivo s visceralnim masnim tkivom, uključujući sposobnost proizvodnje leptina i adiponektina, ali akumulira značajno manji broj makrofaga (165). Iako su neke upalne bolesti kao što su psorijaza, ulcerozni kolitis i sustavni vaskulitis povezani s povećanim rizikom za razvoj ŠBT2, druge, kao što je Crohnova bolest nisu (166) i jasno je da

kronična sustavna prisutnost proinflammatoryh medijatora ne može sama po sebi objasniti razvoj inzulinske rezistencije i drugih metaboličkih otklona.

#### **1.4.5. Endokrini učinak masnog tkiva**

Otkriće leptina dovelo je do spoznaje da masno tkivo ima aktivnu endokrinu, autokrinu i parakrinu ulogu kroz proizvodnju različitih čimbenika koji cirkuliraju i reguliraju sustavni metabolizam i upalu (167). Za održavanje normalnih tjelesnih funkcija svaki adipocit izlučuje različite citokine i bioaktivne tvari u okruženje. Iako svaki adipocit proizvodi malu količinu adipokina, obzirom da je masno tkivo najveći organ u ljudskom tijelu, njihova ukupna količina utječe na tjelesne funkcije. Nadalje, masno tkivo isporučuje adipokine u cirkulaciju te se integrira u komunikacijsku mrežu s drugim tkivima i organima poput skeletnih mišića, adrenalnog korteksa, mozga i simpatičkog živčanog sustava te sudjeluje u apetitu i energetske ravnoteži, imunitetu, već spomenutoj osjetljivosti na inzulin i metabolizmu lipida, angiogenezi, krvnom tlaku i hemostazi (91). Nasumična sekvencijska istraživanja komplementarne DNA (cDNA) izražene u masnom tkivu pokazala su da transkripti za sekretorne proteine čine čak 19,6% ukupnih transkripata (168). U protekla tri desetljeća identificiran je cijeli niz adipokina uključenih u različite biološke funkcije i smatra se da je upravo poremećaj adipokinskog izražaja jedan od ključnih događaja u patogenezi metaboličkih bolesti (169).

### **1.5. Adipokini**

Adipokini su danas skupina od više od 600 bioaktivnih molekula važnih za regulaciju različitih bioloških procesa. (170). Dok se skladišta masnog tkiva razlikuju jedna od drugih na temelju njihove proizvodnje adipokina, pretilost će općenito favorizirati proizvodnju proinflammatoryh adipokina bez obzira na lokaciju skladišta (171, 172). Zanimljivo je da studije kod miševa upućuju na to da i starenje u odsutnosti pretilosti izazvane prehranom također inducira izražaj proinflammatoryh adipokina (173). Otkriće leptina dalo je vjetar u leđa istraživanjima, kako novih adipocitokina tako i njihove uloge, što je i danas u centru istraživanja u domeni pretilosti, ali i izvan nje. Neki od najpoznatijih adipokina su, uz već spomenuti leptin, adiponektin, omentin, TNF $\alpha$ , IL-6, rezistin, IL-1, apelin, visfatin, inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1) i retinol vežući protein 4 (RBP4) (174, 175, 176). Obrazac lučenja adipokina odražava funkciju masnog tkiva i može biti značajan za identifikaciju individualnog rizika za razvoj metaboličkih posljedica (174).



### **1.5.1. Adiponektin**

Adiponektin je otkriven prije dvadesetak godina i ubrzo je privukao veliku pozornost zbog svoje uloge glasnika između masnog tkiva i drugih metaboličkih organa (177). Tijekom proteklih dekada znanstvena zajednica je pokazala izniman interes za njega, a ogromni su napori bili usmjereni i na razotkrivanje molekularnih mehanizama djelovanja.

#### **1.5.1.1. Biokemijska svojstva i struktura adiponektina i receptora**

Adiponektin je multimerni protein koji pokazuje visoku strukturnu sličnost s faktorom komplementa C1q (178). Alternativno se naziva AdipoQ, apM1 (adipozno najbrojniji genski transkript-1) (179), Acrp30 (protein povezana s komplementom adipocita od 30 kDa) (180), i GBP28 (želatinski vezni protein-28) (181). Izlučuje ga uglavnom bijelo masno tkivo, iako i druga tkiva pokazuju izražaj adiponektina (179, 182). Adiponektinski gen nalazi se na kromosomskom mjestu 3q27 i sadrži tri eksona i dva introna (183). Pokazalo se da pojedini genski polimorfizmi dovode do funkcionalnih posljedica adiponektinskog proteina, što je bilo povezano uz kliničke manifestacije (184).

Ljudski adiponektin je protein od 244 aminokiseline i ima četiri strukturne domene: aminoterminalni signalni peptid, varijabilnu domenu, kolagensku regiju koja se sastoji od 22 Gly-X-Y ponavljanja (cAPN) i karboksilnu terminalnu globularnu domenu (gAPN) koja se veže na adiponektinske receptore. Prvo se adiponektin stvara kao jedna podjedinica koja nakon pretvorbe i posttranslacijske obrade generira trimere, heksamere i multimerne (185). Smatra se da osnovni monomerni oblik adiponektina od 30 kD postoji samo u adipocitu, dok adiponektin uglavnom cirkulira kao trimer (186). Adiponektin može biti prisutan u pet različitih konfiguracija s različitim biološkim svojstvima: globularni adiponektin (gAPN), adiponektin pune duljine (fAPN), adiponektin male molekularne mase (LMW), adiponektin srednje molekularne mase (MMW) i adiponektin velike molekularne mase (HMW) koji predstavlja dominantni cirkulirajući oblik koji liči na "buket cvijeća" s kolagenom poput stabljike i kuglastim "cvjetovima" (187).

Razina cirkulirajućeg adiponektina se kreće u rasponu od 2-20 µg/ml, što predstavlja 0,01% ukupnih proteina u serumu, a što je značajno viša koncentracija od brojnih drugih čimbenika rasta ili hormona. Na temelju analize metodologije, dobi i rase, medijan razina adiponektina u zdravih osoba je približno 8 µg/mL za muškarce i 12,5 µg/mL za žene. Cirkulirajuća razina

adiponektina modulirana je genetskom podlogom, hormonskim profilom, antropometrijskim obilježjima, upalom, prehrambenih navikama i farmakološkim sredstvima (188). Adiponektin je u cirkulaciji prilično stabilan protein, no usprkos tome ima iznenađujuće kratko poluvrijeme života, između 45 i 75 minuta, što ovisi i o cirkulirajućem obliku u kojem se nalazi (189). Adiponektin ima autokrini i parakrini učinak u masnom tkivu, te endokrini u distalnim tkivima (190). Autokrini efekti su možda najbolje ilustrirani u njegovoj ulozi u diferencijaciji adipocita jer je indukcija adiponektinske mRNA tijekom diferencijacije adipocita i do stotruko veća nego u ostalim životnim razdobljima stanice (191). Jetra je glavno mjesto razgradnje adiponektina, ali i brojne druge stanice kao što su  $\beta$ -stanice pankreasa i miociti također mogu sudjelovati u tom procesu (192).

Adiponektin se veže na dva glavna nekonvencionalna heptahelička receptora (AdipoR1 i AdipoR2) koji su kodirani genskim lokusima smještenima na kromosomskim regijama 1p36.13-q41 i 12p13.31. Dva prevladavajuća adiponektinska receptora, AdipoR1 i AdipoR2, dijele 67% sličnosti u strukturi tj. sekvenci proteina, a uočena je i 95%-tna homologija između miša i čovjeka (193). AdipoR1 i AdipoR2 su transmembranski receptori kojima je C-terminalna domena smještena izvan stanične membrane, a N-terminalna intracelularno. Kad se adiponektin veže na njih, aktivira AMP kinazu (194) i stimulira utilizaciju glukoze, a i simultano suzbija glukoneogenezu inhibirajući fosfoenolpiruvat karboksilazu (195). AdipoR1, koji ima visoki afinitet za gAPN, eksprimira se sveprisutno, ali najsnažnije na skeletnim mišićima, dok je AdipoR2, koji uglavnom prepoznaje fAPN, pretežno eksprimiran u jetri (196). Oba receptora se mogu ekspimirati u gotovo svakom tkivu, ali obično prevladava jedan ili drugi tip receptora. Nekoliko staničnih linija raka eksprimira adiponektinske receptore, što znači da adiponektin može imati izravne učinke na te stanice i ograničiti njihovu proliferaciju, barem *in vitro* (188). T-kadherin, stanični adhezijski protein koji je poznat po svojim funkcijama vezanja na kalcij, također je predložen kao još jedan adiponektinski receptor koji djeluje kao ko-receptor natječući se s AdipoR1/R2 i vezanjem na heksamerni i HMW adiponektin. T-kadherin nema citoplazmatske sekvence. Iako njegovo patofiziološko značenje još nije objašnjeno kod ljudi, glavna funkcija T-kadherina *in vivo* je vezanje adiponektina na osjetljiva tkiva poput mišića, srca i krvnih žila. Neki dokazi sugeriraju da se ne može vezati na monomerni i trimerni oblike (197). T-kadherin vezan za adiponektin je primjerice kritičan za adiponektinsku zaštitu od kardiomiocitnog stresa kod eksperimentalnih životinja. Denzel i suradnici su zaključili da njegovo brisanje ukida kardioprotektivne učinke adiponektina kod srčane hipertrofije kao i miokardijalne

ishemijsko-reperfuzijske ozljede (198). Smatra se da nakupljanje masnog tkiva regulira odnos AdipoR1 / R2, smanjuje osjetljivost na adiponektin i dovodi do inzulinske rezistencije (199). Tjelovježba također regulira izražaj receptora adiponektina u mišićima i masnom tkivu (200).

### **1.5.1.2. Biološka uloga adiponektina**

Odjeljci masnog tkiva smatraju se odgovornima za sekreciju adiponektina, no u *in vitro* i *in vivo* ispitivanjima na ljudima pokazalo se da se u adipocitima koji su prepunjeni masnim kiselinama i koji imaju iscrpljene sposobnosti pohranjivanja lipida, inhibira transkripcija gena za adiponektin te se izlučuju proinflammatorni faktori smanjujući tako i njegovu plazmatsku koncentraciju (201). Niže razine su eksprimirane u jetri, mišićima, kardiomiocitima, kostima, debelom crijevu, žlijezdama slinovnicama, placenti i hipofizi, ali doprinos tih tkiva za cirkulacijsku razinu nije značajan (202). U debljini mu je koncentracija smanjena i pokazuje negativnu korelaciju s ITM, opsegom struka, LDL-kolesterolom, C-reaktivnim proteinom i HOMA indeksom (203). Adiponektin je detektiran i u cerebrospinalnom likvoru eksperimentalnih životinja u približno 1 / 4000 njegove koncentracije u serumu (204). Detektiran je i u likvoru *knockout* miševa nakon intravenske aplikacije i to u koncentraciji slično kao i nakon aplikacije kod miševa divljeg tipa. Ovi nalazi ukazuju da adiponektin doista ulazi u likvor iz cirkulacije, a njegovi receptori su obilno izraženi u hipotalamusu s razinama izražaja usporedivima s onima u jetri što govori u prilog činjenici da ima centralnu ulogu u smanjenju tjelesne mase i potrošnji energije (204, 205, 206, 207). Smanjena koncentracija adiponektina zbog genetskih i ekoloških parametara mogla bi biti uključena u patogenezu niza bolesti (208, 209).

#### **1.5.1.2.1. Adiponektin i inzulin**

Jedna od najvažnijih i najbolje proučenih uloga adiponektina je povećanje osjetljivosti na inzulin. U eksperimentima koji uključuju adipocitni povećani izražaj adiponektina, stanična diferencijacija je ubrzana, što dovodi do povećanog nakupljanja lipida i inzulinom stimuliranog transporta glukoze i sugerira da adiponektin potiče diferencijaciju adipocita i povećanu osjetljivost na inzulin (210, 211). Adiponektin djeluje kao autokrini i parakrini faktor te inhibira adipocitno izlučivanje IL-6, IL-8 i MCP-1 koji mogu inhibirati pohranjivanje lipida i osjetljivost na inzulin u adipocitima (212), a hipoadiponektinemija je povezana s povišenom razinom intramiocelularne i intrahepatične masti (213).

Adiponektin ima snažne učinke na metabolizam ugljikohidrata i lipida u skeletnim mišićima koje ostvaruje uglavnom preko AdipoR1 (193). U skeletnim mišićima putevi metabolizma glukoze uključuju sintezu glikogena, oksidaciju glukoze i proizvodnju laktata. Globularni adiponektin stimulira transport glukoze i u izoliranom skeletnom mišiću kao i u kultiviranim miocitima (214). Ovaj učinak ostvaruje putem poboljšane translokacije transportera glukoze 4 na staničnoj membrani. Adiponektin smanjuje i bazalnu razinu glikogena i njegovu inzulinom stimuliranu sintezu (215). Budući da AMPK može izravno fosforilirati i inaktivirati glikogen sintazu (216), smanjenje sinteze glikogena nakon liječenja adiponektinom može biti posredovana aktivacijom AMPK. Štoviše, pokazano je da u adiponektinom tretiranim miocitima metabolizam glukoze pomaknut prema proizvodnji laktata (215). Jetra je još jedan od ciljnih organa za djelovanje adiponektina (193). Adiponektin suzbija jetrenu proizvodnju glukoze putem kroz smanjenje izražaja fosfoenolpiruvat karboksikinaze i glukoza-6-fosfataze, čime se smanjuje razina glukoze u plazmi (217). Vjerojatno je inhibicijski učinak adiponektina na glukoneogenezu posredovan fosforilacijom AMPK. Dugoročno liječenje adiponektinom poboljšava osjetljivost na inzulin i smanjuje sadržaj triglicerida u jetri (218). Adiponektin nema nikakav učinak na sintezu i sadržaj glikogena kao ni na glikogenolizu u jetri (219).

Iako je odnos između inzulina i adiponektina opsežno proučavan, točna uloga inzulina u biosintezi adiponektina i sekrecije ostaje sporna. U 3T3-L1 adipocitima inzulin ima izravan stimulirajući učinak na izražaj gena za adiponektin (220) te dovodi do povećane sekrecije adiponektina u medij kulture (221). Kao objašnjene ove činjenice predloženo je da možda inzulin potiskuje aktivnost FoxO1, transrepresora PPAR $\gamma$ , koji je induktor biosinteze adiponektina. Međutim, još je potrebno objasniti dokazanu negativnu vezu između razine inzulina i adiponektina *in vivo*.

Odnos razine adiponektina, razvoja inzulinske rezistencije i ŠBT2 proučavan je u mnogim kliničkim studijama (222, 223). Studija Hoorn 12 istražila je povezanost između razine adiponektina i 6-godišnjeg rizika za razvoj ŠBT2, odnosno poremećaja metabolizma glukoze na populaciji od 2.500 muškaraca i žena. Rezultati su pokazali da je niža razina adiponektina povezana s većim rizikom za razvoj ŠBT2. Povećana razina adiponektina kod žena je bila povezana s nižim rizikom za razvoj poremećaja metabolizma glukoze. Autori su zaključili da je razina adiponektina uključena u patofiziološke procese koji povezuju adipozitet i ŠBT2 (224), a do sličnih zaključaka se došlo i u drugim studijama (222, 223). Koncentracija

adiponektina u serumu povišena je kod bolesnika s ŠBT1 kao i kod bolesnika s genetski defektnim receptorima inzulina u usporedbi sa zdravim kontrolama (225). Snižene vrijednosti adiponektina registrirane su kod žena s gestacijskom šećernom bolešću (226). Hiperinzulinemija značajno snižava razinu adiponektina u plazmi pod euglikemijskim uvjetima (227). Nadalje, HMW oblik adiponektina selektivno je smanjen kod hiperinzulinemije i ŠBT2 (228). Razlog zbog kojeg inzulin ima drugačiji *in vitro* i *in vivo* učinak na koncentraciju adiponektina ostaje nepoznat.

#### 1.5.1.2.2. Adiponektin i lipidi

Adiponektin je u kliničkim istraživanjima povezan s brojnim parametrima metabolizma lipida, a posebno je snažna veza s metabolizmom lipoproteina visoke gustoće i triglicerida. Čini se da adiponektin inducira porast HDL-kolesterola u serumu, i obrnuto, HDL-kolesterol može podići razinu adiponektina (229). Zabilježeno je da povezanost razine adiponektina i koronarna bolest srca nestaju nakon prilagodbe za HDL-kolesterola te je moguće da adiponektin djeluje kao posrednik i u inzulin-senzibilizirajućim učincima HDL-kolesterola (230). Također se smatra da su niže razine adiponektina povezane s nedostacima u katabolizmu VLDL-ApoB, čime se povećava učinak dislipidemijske inzulinske rezistencije, što uglavnom rezultira povećanjem jetrene proizvodnje VLDL-ApoB (231). Adiponektin povećava izražaj proteina uključenih u transport i sagorijevanje masnih kiselina kao što su klaster diferencijacije 36 (CD36) i acil-koenzim A oksidaza (218). Smanjenje koncentracije adiponektina povezano je s višim koncentracijama lipoproteina niske gustoće (LDL) i triglicerida, vjerojatno zbog izravnog učinka adiponektina na aktivnost lipoproteinske lipaze (232). Adiponektin aktivira PPAR $\alpha$ , povećava sagorijevanje masnih kiselina i potrošnju energije, što dovodi do niže razine triglicerida u jetri i skeletnim mišićima, čime se povećava *in vivo* osjetljivost na inzulin (233). Također djeluje kao glavni regulator za izražaj hepatičnih gena kritičnih za metabolizam lipida, a ti efekti su modulirani pomoću aktivnosti AMPK i acetil-CoA karboksilaze (234). U jetri, aktivacija AMPK smanjuje aktivnost fosfoenolpiruvat-karboksikinaze i glukoza-6-fosfataze, čime se smanjuje glukoneogeneza (235). U masnom tkivu aktivacija AMPK smanjuje izražaj PPAR $\gamma$  i smanjuje lipogenezu kroz povećanu lipolizu. Također smanjuje otpuštanje TNF $\alpha$  i IL-6 iz adipocita i povećava izlučivanje adiponektina (236). Odnos adiponektin – HDL-kolesterol može barem djelomično objasniti pretpostavljenu zaštitnu ulogu adiponektina u kardiovaskularnim bolestima i promjenama koncentracije adiponektina promatranih nakon dijeta, vježbanja i farmakološkog liječenja. Statini, fibrati, niacin i n-3 masne kiseline mogu utjecati na cirkulirajuću koncentraciju

adiponektina, što ukazuje da adiponektin može posredovati i neke od metaboličkih učinaka ovih sredstava (237, 238).

#### 1.5.1.2.3. Adiponektin i pretilost

Adiponektin igra značajnu ulogu u metabolizmu energije, a koncentracija ukupnog adiponektina i HMW smanjuje se u pretilosti i povećava nakon gubitka tjelesne mase (239). Osim toga, i ukupni adiponektin i HMW adiponektinski oligomeri inverzno koreliraju s ITM, glukozom, koncentracijom inzulina i triglicerida, stupnjem inzulinske rezistencije i akumulacijom visceralnog masnog tkiva (240, 241). Način kojim se masno tkivo širi (hipertrofija i/ili hiperplazija) vjerojatno regulira sintezu i izlučivanje adiponektina jer je dokazan inverzni odnos između srednjeg promjera adipocita i njegova izlučivanja (44). Izražaj adiponektinskih receptora značajno se smanjuje u ŠBT2 i pretilosti (199), a promjene u izražaju adiponektina i njegovih receptora pak dovode do smanjenja osjetljivosti na adiponektin što vodi do inzulinske rezistencije. Nakon gubitka tjelesne mase, razina adiponektina raste zajedno s specifičnim povećanjem većine biološki aktivnih oligomera (242). Činjenica da širenje masnog tkiva dovodi do oksidativnog stresa i upalnog odgovora također ima implikacije na disregulaciju izražaja i lučenja adiponektina (243). Istraživanja pokazuju da se u teškoj pretilosti ( $ITM \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ), nakon gubitka tjelesne mase (oko 10%) povećava cirkulirajuća koncentracija adiponektin što upućuje i na svojevrсни funkcionalni oporavak masnog tkiva (240).

#### 1.5.1.2.4. Adiponektin i kardiovaskularni sustav

Brojni eksperimentalni i klinički podaci upućuju da adiponektin ima blagotvoran učinak na kardiovaskularni sustav. Adiponektin inhibira izražaj VCAM-1, E-selektina i ICAM-1 na površini endotelih stanica čime sprječava adheziju monocita na humane endotelne stanice (244). Adiponektin se također veže na kolagen (I, III i V) prisutan u vaskularnim zidovima, ali samo u ozlijeđenim žilama (245). Neki nalazi ukazuju na ulogu adiponektina u aterosklerozi inhibiranjem vezanja LDL-a na biglikan koji je vaskularni proteoglikan. To u konačnici smanjuje akumulaciju lipida u subendotelnom prostoru, što je uzrok stvaranja aterosklerotskog plaka (246). Nadalje, polimorfizmi jednog nukleotida (SNP) na poziciji +276 u adiponektinskom genu povezani su s koronarnom bolešću. T / T homozigoti imaju niži rizik razvoja KVB od G / G ili G / T varijanti gena. Varijante "C" do "G" na položaju 11,377 u promotorskoj regiji adiponektina povezane su s koronarnom aterosklerozom i drugim srodnim

bolestima (247). Izražaj T-kadherina veći je u atero - otpornih od na aterosklerozu osjetljivih koronarnih arterija, što ukazuje da je njegov izražaj uključen u progresiju ateroskleroze (248, 249). Pokazalo se da adiponektin aktivira i AMPK i PPAR $\alpha$  puteve i da povećava izražaj AdipoR1 u KVB (250). Istraživanja također ukazuju da adiponektin snažno inhibira VEGF, koji je induciran kisikovim radikalima, što sugerira na antioksidativni učinak adiponektina u krvnim žilama (251).

Adiponektin ima ulogu i u hipertenziji. Dokazano je da hipertenzivni pacijenti imaju znatno nižu koncentraciju adiponektina nego normotenzivni (245). Istraživanja upućuju da ovo može biti posljedica učinka angiotenzina II jer blokatori renin-angiotenzinskog receptora značajno povećavaju koncentraciju adiponektina uz popratno poboljšanje osjetljivosti na inzulin bez obzira na stupanj pretilosti bolesnika (252, 253).

Adiponektin utječe i na remodelaciju miokarda tijekom akutne ishemijske ozljede. Nedostatak adiponektina kod eksperimentalnih miševa u ishemiji miokarda i reperfuziji doveo je do pogoršanja ozljede čak do 78%, uz porast razine TNF $\alpha$  i smanjenje aktivacije AMPK. To je rezultiralo povećanjem apoptoze miocita i stromalnih stanica. Liječenje miševa s adiponektinom smanjuje infarktom zahvaćeni dio, a razina TNF $\alpha$  biva suprimirana. Ti učinci uključuju COX-2 i prostaglandin E sintetazu putem PGE receptorskih ovisnih putova. (254).

Prediktivna vrijednost adiponektina kao predskazatelja kardiovaskularnih bolesti kod ljudi prepoznata je odavno. Potvrđeno je da je viša koncentracija adiponektina povezana sa manjim rizikom od infarkta miokarda u muškaraca (255) te da primjena rekombinantnog adiponektina ima pozitivan učinak na preživljenje kardiomiocita kod ishemije i reperfuzije (254). Osobe s koronarnom bolešću imaju niže koncentracije adiponektina bez obzira na etničku skupinu (256). Međutim, ovo se u spomenutom istraživanju odnosi samo na HMW formu, dok se koncentracija heksamera ne mijenjaju, a trimera čak i povećava (257, 258), a prema nekim istraživanjima stupanj hipoadiponektinemije korelira s težinom koronarnih lezija te može biti koristan kod prepoznavanja pacijenata podložnih za KVB (259).

Imajući u vidu navedeno, može se reći da je glavna uloga adiponektina u vaskularnoj fiziologiji modulacija veza između endotelnih stanica, glatkih mišićnih stanica, leukocita i trombocita i zaštita krvne žile od ozljeda i aterogeneze. Ateroprotekcija je posredovana različitim akcijama tog proteina, uključujući antiinflamatorne učinke, poticanje proizvodnje dušikovog oksida, ublažavanje proaterogenih medijatora i modulacijom vulnerabilnosti plaka

(260). Ukratko, adiponektin ima značajnu ulogu u zaštiti integriteta krvnih žila. Smanjena koncentracija adiponektina, a time i njegova funkcija, primjerice u slučaju pretilosti i metaboličkog sindroma, čini pojedince osjetljivijima na aterosklerotsku bolest (261).

#### 1.5.1.2.5. Adiponektin i upala

Brojni dokazi pokazuju da upala potiskuje proizvodnju adiponektina u adipocitima te se kronična upala smatra uzročnim faktorom u smanjenoj cirkulirajućoj razini adiponektina koju susrećemo u pretilosti, KVB i ŠBT2 (262). Upala inhibira proizvodnju adiponektina u adipocitima kroz nekoliko mehanizama, uključujući citokine, oksidacijski stres i hipoksiju, kao i izravnu aktivaciju ko-stimulacijskih molekula, kao što je CD40 (263, 264). Ovi učinci posredovani su modulacijom faktora transkripcije, koji su uključeni u upalu, uključujući NFκB i RP140 (265). Adiponektin suprimira rast i proliferaciju granulocita i progenitora makrofaga u koštanoj srži, ne kompromitirajući pritom ostale stanične linije (266). Također inhibira fagocitnu aktivnost makrofaga u uvjetima *in vitro* (266) te otpuštanje proinflammatoryh citokina, dok je proizvodnja antiinflammatoryh citokina povećana. Makrofazi kod eksperimentalnih adiponektin nul-miševa iskazuju aktiviran fenotip s većom produkcijom proinflammatoryh citokina kao što su TNF-α, MCP-1 i IL6 u odnosu na divlji tip, a ovaj učinak je reverzibilan nakon aplikacije rekombinantnog adiponektina (265). Dakako, adiponektin ovaj učinak na makrofage pokazuje u svim tkivima, primjerice u krvnim žilama gdje inhibira njihovu transformaciju u pjenušave stanice (266). Dokazano je da adiponektin i u masnom tkivu modulira tijek upale (267). Ipak, podaci ukazuju na složenu vezu između upale i adiponektina izvan područja metaboličkih bolesti. Ako je upala najvažniji mehanizam koji regulira proizvodnju adiponektina, očekivale bi se smanjene koncentracije ovog adipokina i u ostalim bolestima koje karakterizira upala. Cirkulirajuće i lokalne koncentracije adiponektina obično pozitivno koreliraju s markerima upale u raznim upalnim i imunološkim posredovanim patologijama, kao što su to reumatoidni artritis ili kronično zatajenje bubrega. Stoga, usprkos snazi dokaza koji povezuju upalu s reduciranim adiponektinom, čini se da drugi mehanizmi moraju prevladati supresijski učinak upale na njegovu proizvodnju ili modulirati povezanost u „ne-metaboličkim“ bolestima (268).

Uz navedene samo neke od bioloških uloga vezanih za temu ovog rada, treba spomenuti i da je adiponektin privukao pozornost na području onkologije jer sve veći broj epidemioloških studija povezuje hipoadiponektinemiju i rizik od karcinoma povezanih s pretilošću, primjerice dojke, endometrija, jednjaka, želuca, debelog crijeva, prostate, gušterače te renalnih i



hematoloških zloćudnih bolesti (188). Nadalje, snižena koncentracija adiponektina se čak povezuje i s progresijom tumora, veličinom, histološkim stupnjem i invazivnošću (209). Otkriće adiponektina znatno je proširilo naše znanje o ulozi masnog tkiva u patološkim procesima, genezi pretilosti, metaboličkom sindromu, aterosklerozi, ŠBT2, onkologiji i brojnim drugim stanjima. Izuzetno visoka koncentracija u plazmi, značajna razlika među spolovima, izoforme i brojni blagotvorni učinci potiču dalja istraživanja usprkos svim do sada provedenima. Neki autori čak sugeriraju da bi koncentracija adiponektina u serumu mogla biti pogodan marker za identifikaciju bolesnika s metaboličkim sindromom i prije njegova razvitka, obzirom da su brojne studije pokazale da je adiponektin dobar biomarker za upalu, inzulinsku rezistenciju i kardiovaskularni rizik (269). Lijekovi koji utječu na razinu adiponektina mogu imati ulogu u liječenju kardiovaskularnih bolesti, ŠBT2 i eventualno u prevenciji tumora povezanih s metaboličkim sindromom. Moguće je i da modulacija adiponektinskih djelovanja, kroz izražaj adiponektinskih receptora, može biti nova i obećavajuća terapijska strategija (270). Iako je postignut konsenzus u mnogim aspektima, kontroverze su i dalje prisutne, i buduća istraživanja trebaju detaljno razjasniti njegovu konfiguraciju, receptorsku strukturu, afinitete prema različim adiponektinskim izoformama i putove prijenosa signala.

## **1.5.2. Omentin**

### **1.5.2.1. Biokemijska svojstva i struktura omentina i receptora**

Omentin je protein od 313 aminokiselina, molekularne mase 38-40 kDa, otkriven 2001. godine i snažnije izražen u visceralnom nego u potkožnom masnom tkivu (271, 272, 273), te je tako jedna od prvih otkrivenih molekula koje pokazuju tako dramatičnu razliku u izražaju između glavnih skladišta masnog tkiva. Otkriven je i u drugim tkivima u nešto nižim razinama i u literaturi je imenovan kao intelektin (274), endotelijalni lektin (275) i intestinalni laktoferinski receptor (276). Izražen je u intestinalnim Panethovim stanicama (277), endotelnim stanicama (275) i stromovaskularnom odjeljku visceralnog masnog tkiva (271).

Izoforma omentina, s kojom se podudara u čak 83% aminokiselinskog slijeda, imenovana je omentin 2 (275). Geni za oba ova proteina, omentin-1 i omentin-2, lokalizirani su jedan uz drugi u kromosomskoj regiji 1q22-q23 (278) i za koju se još od ranije zna da je povezana s ŠBT2 u nekim populacijama (279). Poznato je da je omentin prisutan u cirkulaciji dominantno u izoformi omentina-1 i koja je do sada uglavnom istraživana u dostupnoj

literaturi, a njegova koncentracija pozitivno korelira s koncentracijom adiponektina u serumu što je dovelo do pretpostavke da imaju sličnu regulaciju i da su međuovisni (280).

Specifični receptori omentina još nisu identificirani. Moguće je i da različite fiziološke aktivnosti omentina-1 ukazuju da se njegova signalizacija ne odvija putem specifičnog proteinskog receptora, nego preko ugljikohidrata ili glikolipida na površini stanice (281).

### **1.5.2.2. Biološka uloga omentina-1**

U literaturi postoji niz eksperimentalnih i kliničkih dokaza koji su ukazali na široki spektar djelovanja omentina-1 kao što su protektivno kardiovaskularno djelovanje, uloga u metaboličkim poremećajima, preeklampsiji, te uloge markera u koštanom metabolizmu i nekim oblicima raka (281). Uloga omentina-1 u fiziološkim i patofiziološkim procesima još uvijek nije jasna i u središtu je istraživačkog interesa. Kako je inicijalno identificiran u Panethovim stanicama i povezan s galaktofuranozom unutar ugljikohidratnih dijelova bakterijske stanične stijenke, stavljen je u kontekst obrambenih crijevnih mehanizama protiv patogenih bakterija te je identificirana njegova uloga u imunološkim procesima (282). Nadalje, omentin-1 je izražen na crijevnom epitelu gdje ima ulogu receptora za laktoferin (276). Izražaj gena u potkožnom masnom tkivu je izrazito nizak, ali pozitivno korelira s njegovom koncentracijom u plazmi, a negativno s indeksom tjelesne mase (283).

Fiziološke koncentracije omentina-1 u ljudi su u rasponu  $370 \pm 20$  ng/ml, a izražaj i izlučivanje se mijenjaju u brojnim patološkim stanjima, kao što su pretilost, inzulinska rezistencija i upala (283). Viša koncentracija omentina-1 je detektirana kod žena nego kod muškaraca (283). Koncentracija omentina-1 u serumu negativno korelira s ITM, leptinom, opsegom struka i parametrima inzulinske rezistencije (283). Upravo kao i kod adiponektina, koncentracije ovog proteina rastu nakon gubitka prekomjerne tjelesne mase (284). Pojedina istraživanja pokazala su čak da je kod pretilih trudnica, uz činjenicu da imaju niže razine omentina-1 u serumu, niži njegov izražaj u placenti te je postavljena možebitna veza između njegove razine i kasnijih metaboličkih alteracija kod ploda (285). Prisutnost omentina-1 dokazana je već kod novorođenčadi. Štoviše, moguće je da je viša razina omentina u fetusu ključna za promociju rasta (286). Na povećanje cirkulirajuće koncentracije omentina-1, osim redukcije tjelesne mase, utječe i liječenje antidijabetičkim lijekovima kao što su metformin, pioglitazon, eksenatid i sitagliptin (284, 286).

#### 1.5.2.2.1. Omentin-1 i inzulinska osjetljivost

U brojnim istraživanjima koncentracija omentina-1 i izražaj omentinske mRNA u masnom tkivu su niži u bolesnika sa oštećenom tolerancijom glukoze, kao i onih sa ŠBT2 u usporedbi sa zdravim ispitanicima (280, 287, 288). U studiji humanih omentalnih eksplantata masnog tkiva, inzulin i glukoza smanjuju proizvodnju i izražaj omentinske mRNA u visceralnom masnom tkivu, dok hiperinzulinemija snažno smanjuje koncentraciju omentina-1 i izlučivanje u kondicionirane medije. Slično tome, produljena infuzija glukoze i inzulina u zdravih ispitanika uzrokovala je smanjenje cirkulirajuće razine omentina-1 (289). Ovi rezultati sugeriraju da glukoza i inzulin, izravno ili neizravno, reguliraju sintezu omentina, a s druge strane omentin-1 može modulirati metabolizam glukoze i osjetljivosti na inzulin (289).

U bolesnika s ŠBT2 koncentracija omentina-1 u serumu natašte negativno korelira sa koncentracijom glukoze, kao i HOMA indeksom te se pokazalo da je on i neovisan prediktor koncentracije omentina-1 u serumu (290). Žene s novodijagnosticiranom ŠBT2 imaju značajno nižu cirkulirajuću koncentraciju omentina-1 od žena odgovarajuće dobi u kontrolnoj skupini. Ispitanice s ŠBT2 kao i one s inzulinskom rezistencijom imale su značajno niže razine omentina-1 u odnosu na zdrave ispitanice. Kako se pogoršavala inzulinska rezistencija, tako je dolazilo i do smanjenja cirkulirajuće razine omentina (291). I u ŠBT1 cirkulirajuća koncentracija omentina-1 je snižena i nema značajne razlike između koncentracije omentina-1 natašte i postprandijalno (292). Obzirom na spomenute studije, znanstveni dokazi jasno podupiru ulogu omentina-1 u regulaciji metabolizma glukoze. Međutim, znanje o uključenim mehanizmima za sada je manjkavo.

#### 1.5.2.2.2. Omentin-1 i lipidi

Istraživanja o vezi omentina-1 i lipidnih parametara su relativno oskudna u literaturi. Omentin-1 u istraživanjima pozitivno korelira s HDL-kolesterolom, uglavnom negativno s razinom triglicerida, dok s LDL-kolesterolom uglavnom ne pokazuje značajnu korelaciju (283, 293). U istraživanju Herdera i suradnika ova veza se pokazala neovisnom o dobi, spolu, upotrebi statina ili ITM. Zanimljivo je da se u spomenutom istraživanju pokazalo da korelacije između omentina-1, lipida i osjetljivosti na inzulin izrazito nalikuju onoj između ova dva parametra i adiponektina, i gotovo su nestale nakon multivarijantne analize. Postavljena je teza da omentin regulira otpuštanje adiponektina, što povoljno utječe na koncentraciju lipida i time poboljšava osjetljivost na inzulin. Činjenica da prilagodba

omentinu-1 nije smanjila povezanost između adiponektina i osjetljivosti na inzulin, ukazuje da postoji alternativna hipoteza da adiponektin regulira omentin-1 koji tada djeluje kao posrednik i utječe na metabolizam lipida i glukoze (294). Prema nekim istraživanjima omentin-1 može smanjiti intestinalnu apsorpciju kolesterola i sintezu VLDL u jetri, i / ili povećati izražaj jetrenih LDL receptora, što dovodi do smanjenja koncentracije ukupnog kolesterola u plazmi *in vivo* (294). Omentin-1 može aktivirati 5'-AMP- protein kinazu (295) koja djeluje kao snažan endogeni inhibitor sinteze kolesterola te može na taj način pridonijeti regulaciji sinteze kolesterola. Međutim, točan odnos metabolizma kolesterola i omentina još uvijek nije jasan i široko je područje za buduća istraživanja.

#### 1.5.2.2.3. Omentin-1 i pretilost

Većina objavljenih članaka pokazala je inverznu korelaciju između koncentracije omentina-1 i pretilosti (283). De Souza Batista i suradnici su opisali da je koncentracija serumskog omentina-1, kao i izražaj omentina u visceralnom masnom tkivu, znatno niža kod pretilih u odnosu na normalno uhranjene pojedince. I druga istraživanja su pokazala da su serumska koncentracija omentina-1, ali i izražaj u visceralnom masnom tkivu, znatno niži u pretilih nego u onih normalne mase, te da ta koncentracija obrnuto korelira s markerima metabolizma glukoze (292). U morbidno pretilih ispitanika utvrđeno je da je cirkulirajuća koncentracija omentina-1 smanjena u usporedbi s normalno uhranjenim, negativno korelira s markerima upale, a glavni modulatorski učinci su bili hiperglikemija i ITM (296, 297).

Odnos između omentina-1 i pretilosti pronađen je već u dječjoj i adolescentskoj dobi (286) što ukazuje da pretilost dovodi do smanjenja serumske koncentracije omentina-1 i njegovog izražaja bez obzira na dob. S druge strane, smanjenje tjelesne mase uzrokuje povećanu koncentraciju serumskog omentina-1. Restrikcija kalorijskog unosa 500-1000 kcal dnevno kroz 4 mjeseca dovela je do porasta cirkulirajuće koncentracije omentina-1 kod pretilih ispitanika (294). Intenzivna tjelesna aktivnost utječe na koncentraciju omentina-1 te je opaženo da nakon aerobnog treninga dolazi do njenog značajnog porasta (298). Ovi rezultati upućuju na to da promjene u koncentraciji omentina-1, inducirane vježbanjem, mogu biti povezane s njegovim blagotvornim učincima na osjetljivost na inzulin i smanjenje tjelesne mase. Iako je spomenuto istraživanje pokazalo porast koncentracije omentina-1 u serumu nakon redukcijske dijeta kod pretilih osoba, a koja je bila povezana s poboljšanom osjetljivosti na inzulin, studija Siejke i suradnika nije pokazala slične učinke na njegovu razinu nakon gastroplastike (299). Može se zaključiti da pojedine strategije korištene za

poticanje smanjenja tjelesne mase, kao što su prehrambena ograničenja i tjelesna aktivnost uglavnom, ali ne i uvijek, dovode do promjena serumske koncentracije omentina-1.

#### 1.5.2.2.4. Omentin i kardiovaskularni sustav

Omentin, baš kao i adiponektin, ima blagotvoran učinak na kardiovaskularni sustav. Kod eksperimentalnih životinja pokazalo se da omentin-1 izravno inducira o endotelu ovisnu relaksaciju krvnih žila koja je posredovana dušikovim oksidom, a može inducirati i vazorelaksaciju neovisno o endotelu (300). U ljudskim endotelnim stanicama omentin-1 snižava razinu CRP-a i putem TNF-om  $\alpha$  induciranog NF- $\kappa$ B (301), a u istraživanjima u kojima je putem genetskog inženjeringa postignut veći izražaj omentina-1 u eksperimentalnih životinja, usporen je proces kalcifikacije arterija što također sugerira da ova molekula ima protektivni učinak na arterije (302). Maruyama i suradnici su pokazali da sustavna aplikacija omentina-1 poboljšava protok i kapilarnu gustoću u ishemijom zahvaćenom udu kod miševa (303).

Postoji više studija koje su proučavale značaj korelacija cirkulirajuće razine omentina-1 s vaskularnom reaktivnošću brahijalnih arterija, debljinom intime-medije karotidnih arterija i koronarnom bolešću (304, 305, 306). Pokazalo se da cirkulirajuća razina omentina-1 ima učinak na endotelnu disfunkciju bez obzira na pretilost, dob ili stupanj upale kod bolesnika s intolerancijom glukoze. Danas se smatra da omentin-1, promicanjem aktivacije Akt signalnog puta i zauzvrat modulirajući endotelnu sintetazu dušikovog oksida, može utjecati na disfunkciju endotela, korak koji je presudan u patogenezi ateroskleroze (303). Akt je serin / treonin protein kinaza ovisna o aktivaciji sa brojnim čimbenicima rasta i citokinima. Iako je anti-apoptotska aktivnost Akt poznata, ona obavlja i druge stanične funkcije kao što su migracija, metabolizam glukoze i sinteza proteina. Pokazano je da VEGF stimulira Akt-fosforilaciju i dovodi do povećanja razine eNOS-a u plazmi i kasnije vazodilatacije (307). Ovo sugerira da defekt u Akt signalnom putu dovodi do smanjenja razine dušikovog oksida i narušava normalnu vaskularnu homeostazu. Primjena inhibitora sintetaze dušikovog oksida N (G) nitro-L-arginin metil estera inhibira vazodilatatorski učinak omentina na izolirane krvne žile štakora. Nadalje, u prethodno noradrenalinom tretiranoj aorti i mezenterijskim arterijama štakora, omentin-1 je izazvao izravnu relaksaciju vaskularnog endotela (300). Omentin-1 inhibira izražaj COX-2 inhibicijom JNK signalnog puta u humanim endotelnim stanicama umbilikalnih vena, što također sugerira da omentin prevenira razvoj ateroskleroze modulirajući upalu u endotelnim stanicama krvnih žila (301).

Serumska koncentracija omentina-1 negativno korelira s debljinom intime-medije karotidnih arterija (306), a snižena koncentracija je povezana s koronarnom bolešću (306, 308). Fain i suradnici su bili prvi koji su ukazali na njegov izražaj u ljudskom epikardnom masnom tkivu, što je upućivalo na činjenicu da ima parakrini učinak kao i ostali periadventicijski adipokini (309). Shibata i suradnici su u svom istraživanju ispitali prisutnost i razinu omentina-1 u bolesnika s koronarnom bolešću u odnosu na kontrolne subjekte nakon prilagodbe za konvencionalne faktore rizika. Rezultati su sugerirali da razina omentina-1 može poslužiti kao novi biomarker za koronarnu bolest, neovisno o korištenim kardiovaskularnim lijekovima (305). Još jedna nedavna studija također pokazuje da je serumska koncentracija obrnuto povezana s prisutnošću i angiografskom težinom bolesti koronarnih arterija u bolesnika s MS (310). Uzevši u obzir sve navedeno, čini se da snižena serumska koncentracija omentina-1 pospješuje razvoj kardiovaskularnih bolesti, počevši od rane endotelne disfunkcije pa sve do arterijske kalcifikacije te može poslužiti ne samo kao marker metaboličkih nego i kardiovaskularnih bolesti

#### 1.5.2.2.5. Omentin i upala

Koncentracija omentina-1 negativno korelira s cirkulirajućom koncentracijom proinflammatoryh citokina kao što su TNF $\alpha$  i IL-6 (311, 312). U vaskularnom sustavu omentin-1 ima izrazito antiinflammatorno djelovanje koje ostvaruje inhibicijom izražaja ICAM-1 i VCAM-1, prekidom signalnog puta NF- $\kappa$ B i suzbijanja adhezije monocita na TNF $\alpha$  - om aktiviranim endotelnim stanicama. Također aktivira i AMPK te eNOS fosforilaciju u endotelnim stanicama te potiče migraciju mezotelnih stanica za vrijeme infekcije (313). Omentin-1 inhibira indukciju ciklooksigenaze-2 preko prevencije aktivacije N-terminalne c-Jun kinaze, vjerojatno preko aktivacije 5'-AMPK / endotelne dušikove sintetaze i na taj način postiže antiinflammatornu ulogu u vaskularnim endotelnim stanicama. Budući da je omentin pretežno izražen u stromalnim stanicama visceralnog masnog tkiva moguće je i da postiže antiinflammatornu ulogu kroz supresiju regrutacije upalnih stanica koje su ključne u inicijaciji, održavanju i rješavanju upale (295).

Imajući na umu da je pretilost stanje kronične upale niskog stupnja dalo bi se zaključiti da će razina omentina-1 biti snižena i kod ostalih upalnih stanja, no odnos je nešto kompleksniji. Izražaj omentina-1 u tkivu kolona bolesnika s aktivnom Chronovom bolešću je snižen, a serumska koncentracija omentina-1 prema nekim istraživanjima bolje korelira sa stupnjem upale nego CRP te se danas razmatra i kao potencijalni marker ove bolesti (314). Omentalno

masno tkivo uključeno je u transmuralni i intraabdominalni upalni proces u Crohnovoj bolesti, a izražaj omentinske mRNA je značajno smanjen u omentalnom masnom tkivu ovih bolesnika (272). Kod bolesnika s reumatoidnim artritismom snižena je koncentracija omentina-1 u sinovijalnoj tekućini (315). Kod bolesnika s astmom povećan je izražaj omentina-1 u epitelnim stanicama dišnih puteva, a snižena cirkulirajuća razina se povezuje s prijemčljivošću na infekcije kod pušača (316). U bolesnika na programu kronične hemodijalize registrirana je povišena koncentracija omentina-1 što je kontroverzno, iako je bila niža u skupini bolesnika s ŠBT2. Ovaj rezultat se pokušao objasniti s veličinom molekule omentina-1 i činjenicom da se dijalizom ne uklanja iz krvotoka (317).

Uz spomenute uloge omentina-1, treba spomenuti da je prekomjerni izražaj (> 139 puta) omentina pronađen u malignom pleuralnom mezoteliomu. Indukcija izražaja omentinskog gena zabilježena je među primarnim mezotelnim stanicama kao posljedica izloženosti azbestom i infekcije virusom simian (318).

Uzevši u obzir samo neke od mogućih uloga omentina-1 postaje jasno da ima pleiotropnu ulogu u reguliranju metabolizma i možda održavanje adekvatne razine omentina-1 jamči dug i zdrav život. Omentin-1 je povezan s kardiovaskularnim bolestima kroz dobro poznate medijatore kao što su hipertenzija, ŠBT2, dislipidemija i kronična upala, no molekularna osnova još je nejasna. Čini se da su izražaj i sekrecija nekih hormona masnog tkiva regulirani prehranom, vježbom i genetskom podlogom (319). Međutim, do danas većina tih podataka proizlazi iz *in vitro* studija ili od modela glodavaca i njihov značaj još uvijek treba biti potpuno određen. Ilustracija doprinosa inzulinske rezistencije i uloge adipokina ostaje u središtu aktualnih istraživanja, a uloga omentina-1 kao modulatora u spomenutim zbivanjima se tek treba rasvijetliti.

### **1.5.3. Ostali važni adipokini**

#### **1.5.3.1. Leptin**

Leptin (od grčke riječi *leptos* koja znači mršav) je polipeptid od 16-kDa, sastavljen od 167 aminokiselina, otkriven 1996. godine, kod ljudi je kodiran genom na 7. kromosomu i strukturno je sličan citokinima (320). Čak i prije njegova otkrića, studije na miševima s mutacijama gena za ŠBT2 su navele na pretpostavku postojanja cirkulirajućeg hormona koji omogućuje komunikaciju periferije i središnjeg živčanog sustava, te nosi informaciju o energetske zalihamas organizma. Leptin luče adipociti i to proporcionalno masi masnog tkiva

i nutritivnom statusu, a više ga izlučuje potkožno nego visceralno masno tkivo (321). Izražaj leptina, kao i njegova sekrecija, regulirani su i drugim čimbenicima pa tako njegovo lučenje potiču inzulin (322), glukokortikoidi (323) i estrogeni (324), a smanjuju  $\beta$ 3-adrenergičko djelovanje, androgeni, slobodne masne kiseline, hormon rasta i PPAR $\gamma$  agonisti (325).

Receptori za leptin su članovi obitelji citokinskih receptora i izraženi su i u središnjem živčanom sustavu i na periferiji. Iako je identificirano nekoliko inačica leptinskih receptora, takozvani dugi oblik posreduje većinu učinaka leptina (326).

Učinci leptina na energetske homeostazu su danas dobro istraženi (327). Mnogi od tih učinaka, osobito kada se radi o unosu energije i potrošnji, posredovani su hipotalamičkim putevima, ali i direktnim djelovanjem, posebice na periferna tkiva kao što su mišići i  $\beta$ -stanice pankreasa. Iako je u početku promatran kao hormon u službi protiv pretilosti, primarna uloga leptina je bliža tome da služi kao metabolički signal energetske dostatnosti nego viška (328). Razina leptina naglo opada s kalorijskom restrikcijom i mršavljenjem (329). Ovaj pad je povezan s adaptivnim fiziološkim odgovorima na gladovanje, uključujući povećan apetit i smanjenje potrošnje energije. Ove reakcije su prisutne i u leptin-deficijentnih miševa i ljudi, unatoč pretilosti. Kod uobičajenih oblika pretilosti prisutna je povišena razina cirkulirajućeg leptina. Niti endogeno visoke razine leptina, niti tretman s egzogenim leptinom nije učinkovit u redukciji pretilosti, što je u skladu sa stanjem rezistencije na leptin (326). Mehanizam rezistencije na leptin nije poznat, ali se smata da je rezultat oštećenja u signalizaciji leptina ili transportu preko krvno-moždane barijere. Najosjetljiviji dio krivulje doza-odgovor na leptin se nalazi u fiziološkom rasponu između niske razine induciranog ograničenja hrane i povećava se kod hranjenja, ali ne u suprafiziološkim rasponu koji je povezan s pretilošću (329). Ova uloga leptina kao pokazatelja energetske dostatnosti ima smisla iz evolucijske perspektive, ali ne pruža utjehu u našem trenutnom okruženju energetskog izobilja. Osim učinaka na energetske homeostazu, leptin regulira funkciju neuroendokrinog i tradicionalnog endokrinog sustava. Nedostatak leptina u *Lepob/Lepob* miševima je povezan s aktiviranjem hipotalamo-pituitarno-adrenalne osovine i suzbijanjem hipotalamus-hipofiza-štitnjača i -gonadalne osi. Leptin smanjuje hiperkortizolemiju u *Lepob / Lepob* miševa, inhibira stresom izazvanu sekreciju CRH iz hipotalamusa i inhibira izlučivanje kortizola iz kore nadbubrežne žlijezde u glodavaca. Uloga leptina u hipotalamo-pituitarno-adrenalnoj aktivnosti u ljudi *in vivo* ostaje nejasna. Normalizira razinu suprimiranih hormona štitnjače kod leptin-deficijentnih miševa i ljudi putem stimulacije izražaja TRH i izlučivanja iz hipotalamičkih



TRH neurona (326, 330). Leptin ubrzava pubertet kod normalnih miševa i obnavlja normalno izlučivanje gonadotropina i reproduktivne funkcije u leptin-deficijentnih miševa i ljudi. Supstitucija leptina za vrijeme gladovanja inhibira inače inducirane promjene u hipotalamus-hipofiza-gonadalnoj i tiroidnoj osi u zdravih muškaraca (325). Također, povećava osjetljivost na inzulin kod životinjskih modela i može poboljšati vaskularne reakcije na inzulin u stanjima rezistencije na inzulin (331). Njegovo izlučivanje iz adipocita je stimulirano inzulinom, a plazmatska koncentracija značajno korelira s plazmatskom koncentracijom inzulina (332). Nasuprot tome, prema nekim istraživanjima, leptin negativno regulira inzulinsku signalizaciju i unos glukoze (333). Leptin stimulira izlučivanje lipoprotein lipaze u kultiviranim humanim i mišjim makrofazima i povećava nakupljanje estera kolesterola u pjenušavim stanicama, osobito pri visokim koncentracijama glukoze (334). Međutim, pod normoglikemijskim uvjetima leptin može štititi makrofage od preopterećenja kolesterolom. Leptin potiče klirens hepatičkog HDL-kolesterola i smanjuje razinu HDL-kolesterola u plazmi kod miševa (335). U kontekstu hiperglikemije, leptin može umanjiti uklanjanje kolesterola iz perifernih tkiva snižavanjem HDL-kolesterola i nepovoljno utjecati na lokalnu ravnotežu kolesterola u bolesnika s ŠBT2 (336).

Ostali bitni učinci leptina uključuju regulaciju imunološkog sustava, hematopoeze, angiogeneze i razvoj kostiju (337). Aplikacija leptina normalizira suprimirani imunološki sustav povezan s pothranjenošću i nedostatkom leptina (338). Ima važnu ulogu u razvoju kostiju obzirom da je njegova aplikacija u leptin-manjkavih *Lepob/Lepob* miševa dovela do povećanja koštane mase unatoč hiperkortizolemiji i hipogonadizmu (339). Na leptin reagiraju neuroni u venteromedijalnoj jezgri hipotalamusa za koju se smatra da utječe na aktivnost simpatičkog živčanog sustava. Iz samo dijela navedenih funkcija jasno je da leptin ima raznoliku endokrinu funkciju pored svog djelovanja na energetske homeostazu, a kao rezultat toga danas se leptin smatra prototipom hormona masnoga tkiva (337).

### **1.5.3.2. Rezistin**

Rezistin je polipeptid od približno 12-kDa koji pripada jedinstvenoj obitelji cisteinom-bogatih C-terminalnih domena proteina, a alternativno ime mu je FIZZ3 (340). Kod glodavaca ga izlučuje bijelo masno tkivo, a izražaj mu je 15 puta veći u visceralnom nego u potkožnom masnom tkivu (341). Za razliku od glodavaca, ljudski rezistin se pretežno eksprimira u monocitima i makrofazima, a njegov izražaj u humanom masnom tkivu je uglavnom posredovan stromalnim stanicama (342, 343). Prve provedene studije sugerirale su da rezistin

ima značajan utjecaj na djelovanje inzulina, povezujući tako pretilost sa inzulinskom rezistencijom (344). Dok su neke studije pokazale pozitivne korelacije između koncentracije rezistina i otpornosti na inzulin, druge studije nisu uspjele identificirati značajnu promjenu u koncentraciji rezistina u bolesnika s inzulinskom rezistencijom i/ili ŠBT2 (345). Ipak, treba spomenuti da su prospektivne studije pokazale da osobe s povišenom osnovnom koncentracijom rezistina imaju znatno veći rizik od razvoja ŠBT2, čak i nakon prilagodbe za druge čimbenike rizika (346).

Postoji snažna pozitivna korelacija između cirkulirajućeg rezistina i koncentracije triglicerida u serumu (347). Koncentracija serumskog rezistina pozitivno korelira s koncentracijom lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL), kolesterola i triglicerida, a negativno korelira s razinom lipoproteina visoke gustoće (348, 349). Studije su pokazale i da liječenje ljudskih hepatocita s rezistinom potiče lučenje VLDL apolipoproteina B i lipida, kao i povećani sadržaj lipida unutar hepatocita. Mehanizmi kojima rezistin povećava proizvodnju VLDL-a uključuju stimulaciju aktivnosti apoB100 sinteze i mikrosomalnog trigliceridnog transfernog proteinskog djelovanja, indukciju *de novo* lipogeneze preko SREBP1 i SREBP2 putova i povećanje stabilnosti apoB100 (350). U endotelnim stanicama ljudski rezistin povećava izražaj različitih proinflammatoryh čimbenika, uključujući MCP-1, endotelin-1 i matriks metaloproteinaze, kao i adhezijske molekule kao što su ICAM-1, VCAM-1 i P-selektin (351). Također povećava proliferaciju i migraciju humanih endotelih stanica i stanica vaskularnih glatkih mišića, i povećava propusnost endotela koja potiče adheziju endotelih stanica/monocita (352, 353). Zajedno, ova otkrića ukazuju da ljudski rezistin ima važnu regulatornu ulogu u modulaciji interakcija između endotelih stanica, monocita/makrofaga i vaskularnih glatkomišićnih stanica u patogenezi i progresiji ateroskleroze.

Rezistin igra značajnu regulatornu ulogu u upalnom odgovoru (354), a makrofazi, monociti i vaskularne stanice su primarni ciljevi rezistina (355). Rezistin stimulira izražaj proinflammatoryh citokina kao što su TNF $\alpha$ , IL-6, IL-12 i MCP-1 u monocitima, makrofazima i stanicama jetre (356). Cirkulirajuća razina rezistina korelira s upalnim markerima kao što su CRP, TNF $\alpha$  i IL-6 u općoj populaciji i kod osoba s ŠBT2, koronarnom aterosklerozom, kroničnom bolesti bubrega, reumatoidnim artritismom i sepsom (346, 357).

Može se zaključiti da rezistin predstavlja značajnu molekularnu vezu između metaboličkih signala, upale i vaskularne disfunkcije čime pridonosi riziku za ŠBT2 i kardiovaskularne bolesti

### 1.5.3.3. TNF $\alpha$

TNF $\alpha$  je citokin koji je u početku opisan kao endotoksinom induciran faktor koji uzrokuje nekrozu tumora, a nakon toga istraživanja su pokazala da je identičan kaheksinu, faktoru kojeg luče makrofazi *in vitro* (358). TNF $\alpha$  je 26-kDa transmembranski protein koji se cijepa u 17-kDa biološki aktivni protein koji postiže svoje učinke putem tip I i tip II receptora. Unutar masnog tkiva izražavaju ga adipociti i stromovaskularne stanice (321). Značajnije je izražen u potkožnom, nego u visceralnom masnom tkivu (96). Masne stanice imaju obje vrste receptora. Rano uočena sposobnost TNF $\alpha$  da izazove kaheksiju u *in vivo* uvjetima dovela je do opsežnog istraživanja o ulozi u energetske homeostazi. Iako se u početku sumnjalo da ima ulogu u kaheksiji, danas se smatra da je značajan i u patogenezi inzulinske rezistencije i pretilosti. Izražaj TNF $\alpha$  je povišen kod pretilih ljudi i glodavaca, i pozitivno korelira s pretilosti i inzulinskom rezistencijom (358, 359). Iako je cirkulirajuća koncentracija TNF $\alpha$  niska u odnosu na lokalne koncentracije u tkivima, plazmatska razina TNF $\alpha$  je direktno povezana s pretilosti i otpornosti na inzulin. Kronična izloženost TNF $\alpha$  uzrokuje inzulinsku rezistenciju *in vitro* i *in vivo* (358). Tretman s neutralizirajućim topljivim receptorima TNF $\alpha$  poboljšava osjetljivost na inzulin u pretilih glodavaca, ali ne i kod ljudi. Ciljano brisanje gena za TNF $\alpha$  ili njegovih receptora značajno poboljšava osjetljivost na inzulin i smanjuje količinu neesterificiranih masnih kiselina u serumu kod pretilih glodavaca (360). Opisano je nekoliko potencijalnih mehanizama za metaboličke učinke TNF $\alpha$ . Utječe na izražaj gena u metabolički važnim tkivima kao što su jetra i masno tkivo (361). U masnom tkivu TNF $\alpha$  potiskuje gene uključene u sagorijevanje i skladištenje glukoze i neesterificiranih masnih kiselina, suprimira gene za transkripcijske faktore uključene u adipogenezu i lipogenezu te mijenja izražaj više faktora koje izlučuje masno tkivo kao što su adiponektin i IL-6 (361). U jetri TNF $\alpha$  smanjuje izražaj gena uključenih u unos glukoze te metabolizam i oksidaciju masnih kiselina, a povećava izražaj gena uključenih u *de novo* sintezu kolesterola i masnih kiselina (358). TNF $\alpha$  narušava inzulinsku signalizaciju putem aktivacije serin kinaze koja povećava fosforilaciju serina supstrata inzulinskog receptora 1 i 2, što ih čini slabim supstratom za inzulinske receptorske kinaze i povećava njihovu razgradnju (359). TNF $\alpha$  ometa inzulinsku signalizaciju i posredno povećanjem koncentracije neesterificiranih masnih kiselina u serumu (358).

TNF $\alpha$  je identificiran u endotelnim i glatkim mišićnim stanicama već od ranog intimalnog zadebljanja arterija pa sve do stadija okluzivne ateroskleroze, a odlaganje kolesterola niske gustoće u vaskularnom tkivu potiče proizvodnju TNF $\alpha$ . Mehanizmi djelovanja ovog citokina

uključuju regrutiranje upalnih stanica, promicanje štetnog remodeliranja vaskularnih glatkih mišićnih stanica i proinflatorno djelovanje koje potiče puknuće plaka (362).

TNF $\alpha$  očito utječe na više metaboličkih procesa, a moguće je da je relativni doprinos izravnih endokrinih učinaka manje značajan od neizravnih učinaka koji proizlaze iz autokrine ili parakrine modulacije neesterificiranih masnih kiselina ili hormona masnog tkiva (337).

#### **1.5.3.4. IL-6**

IL-6 je pleiotropni citokin s brojnim biološkim aktivnostima od sposobnosti stimulacije B stanica, aktivacije timocita i makrofaga do stimulacije hepatocita na proizvodnju proteina akutne faze (363, 364) IL-6 cirkulira u više glikoziliranih oblika u rasponu veličina od 22 do 27 kDa. IL-6 receptor je homologan receptoru leptina i postoji u dva oblika: kao 80 kDa-membranski oblik i otprilike 50 kDa-topivi oblik. Kompleks koji se sastoji od liganda vezanog za receptor i dvije homodimerizirane transmembranske gp130 molekule aktivira unutarstaničnu signalizaciju pomoću IL-6. Unutar masnog tkiva, IL-6 i njegov receptore izražavaju adipociti, ali i matriks (321). Izražaj i izlučivanje IL-6 je 2 do 3 puta veće u visceralnom u odnosu na potkožno masno tkivo (29). Za razliku od TNF $\alpha$ , IL-6 cirkulira u visokim koncentracijama u krvotoku, a jedna trećina cirkulirajućeg IL-6 potječe iz masnog tkiva (321). Izražaj IL-6 u masnom tkivu i cirkulirajuća razina IL-6 pozitivno korelira s tjelesnom masom i inzulinskom rezistencijom. Cirkulirajuću razinu kao i izražaj u masnom tkivu smanjuje gubitak tjelesne mase. Koncentracija IL-6 u plazmi može poslužiti kao prediktor ŠBT2 i kardiovaskularne bolesti. Genetski polimorfizam IL-6 lokusa je povezan s pretilošću, osjetljivošću na inzulini i ŠBT2 (364). Periferna primjena IL-6 dovodi do hiperlipidemije, hiperglikemije, otpornosti na inzulini, kako kod glodavaca tako i kod ljudi. IL-6 reducira inzulinsku signalizaciju u perifernim tkivima smanjenjem izražaja signalnih komponenti receptora inzulina i inducira aktivaciju citokina koji djeluju kao supresori leptina i inzulinske signalizacije (365).

Otkriveno je da je koncentracija IL-6 oko sto puta viša u intersticijskoj tekućini potkožnoga masnog tkiva nego u plazmi, što upućuje na parakrinu ulogu u masnom tkivu (366). IL-6 se otpušta prilikom kontrakcije skeletnih mišića, što uzrokuje povišenje koncentracije u serumu čak do 100 puta. IL-6 povećava proizvodnju glukoze u jetri ljudi, a neka istraživanja upućuju na zaključak da IL-6 koji se otpusti iz mišića prilikom vježbanja pridonosi proizvodnji glukoze u jetri (367). IL-6 inhibira adipogenezu te smanjuje sekreciju adiponektina (364).

Koncentracija IL-6 u serumu negativno korelira s razinom omentina-1 (308). U kontekstu koronarne bolesti, koncentracija IL-6 u serumu korelira s nepovoljnim kliničkim ishodima u bolesnika hospitaliziranih zbog nestabilne angine. Koncentracije IL-6 nisu povezane samo s težinom bolesti nego mogu poslužiti i kao prediktori naknadnih ishoda (364).

Evaluacija središnje uloge IL-6 ukazuje na složenu ulogu IL-6 u energetske homeostazi. Razina IL-6 u cerebrospinalnom likvoru negativno korelira s količinom masnog tkiva u pretilih ljudi, što sugerira na središnji nedostatak IL-6 kod pretilosti. Aplikacija IL-6 povećava potrošnju energije i smanjuje količinu masnog tkiva u glodavaca (368). S druge strane, miševi s ciljanim brisanjem IL-6 razvili su pretilost u odrasloj dobi i s njom povezane metaboličke poremećaje koji su regredirali nakon supstitucije IL-6, što ukazuje da je ova molekula uključena prije u prevenciju nego u indukciju ovih događaja (369). Sve ovo ukazuje i da IL-6 ima različitu funkciju u središnjem žičanom sustavu i na periferiji (337).

#### **1.5.3.5. RBP4**

RBP4 pripada obitelji lipokalinskih proteina koji prenose male hidrofobne molekule (370). Gen za RBP4 nalazi se na kromosomu 10(10q23-q24) u blizini regije koja je povezana s povišenim razinama glukoze u gladovanju kod europskih bijelaca (371). Ovaj gen kodira protein od 201 aminokiseline i ima molekularnu masu oko 21 kDa (372). Jetra pokazuje najveću razinu izražaja RBP4, a masno tkivo ima drugu najvišu stopu izražaja, odnosno 20-40% onog koji se nalazi u jetri (373). U masnom tkivu RBP4 je izražen u zrelih adipocitima napunjenim lipidima (374). RBP4 je transportni protein za retinol u cirkulaciji (375), a razina RBP4 u plazmi pozitivno korelira s razinom retinola (376). Kod ovog adipokina je izražen spolni dimorfizam te je tako kod muškaraca opisana njegova veća cirkulirajuća razina, a veći izražaj RBP4 mRNA u masnom tkivu pronađen kod žena u usporedbi s muškarcima (377). RBP4 spolni specifični dimorfizam je povezan s metabolizmom željeza, a iscrpljenost zaliha željeza dovodi do smanjenja cirkulirajućeg RBP4 i povećanja osjetljivosti na inzulin (378). Na razini perifernog tkiva, RBP4 može djelovati izravno vezanjem na receptore na površini stanice ili putem retinoične kiseline vežući se na njene receptore (379). Koncentracija serumskog RBP4 pozitivno korelira s ITM u pretilih osoba s ŠBT2 i osoba s ŠBT2 općenito (380).

Postoji je nekoliko varijanti gena RBP4 koje se povezuju s predispozicijom za visceralnu akumulaciju masnog tkiva. RBP4 je izražen više u visceralnom masnom tkivu nego

potkožnom, a omentalno masno tkivo važan je izvor RBP4 kod pretilih bolesnika (381). U studijama je utvrđeno da su veći opseg struka i omjer struka i bokova povezani s većom koncentracijom RBP4 i markerima sustavne upale (382). Također, povećana koncentracija cirkulirajućeg RBP4 povezana je s povećanim visceralnim sadržajem masnog tkiva (383). Značajno smanjenje tjelesne mase, postignuto prehranom, vježbom ili kirurškim zahvatom, dovodi do smanjenja razine RBP4 u cirkulaciji i izražaja u masnom tkivu (384). Promjena koncentracije RBP4 tijekom gubitka tjelesne mase značajno je povezana s visceralnim gubitkom masti, ali nije povezana s ukupnim gubitkom tjelesne masti (385). Smanjenje serumske koncentracije RBP4 postignuto tjelesnom aktivnošću dovodi do poboljšanja osjetljivosti na inzulin. Koncentracija RBP4 u serumu je povećana kod osoba s oštećenom tolerancijom glukoze, ŠBT2, a negativno korelira i s inzulinskom osjetljivošću u osoba bez ŠBT2, a koje imaju u obiteljskoj povijesti ŠBT2 (380). Cirkulirajuća koncentracija RBP4 korelira sa stupnjem inzulinske rezistencije kod tih pojedinaca, a odnos je neovisan o stupnju pretilosti (380). Uz smanjenu osjetljivost na inzulin, danas se smatra da RBP4 ima i negativan učinak na sekretornu funkciju  $\beta$ -stanica. Povećana razina cirkulirajućeg RBP4 negativno je povezana s izlučivanjem inzulina, posebno kod pretilih osoba, a identificirani su rizični aleli u genu RBP4 koji su također povezani sa smanjenom sekrecijom inzulina (386). Gubitak tjelesne mase i vježbanje smanjuju koncentraciju RBP4 kod osoba s inzulinskom rezistencijom i ŠBT2, a dolazi i do poboljšane osjetljivosti na inzulin (380). Terapija roziglitazonom također smanjuje cirkulirajuću razinu RBP4 (387). Cirkulirajuća razina RBP4 također korelira i s drugim komponentama metaboličkog sindroma (388). Veza RBP4 i metabolizma lipida je slabo razjašnjena. RBP4 je transportni protein za retinoide u cirkulaciji, a poznato je da oni stimuliraju proizvodnju VLDL u jetri što može objasniti pozitivnu korelaciju RBP4 sa trigliceridima (389). Koncentracija RBP4 pozitivno korelira s aktivnošću jetrene lipaze, čija je aktivnost povezana s koncentracijom HDL-kolesterola i koja može objasniti povezanost RBP4 s HDL-kolesterolom utvrđenu u istraživanjima (390, 391). Cirkulirajuća razina RBP4 pozitivno korelira s IMT karotidnih arterija, povišena koncentracija je nađena kod ispitanika s cerebralnim infarktom, a povezana je i s povećanim rizikom koronarne bolesti, no ova veza nije potvrđena u svim istraživanjima (392, 393, 394).

RBP4 je adipokin koji je konzistentno povezan s adipozitetom i inzulinskom rezistencijom. Postoje mnogi zbunjujući čimbenici koji utječu na predložene korelacije, od razlika u genetskoj podlozi ispitivanih populacija do spolne distribucije ispitivanih skupina (381). Usprkos tome većina kliničkih studija podupire hipotezu da RBP4 ima važnu ulogu u

pretilosti i ranoj fazi razvoja inzulinske rezistencije, ŠBT2 i drugih komponenti metaboličkog sindroma.

Danas imamo snažne dokaze da adipokini igraju ključnu ulogu u metaboličkoj homeostazi zdravih ispitanika te da su nedostaci tih čimbenika, uzrokovani adipozitetom i disfunkcijom adipocita, središnja komponenta u patogenezi konstelacije bolesti koje okružuje pretilost (337). Stoga bi bilo korisno i plodonosno definirati „masnu tajnu“ pomoću poboljšanih tehnologija, što će bez sumnje dovesti do otkrića novih adipocitokina i novih funkcija masnog tkiva. Identifikacija receptora za postojeće adipocitokine i mapiranje njihovih nizvodnih signalnih putova, posebice u kontekstu metaboličkih poremećaja, još je jedno područje istraživanja koje će možda u budućnost generirati nove terapijske ciljeve. Zbog isprepletene veze s brojnim imunološkim stanicama u glavnim metaboličkim organima potrebno je razumijevanje kako se adipokini integriraju u metaboličke i upalne reakcije na pojedinim mjestima i patološki značaj te integracije (395). Nadalje, brojne molekule izlučene iz mišića i hepatocita identificirane su kao bitni metabolički regulatori. Identifikacija te kompleksne endokrine mreže imala bi dalekosežni utjecaj na razvoj učinkovitih terapija protiv pretilosti i metaboličkih bolesti.

## 2. HIPOTEZA

Izražaj adiponektina i omentina u masnom tkivu vrata se razlikuje u potkožnom i parakarotidnom odjeljku i povezan je s njihovom razinom u serumu.

### Obrazloženje hipoteze

Naše istraživanje bilo je potaknuto rezultatima nekoliko velikih studija koji su ukazali da se osim opsega struka i povećani opseg vrata, kao mjerilo nakupljanja masti u gornjem dijelu tijela, može uzeti kao još jedan neovisan, a s visceralnim masnim tkivom, sinergistički parametar metaboličkog rizika. Rijetka su do sad bila istraživanja masnog tkiva vrata vezana uz metabolički rizik. Anatomska struktura vrata je kompleksna i masno tkivo vrata nije homogeno pa i unutar njega postoje različiti odjeljci, kako anatomski tako i metabolički. Pretpostavka je da bar dio masnog tkiva vrata djeluje kao ektopični odjeljak pa bi osim potkožnog odjeljka masnog tkiva mogao za usporedbu biti zanimljiv i perivaskularni odjeljak, posebice jer se radi o karotidnim arterijama na kojima inače procjenom debljine intime-medije možemo otkrivati rane aterosklerotske promjene. U procjeni metaboličkog profila masnog tkiva odlučili smo se za određivanje izražaja adiponektina, adipocitokina koji je dosad puno istraživan, ali ne u masnom tkivu vrata i još uvijek je jedan od najintragantnijih. Omentin je otkriven desetak godina kasnije, a izdvaja se stoga što bi prema dosadašnjim spoznajama mogao pokazivati neke sličnosti s adiponektinom.



### **3. CILJEVI RADA**

#### **OPĆI CILJ:**

- Odrediti izražaj ukupnog adiponektina i omentina-1 u različitim odjeljcima masnoga tkiva vrata i njihovu koncentraciju u serumu.

#### **SPECIFIČNI CILJEVI:**

- Ispitati pokazuje li masno tkivo vrata razlike u genskom izražaju adiponektina i omentina-1 u odnosu na anatomsku lokalizaciju .
- Ispitati povezanost svih istraživanih varijabli: izražaja adiponektina i omentina-1 u masnom tkivu vrata, koncentracije adiponektina i omentina-1 u serumu, antropometrijskih i laboratorijskih parametara te količine masnog tkiva u tijelu.
- Ispitati postoji li razlika u tkivnom izražaju i serumskoj koncentraciji ispitivanih adipokina između ispitanika podijeljenih u skupine prema prisutnosti pojedinih sastavnica metaboličkog sindroma.

## 4. MATERIJALI I METODE

### 4.1. Ispitanici i dijagnostički postupci

U istraživanje su uključeni ispitanici koji su podvrgnuti elektivnom operativnom zahvatu na vratu u Zavodu za bolesti uha, grla i nosa Kliničke bolnice Dubrava te na Odjelu za vaskularnu kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava. U istraživanje je sukcesivno uključeno ukupno 88 ispitanika, od kojih je 28 ispitanika isključeno zbog dobivenih nalaza koji su bili u suprotnosti s ključnim kriterijima, tako da je za krajnju analizu ostalo 60 ispitanika, od čega je bilo 36 žena i 24 muškarca.

Uključni kriteriji:

- dob starija od 18 godina
- ispitanici se podvrgavaju operativnom zahvatu zbog nemalighnih bolesti vrata: 1. hipertireoza koja je u trenutku operacije medikamentozno prevedena u eutireozu (Basedowljeva bolest, toksična polinodozna struma, toksični adenom), 2. nodozne strume sa simptomima pritiska na okolne strukture vrata, 3. razvojne ciste vrata i ostali benigni tumori štitnjače, doštitnih žlijezda i ostalih struktura vrata
- ispitanici se podvrgavaju karotidnoj endarterektomiji

Isključni kriteriji:

- akutne i kronične upalne bolesti
- autoimune bolesti i imunološki poremećaji u anamnezi
- kontinuirano korištenje antiinflamatornih ili imunosupresivnih lijekova
- anamneza nedavne (<3 mjeseca) traume ili kirurške procedure
- akutna ili kronična bubrežna i/ili jetrena bolest
- postavljena dijagnoza maligne bolesti u trenutku uključivanja u istraživanje
- albuminurija >30mg/g

Nakon što je ispitanicima detaljno i u potpunosti objašnjen način, cilj i detalji istraživanja, svi ispitanici su potpisali informirani pristanak prije uključivanja u istraživanje na za to predviđenom obrascu.

U svih ispitanika je učinjen klinički pregled tijekom kojeg su prikupljeni anamnestički i klinički podaci važni za uključivanje u istraživanje, nakon čega su učinjena antropometrijska mjerenja, mjerenje bioelektričnom impedancom te laboratorijska obrada.

#### **4.1.1. Antropometrijska mjerenja**

Antropometrijska mjerenja provodila su se u skladu sa standardno prihvaćenim postupcima. Tjelesna masa je vagana u laganoj odjeći, bez obuće, preciznošću od  $\pm 0.1$  kg. Tjelesna visina je mjerena u uspravnom položaju, bez cipela, skupljenih stopala, peta uza zid, ravnog pogleda, s preciznošću od  $\pm 0,5$  cm.

Opseg vrata je mjereno na sredini, između sredine cervikalne kralježnice i sredine prednje strane vrata, koristeći nerastezljivi plastični metar i pazeći da se ne stežu meka tkiva. Kod muškaraca s istaknutom laringealnom prominencijom (Adamova jabučica) mjerenje je izvršeno ispod iste. Za vrijeme mjerenja ispitanici su stajali uspravno, gledajući naprijed, sa spuštenim ramenima, ali pazeći da stav ne bude pogrbljen. Posebice se pazilo da u mjerenje ne bude obuhvaćen *musculus trapezius*. Opseg struka mjereno je na polovici između donjeg ruba rebrenog luka i vrha zdjelice dok osoba stoji sa stopalima razmaknutim oko 25 cm i natašte. Mjerenje je izvršeno bez stezanja mekih tkiva, na kraju izdaha, preciznošću od  $\pm 0,5$  cm. U skladu s istim načelima, ali dok osoba stoji skupljenih stopala, na visini najvećeg promjera mjereno je opseg bokova.

#### **4.1.2. Indeks tjelesne mase**

Najčešće rabljeno antropometrijsko mjerilo za izračunavanje stanja uhranjenosti je indeks tjelesne mase (ITM, od engl. Body Mass Index, BMI). Izračunava se tako da se tjelesna masa u kilogramima podijeli s kvadratom tjelesne visine u izražene u metrima ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

#### **4.1.3. Analiza sastava tijela**

Procjena sastava tijela mjerena je metodom analize bioelektrične impedance. Korišten je uređaj za analizu sastava tijela Genius 220 (Jawon Medical, Seoul, Republic of Korea). Analizom bioelektrične impedance, na temelju otpora koje pružaju razne vrste tkiva u tijelu, određuje se sastav tijela prema apsolutnim i relativnim količinama njegovih sastavnica: masnog tkiva, suhe tjelesne tvari i tjelesnih tekućina.

Razlika u provodljivosti električne struje ovisi o biološkim svojstvima tkiva: proporcionalna je količini vode i elektrolita, a snižena je kad je oblik stanice okrugliji. S obzirom da masno tkivo sadrži okrugle stanice i relativno manje vode nego druga tkiva poput mišića, provodljivost je snižena u skladu s porastom tjelesne mase. Sveukupna izmjerena impedanca proporcionalna je omjeru visoko provodljivog tkiva i manje provodljivog tkiva. U matematičkoj formuli za izračun koristi se aproksimacija ljudskog tijela s cilindrom. Kako bi se prevladala nesavršenost tog izračuna s obzirom na stvaran oblik ljudskog tijela, konačni model koristi se posebnom jednadžbom s korekcijama prema masi, visini, spolu i starosti.

Uređaj Genius 220 koristi metodu multifrekventne analize uz izmjeničnu struju frekvencija od 5, 50 i 250 kHz, vrlo male jakosti od 500  $\mu$ A. Radi pouzdanijeg mjerenja koristi se tetrapolarna metoda s posebnim strujnim i naponskim elektrodama. Po dvije različite elektrode u dodiru su sa svakom okrajinom što znači da se mjerenje izvodi sa sveukupno osam elektroda. Osoba tijekom mjerenja bosa stoji na uređaju dodirujući elektrode na podlozi stopalima, a dlanovima se drži za ručne elektrode. Podaci se automatski obrađuju u računalu uređaja i gotovi izmjereni parametri se izravno ispisuju. Uređaj mjeri različite parametre poput volumena tjelesnih tekućina ili mase minerala odnosno proteina, a za potrebe ovog istraživanja korišteni su masa masnog tkiva i udio masnog tkiva u ukupnoj tjelesnoj masi.

#### **4.1.4. Ultrazvučno mjerenje**

Debljina intime-medije karotidne arterije (IMT) se koristi kao surogat proširenosti ateroskleroze na krvožilnom sustavu i služi za praćenje i procjenu promjena arterijskog zida i povezanosti s kardiovaskularnim čimbenicima rizika i incidencijom kardiovaskularnih bolesti. Ultrazvučne tehnike visoke rezolucije omogućuju evaluaciju stijenke krvnih žila i mjerenje debljine IMT-a arterija kao ranog pokazatelja pretkliničke ateroskleroze. Povećan IMT udružen je s povećanim rizikom razvoja bolesti kardiovaskularnog sustava, a ispitivan je B-modom ultrazvuka u općoj populaciji u velikim studijama (396, 397) u kojima se pokazalo da i kod ispitanika iznad 65 godina bez kliničkih znakova kardiovaskularnih bolesti u trenutku mjerenja zadebljan karotidni IMT pozitivno korelira s pojavom novih kardiovaskularnih incidenata tijekom sljedećih 6 godina praćenja. IMT se u ovom istraživanju određuje sukladno „*Mannheim Carotid Intima-Media Thickness*“ konsenzusu (398). Mjerenje u ovom istraživanju vrši se ultrazvučnim aparatom model Aloka 5500 Prosound (ALOKA CO., LTD, Tokyo, Japan) koji je opremljen s 10 MHz linearnom ultrazvučnom sondom uz pomoć sistema za detekciju rubova. Ultrazvučno mjerenje sastoji se od standardiziranog skeniranja i

očitavanja mjerenih vrijednosti. Ispitanici se postavljaju u ležeći položaj s glavom rotiranom za 45 stupnjeva. Ultrazvučna visokofrekventna linearna sonda rotira se za 90 stupnjeva oko središnje linije kako bi se dobio uzdužni prikaz zajedničke karotidne arterije i karotidnog bulbosa. Debljina intime-medije je udaljenost između vodećih rubova dviju ehogenih linija. Karakterističan uzorak IMT karotidnih arterija na dvodimenzionalnom prikazu vidi se kao dvije paralelne ehogene linije odvojene s hipoehogenim prostorom. Prvu liniju čini granica lumena krvne žile i intime, a drugu granica medije i tunike adventicije. Kod svakog ispitanika učinjeno je ukupno 6 mjerenja u uzdužnoj projekciji u ležećem položaju (svaka strana tri mjerenja na daljoj stijenci karotidne arterije). Izračunata je i prosječna izmjerena vrijednost na svakoj strani tijela i prosječna vrijednost od svih projekcija sa obje karotidne arterije. Reproducibilnost mjerenja IMT procijenili smo isti ili drugi dan, ponovnim mjerenjem IMT kod 35 ispitanika od strane drugog ispitivača na istom aparatu.

#### **4.1.5. Laboratorijska obrada**

Uzorci periferne krvi dobiveni su venepunkcijom nakon prekonoćnog gladovanja, u sklopu redovite dijagnostičke obrade. Svi uzorci su kod svakog pojedinog ispitanika uzimani isti dan. Krv predviđena za biokemijske analize centrifugirana je na 1370 x g 15 minuta (35 R Rotina Hettich, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Germany). Iz tako dobivenoga seruma određena je koncentracija glukoze (fotometrijska UV metoda s heksokinazom, AU 680/AU 2700 Beckman Coulter, Brea, California, USA), C-reaktivnog proteina (imunoturbidimetrija, AU 680/AU 2700 Beckman Coulter, Brea, California, USA), lipoproteina visoke gustoće, triglicerida (enzimska fotometrijska metoda, AU 680/AU 2700 Beckman Coulter, Brea, California, USA) i inzulina (kemiluminiscencija, Advia Centaur XP, Siemens, Erlangen, Germany). HOMA indeks je izračunat prema standardnoj formuli iz vrijednosti inzulina i glukoze [ $\text{inzulin}(\mu\text{U/ml}) \times \text{glukoza}(\text{mmol/l})/22,5$ ].

Uzorak krvi za određivanje adiponektina i omentina-1 prikupljen je u epruvetu bez antikoagulansa. Odmah po uzorkovanju je centrifugiran te je serum raspoređen u alikvote i smrznut na  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Uzorci tkiva uzeti su za vrijeme operativnog zahvata. otkožno masno tkivo uzeto je na početku zahvata, a duboko masno tkivo je uzorkovano najranije kada je bilo dostupno za vrijeme operativnog zahvata. Uzorci masnog tkiva su raspoređeni u alikvote ispunjene trizolom (Trizol reagent, Invitrogen, Carlsbad, California, USA) i smrznuti na  $-80^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.1.5.1. ELISA (od eng. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)**

Određivan je ukupni adiponektin i omentin-1 pomoću enzimске imunokemijske metode (ELISA).

##### 4.1.5.1.1. Određivanje adiponektina

Za određivanje koncentracije adiponektina korišten je Human Total Adiponectin/Acrp30 Immunoassay kit (R&D Systems, McKinley Place, Minneapolis, USA) pomoću kojeg se kvantitativno odredio ukupni adiponektin. Cijeli postupak proveden je prema smjernicama proizvođača. Uzorci sa smrznutim serumom svih ispitanika odmrznuti su i sve sastavnice ELISA kita su priređene prema uputama.

##### 4.1.5.1.1.1. Kemikalije i uzorci koji su korišteni:

1. Polistirenska mikrotitarska pločica s 96 bunarića, prekrivena s mišjim monoklonalnim protutijelom na globularnu domenu adiponektina
2. Konjugat (mišje monoklonalno protutijelo na globularnu domenu adiponektina koje je konjugirano s preoksidazom).
3. Adiponektinski standard (rekombinantni humani adiponektin, liofiliziran i puferiran u proteinskoj bazi).
4. Razrijeđivač za test (puferirana proteinska baza)
5. Razrijeđivač za kalibrator (puferirana proteinska baza)
6. Pufer za ispiranje koncentrata (25-ostruko koncentrirana otopina konzerviranog puferiranog tenzida)
7. Reagens u boji A (stabilizirani hidrogen peroksid)
8. Reagens u boji B (stabilizirani kromogen-tetrametilbenzidin)
9. Stop otopina (2-N sumporna kiselina)
10. Brtvila za ploče (adhezivne trake)

Instrument: Spektrofotometrijski čitač mikrotitarskih pločica

##### 4.1.5.1.1.2. Procedura

Svi reagensi i uzorci su zagrijani na sobnu temperaturu prije upotrebe i testirani u duplikatu. Potom se razrijedilo 20 ml koncentrata pufera za ispiranje u destiliranoj vodi da bi se pripremilo 500 ml pufera za ispiranje. Obojeni reagens A i B pomješani su u jednakim

volumenima unutar 15 min od upotrebe i zaštićeni od svjetla. 200 µl smjese je bilo potrebno po bunariću. Adiponektinski standard je popunjen s 2.0 ml kalibratorskog otapala RD6-39. Ovim postupkom se dobila temeljna otopina 250 ng /ml. Pomiješan je standard da bi se osigurala potpuna rekonstitucija te se ostavilo da odstoji 15 minuta uz lagano protresanje. Potom se pipetiralo 200 µl kalibratorskog otapala RD6-39 u svaku epruvetu. Upotrijebljena je temeljna otopina da bi se stvorila dilucijska serija. Svaka epruveta je promiješana pažljivo prije idućeg prijenosa. Prikladno kalibratorsko otapalo je poslužilo kao nul standard (0 ng/ml). Nakon što su pripremljeni svi standardi, reagensi i uzorci, uklonjene su suvišne trake mikroploče te se dodalo 100 µl testnog otapala (*Assay Diluent*) RD1W u svaki bunarić. Potom je dodano 50 µl Standarda, kontrole ili uzorka po bunariću i prekriveno s adhezivnom trakom. Nakon inkubacije od 2 sata na sobnoj temperaturi aspiriran je svaki bunarić i ispran ukupno četiri puta. Nakon što je ploča osušena dodalo se 200 µl konjugata u svaki bunarić, sve je prekriveno s novom adhezivnom trakom i inkubirano 2 sata na sobnoj temperaturi. Ponovljena je aspiracija, potom dodano 200 µl otopine supstrata u svaki bunarić i inkubirano 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga je dodano 50 µl zaustavljajuće otopine (Stop otopina) u svaki bunarić. Boja u bunarićima se u pravilu promijenila iz plave u žutu te se uutar 30 minuta odredila optička gustoća unutar svakog, koristeći čitač namješten na 450 nm (STATFAX 2100, Awareness Technology, Inc., Palm City, Florida, USA). Nakon uprosječenja duplih očitavanja za standarde, kontrole i uzorke, oduzet je nul standard optičke gustoće i stvorena je standardna krivulja te su očitani rezultati.

#### 4.1.5.1.2. Određivanje omentina

Omentin-1 je određivan s Elisa Kit Human Omentin-1 (EMD Millipore Corporation, St. Charles, Missouri, USA). Cijeli postupak proveden je prema uputama proizvođača. Uzorci sa smrznutim serumom svih ispitanika odmrznuti su i sve sastavnice ELISA kita su priređene prema uputama.

##### 4.1.5.1.2.1. Kemikalije i uzoci

1. Mikrotitarska ploča (obložena prethodno titriranim usidrenim antitijelima)
2. Adhezivna ploča
3. Koncentrat pufera za ispiranje
4. Humani omentin-1 standard

5. Kontrola kvalitete 1 i 2 (otopine koje sadrže humani omentin-1 u dvije različite koncentracije, QC1 i QC2)
6. Matriks otopina (serumski matrix obrađen s 0,08%-tnim natrijevim azidom)
7. Testni pufer (0,05M fosfoferin, pH 7,4 koji sadrži 0,025 M EDTA, 0,05 Triton X-100, 0,08% natrijev azid i 0,1% BSA)
8. Protutijelo za hvatanje humanog omentina-1
9. Protutijelo za detekciju humanog omentina-1
10. Enzimska otopina (u puferu prethodno titriran konjugat streptavidin-hren peroksidaze, HRP)
11. Supstrat (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin u puferu)
12. Stop otopina (0,3M HCl)

#### 4.1.5.1.2.2. Procedura

Svi reagensi su zagrijani na sobnu temperaturu neposredno prije početka procedure. Razrijeđeni su svi uzorci 4× s puferom za ispitivanje u malim mikroepruvetama. Razrijeđen je 10× koncentrirani HRP pufer za ispiranje 10 puta miješanjem ukupnog sadržaja obje bočice sa 900 ml deionizirane ili destilirane vode. Nakon toga je uklonjen potrebiti broj traka s mikrotitarske ploče za ispitivanje. Svaki bunarić ispunjen je s 300 µl razrijeđenog pufera za pranje. Potom je odstranjen pufer za ispiranje i uklonjena preostala količina preokretanjem ploče i tapkanjem upijajućim ručnicima pazeći da se bunarići osuše prije nastavka na sljedeći korak. Dodano je 20 µl matriks otopine u bunariće, standarde i bunariće za kontrolu kvalitete, nakon čega je dodano 30 µl test pufera u prazne bunariće. Dodano je 10 µl testnog pufera na svaki od standardnih bunarića i bunariće za kontrolu kvalitete. Nakon toga je dodano u duplikatu 20 µl omentin-1 standarda redosljedom rastućih koncentracija u odgovarajuće bunariće, nakon čega je u duplikatu dodano 20 µl QC1 i QC2 u odgovarajuće bunariće. Potom je uzastopno dodano 20 µl nepoznatih uzoraka u duplikatu u preostale bunariće. Nakon ovog koraka uslijedio je prijenos otopine antitijela (1:1 mješavine antitijela za hvatanje i detekciju) u spremnik za pufer ili spremnik s reagensom i dodano je 50 µl u svaki bunarić. Ploča je prekrivena s brtvilom i inkubirana 2 sata na sobnoj temperaturi uz rotaciju u rotacijskom uređaju umjerenom brzinom (500 okretaja u minuti). Potom je uklonjeno brtvilo i ocijeđena otopina s ploče. Bunarići su isprani 3 puta s razrijeđenim puferom za ispiranje, 300 µl po bunariću po ispiranju. Nakon toga je dodano 100 µl enzimske otopine u svaki bunarić. Ploča je pokrivena sredstvom za brtvljenje i inkubirana uz umjereno mućkanje na sobnoj temperaturi 30 min na mikrotitarskoj pločici. Potom je uklonjeno brtvilo i otopina s ploče, a



bunarići su isprani 6 puta s razrijeđenim puferom za ispiranje, 300 µl po bunariću po ispiranju. Nakon toga se dodalo 100 µl otopine supstrata u svaki bunarić, ploča je pokrivena brtvilom i postavljena na tresilicu 20 minuta. Uklonjeno je brtvilo i dodano 100 µl zaustavljajuće otopine uz ručno trešenje ploče kako bi se osiguralo potpuno miješanje u svim bunarićima. Plava boja je prešla u žutu nakon zakiseljavanja, očitana je apsorbancija na 450 nm i 590 nm u čitaču (STATFAX 2100, Awareness Technology, Inc., Palm City, Florida, USA) unutar 5 minuta te je zabilježena razlika apsorpcijskih jedinica. Budući da krivulja doza-odgovor ovog testa najbolje odgovara sigmoidnom 4- ili 5-parametarskoj logističkoj jednadžbi, rezultati su izračunati odgovarajućim računalnim programom(4-PL, Cadre Technologies Inc., Denver, Colorado, USA).

#### **4.1.5.2. Metoda RNA izolacije i reverzne transkripcije**

Ukupnu staničnu RNA smo izolirali iz uzoraka masnog tkiva koristeći QIAamp RNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) prema uputstvu proizvođača. Bit metode je liza stanica reagensima koji istovremeno inhibiraju RNA-ze. RNA se od DNA i proteina odjeljuje taloženjem i ekstrakcijom s fenolom i kloroformom. Prijepis RNA u komplementarnu DNA (cDNA) napravljen je prema izvornom propisu van der Velden VH i suradnici (399). Prepisivanje (reverzna transkripcija) uključuje zagrijavanje 5 µl vodene otopine RNA kroz 10 minuta na 65°C, zatim 2 minute na -20 °C te 5 minuta na sobnoj temperaturi. Zatim se na 5 µl RNA doda 15 µl smjese (Taqman Universal PCR Master Mix) koja sadrži 2 µl 10×PCR puferII, 4 µl 25mM MgCl<sub>2</sub>, 4 µl nukleotida (10mM deoksiribonukleotid trifosfata u destiliranoj vodi, pH 7,0), enzim transkriptazu, 1 µl inhibitora RNA-za, 1 µl heksamera i 2 µl DEPC (dietilpirokarbonat) vode (Applied BioSystems by Life Technologies, Carlsbad, California, USA) te se sve stavi na 37 °C tijekom 60 minuta. Dobivena cDNA razrijeđuje se u omjeru 15 µl cDNA+15 µl destilirane H<sub>2</sub>O.

##### **4.1.5.2.1. Umnažanje cDNA i relativna kvantifikacija gena za omentin i adiponektin**

Za umnažanje cDNA pomoću lančane reakcije polimeraze s fluorescentno obilježenim oligonukleotidnim probama korišten je 7300 Real Time PCR System (Applied BioSystems by Life Technologies, Carlsbad, California, USA).

Relativna kvantifikacija, u odnosu na uzorak kalibrator, omogućena je mjerenjem fluorescencije (koja je proporcionalna količini nastalog produkta) u svakom ciklusu reakcije.

Kao kontrolni gen koristili smo GAPDH, dok su za TaqMan PCR analizu ciljnih gena korištene slijedeće početnice: AB Hs00605917\_m1 za adiponektin (Applied BioSystems by Life Technologies, Carlsbad, California, USA), AB Hs00914745\_m1 za omentin-1 (Applied BioSystems by Life Technologies, Carlsbad, California, USA).

Za PCR reakciju korišten je volumen od 25  $\mu$ l smjese koja se sastoji od 5  $\mu$ l razrijeđene cDNA i 20  $\mu$ l smjese za PCR .

Tablica 1. Smjesa za PCR za GAPDH gen

ENF1003	0.5 $\mu$ l
ENP1043	0.5 $\mu$ l
ENR1063	0.5 $\mu$ l
Taqman Universal PCR Master Mix	12.5 $\mu$ l
Dest. H <sub>2</sub> O	6 $\mu$ l
<b>UKUPNO</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>

Tablica 2. Smjesa za PCR za ADIPOQ gen

AB Hs00605917_m1	1.5 $\mu$ l
Taqman Universal PCR Master Mix	12.5 $\mu$ l
Dest. H <sub>2</sub> O	6 $\mu$ l
<b>UKUPNO</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>

Tablica 3. Smjesa za PCR za ITLN1 gen

Hs00914745_m1	1.5 $\mu$ l
Taqman Universal PCR Master Mix	12.5 $\mu$ l
Dest. H <sub>2</sub> O	6 $\mu$ l
<b>UKUPNO</b>	<b>20 <math>\mu</math>l</b>

Uzorke smo nanijeli na sterilnu pločicu, za GAPDH kontrolni gen u duplikatu, a za ciljani gen u triplicatu. Program umnažanja sastojao se od 2 minute na 50°C (aktivacija), 10 minuta na 95°C (aktivacija AmpliTaq Gold DNA polimeraze), i 50 PCR ciklusa (15 sekundi na 95°C-taljenje i 1 minuta na 60°C-ekstenzija).

#### 4.1.5.2.2. Evaluacija RT-PCR podataka

7300 System SDS Software RQ Study Application (Applied BioSystems by Life Technologies, Carlsbad, California, USA) korišten je za sve analize genskog izražaja. Rezultati analize prikazani su kao delta Ct vrijednosti. Delta Ct je razlika u broju ciklusa potrebnih da se količina umnoženog PCR produkta podigne iznad granične vrijednosti (*threshold value*). Stoga je delta Ct obrnuto proporcionalna količini mRNA.

## 4.2. Analiza podataka

### 4.2.1. Statističke metode

Na temelju prethodnih istraživanja i literature provedena je analiza snage testa koja je pokazala da najmanji potreban uzorak iznosi 36 ispitanika (test – t-test neovisni uzorci, veličina učinka (Cohen d) = 1, snaga = 0,90,  $\alpha = 0,05$ ). Analiza podataka provedena je programom STATISTICA 7.1. (TIBCO Software Inc., Palo Alto, California, USA). Za brojčane podatke izračunate su opisne varijable: medijan, aritmetička sredina, kvartili, standardna devijacija i raspon. Analiza podataka provedena je neparametrijskim ili parametrijskim metodama, ovisno o normalnosti distribucije ispitivanih varijabli. U svrhu testiranja normalnosti distribucije primijenjen je Kolgomorov-Smirnovljev test. P vrijednost manja od 0,05 smatra se statistički značajnom za rezultate svih analiza. Pri testiranju hipoteza o različitosti dviju skupina ispitanika ili uzoraka primijenjen je Mann-Whitney U test ili Studentov t-test. Korelacije su ispitane pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije.

### 4.3. Etička načela

Ovo istraživanje odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Dubrava te Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Istraživanje je provedeno u skladu sa svim primjenjivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje istraživanja i sigurnost osoba koje su sudjelovale u ovom znanstvenom istraživanju, uključujući Osnove dobre kliničke prakse, Helsinšku deklaraciju, Zakon o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske i Zakon o pravima pacijenata Republike Hrvatske.

## 5. REZULTATI

### 5.1. Obilježja ispitanika

Tablica 4. Dob, antropometrijska i metabolička obilježja ispitanika te udio masti u tijelu

	svi ispitanici		ispitanici s MS		ispitanici bez MS	
	medijan ± SD	raspon	medijan ± SD	raspon	medijan ± SD	raspon
dob/godine	58,5 ± 13,85	27 - 82	66 ± 11,59	33 - 82	50 ± 13,56	27 - 82
TM/kg	78,1 ± 16,3	46,5 - 144,7	84,9 ± 17,41	65 - 144,7	74,6 ± 12,25	46,5 - 100
ITM/kg/m <sup>2</sup>	27 ± 5,18	18,2 - 47,8	29,85 ± 5,21	23,6 - 47,8	25,4 ± 4,19	18,2 - 35
OV/cm	39 ± 3,7	31 - 53	40 ± 3,49	36 - 53	37 ± 2,6	31 - 42
OS/cm	97 ± 14,12	65 - 128	105 ± 9,96	81 - 128	81 ± 11,46	65 - 104
OB/cm	103 ± 11,96	82 - 155	106 ± 13,47	84 - 155	100 ± 9,69	82 - 127
glukoza/mmol/l	5,3 ± 1,26	4,1 - 12,2	5,6 ± 1,51	4,6 - 12,2	5,1 ± 0,67	4,1 - 6,7
inzulin/mmol/l	10,9 ± 8,45	3,7 - 53,8	13,1 ± 6,74	4,9 - 30,4	8,2 ± 9,51	3,7 - 53,8
HOMA	2,67 ± 2,66	0,69 - 16,02	3,16 ± 2,24	1,24 - 9,73	1,9 ± 2,86	0,69 - 16,02
CRP/mmol/l	2,45 ± 2,47	0,2 - 10	2,8 ± 2,5	0,4 - 9,9	2,7 ± 2,73	0,2 - 10
TG/mmol/l	1,51 ± 0,94	0,46 - 4,64	1,8 ± 0,92	0,95 - 4,64	1,38 ± 0,89	0,46 - 4,53
HDL-kolesterol/ mmol/l	1,24 ± 0,44	0,5 - 3,29	1,05 ± 0,52	0,5 - 3,29	1,35 ± 0,32	0,89 - 2,12
masno tkivo (masa)	28 ± 9,93	11,6 - 71,5	31,25 ± 10,1	20,4 - 71,5	25,5 ± 7,81	11,6 - 40,6
masno tkivo (%)	34,25 ± 7,41	19,3 - 49,4	36,75 ± 7	22,3 - 49,4	32,25 ± 7,56	19,3 - 43,4

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; SD - standardna devijacija; MS - metabolički sindrom*

## 5.2. Usporedba ispitanika sa i bez metaboličkog sindroma

Tablica 5. Usporedba antropometrijskih i metaboličkih odrednica, te sastava tijela kod ispitanika sa metaboličkim sindromom i bez njega

	suma rangova MS+ (n=29)	suma rangova MS-(n=31)	p
TM	1.104,0	726,0	0,001
ITM	1.064,0	706,0	0,001
OV	1.202,0	628,0	0,000*
OS	1.227,0	603,0	0,000*
OB	1.028,0	801,0	0,033
glukoza	1.098,5	671,5	0,001
inzulin	1.059,0	652,0	0,002
HOMA	1.087,0	624,0	0,000*
CRP	898,0	872,0	0,379
TG	1.034,0	736,0	0,001
HDL-kolesterol	623,0	1.147,0	0,001
masno tkivo (masa)	953,0	642,0	0,000*
masno tkivo (%)	821,0	775,0	0,189

*Mann-Whitney U test*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; MS – metabolički sindrom; \* -  $p < 0,001$*

U skupini ispitanika s metaboličkim sindromom je bilo 29 ispitanika a u skupini bez metaboličkog sindroma 31 ispitanik. Kad smo usporedili antropometrijska i metabolička obilježja ispitanika sa i bez MS pronašli smo statistički značajnu razliku u gotovo svim promatranim parametrima, što je vidljivo u tablici iznad.

### 5.3. Korelacijska analiza

#### 5.3.1. Povezanost demografskih i antropometrijskih obilježja i sastava tijela na cijelom uzorku

Tablica 6. Povezanost demografskih i antropometrijskih obilježja i sastava tijela na cijelom uzorku

	TM	ITM	OV	OS
TM	1,000	0,812	0,628	0,698
ITM	0,812	1,000	0,380	0,747
OV	0,628	0,380	1,000	0,639
OS	0,698	0,747	0,639	1,000
OB	0,662	0,797	0,233	0,659
glukoza	0,319	0,328	0,311	0,388
inzulin	0,378	0,557	0,253	0,562
HOMA	0,405	0,539	0,319	0,550
CRP	0,218	0,243	0,146	0,281
TG	0,352	0,326	0,208	0,369
HDL-kolesterol	-0,418	-0,118	-0,569	-0,393
masno tkivo (masa)	0,641	0,813	0,392	0,676
masno tkivo (%)	0,477	0,751	-0,061	0,381

Tablica 6. Povezanost demografskih i antropometrijskih obilježja i sastava tijela na cijelom uzorku - nastavak

	OB	glukoza	inzulin	HOMA	CRP
TM	0,662	0,319	0,378	0,405	0,218
ITM	0,797	0,328	0,557	0,539	0,243
OV	0,233	0,311	0,253	0,319	0,146
OS	0,659	0,388	0,562	0,550	0,281
OB	1,000	0,196	0,394	0,341	0,246
glukoza	0,196	1,000	0,595	0,747	0,255
inzulin	0,394	0,595	1,000	0,963	0,288
HOMA	0,341	0,747	0,963	1,000	0,288
CRP	0,246	0,255	0,288	0,288	1,000
TG	0,255	0,183	0,381	0,322	-0,042
HDL-kolesterol	-0,146	-0,150	-0,076	-0,116	-0,111
masno tkivo (masa)	0,676	0,352	0,605	0,581	0,307
masno tkivo (%)	0,381	0,251	0,501	0,457	0,314

Tablica 6. Povezanost demografskih i antropometrijskih obilježja i sastava tijela na cijelom uzorku - nastavak

	TG	HDL-kolesterol	masno tkivo (masa)	masno tkivo (%)
TM	0,352	-0,418	0,641	0,477
ITM	0,326	-0,118	0,813	0,751
OV	0,208	-0,569	0,392	-0,061
OS	0,369	-0,393	0,676	0,381
OB	0,255	-0,146	0,676	0,381
glukoza	0,183	-0,150	0,352	0,251
inzulin	0,381	-0,076	0,605	0,501
HOMA	0,322	-0,116	0,581	0,457
CRP	-0,042	-0,111	0,307	0,314
TG	1,000	-0,358	0,313	0,256
HDL-kolesterol	-0,358	1,000	-0,092	0,145
masno tkivo (masa)	0,313	-0,092	1,000	0,683
masno tkivo (%)	0,256	0,145	0,683	1,000

*Spearman (crveno označene korelacije su statistički značajne)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće*

Analiza na cijelom uzorku pokazala je očekivane statistički značajne pozitivne korelacije između pojedinih antropometrijskih parametara, ali i antropometrijskih i metaboličkih parametara koji ukazuju na povišeni metabolički rizik.

### 5.3.2. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na cijelom uzorku

Tablica 7. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na cijelom uzorku

	P/ADIPO	D/ADIPO	adiponektin u serumu
TM	0,312	0,332	-0,500
ITM	0,196	0,197	-0,331
OV	0,408	0,241	-0,437
OS	0,261	0,166	-0,394
OB	0,147	0,183	-0,199
glukoza	0,162	-0,156	-0,349
inzulin	-0,050	0,073	-0,361
HOMA	-0,024	0,006	-0,410
CRP	0,070	0,111	-0,117
TG	0,131	0,084	-0,417
HDL-kolesterol	-0,263	-0,299	0,415
masno tkivo (masa)	0,034	0,032	-0,132
masno tkivo (%)	-0,177	0,014	-0,149

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p > 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja adiponektina je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njim imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

U istraživanju je nađena statistički značajna negativna korelacija izražaja adiponektina i u potkožnom i u parakarotidnom masnom tkivu vrata s tjelesnom masom kao i statistički značajna negativna korelacija serumске koncentracije adiponektina s tjelesnom masom.



Izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu i serumska koncentracija adiponektina pokazuju statistički značajnu negativnu korelaciju s opsegom vrata, dok nije nađena značajna korelacija opsega vrata sa izražajem adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu. Serumska koncentracija adiponektina statistički značajno negativno korelira s opsegom struka, dok statistički značajne korelacije izražaja adiponektina u masnom tkivu s opsegom struka nisu utvrđene. Serumska koncentracija adiponektina statistički značajno negativno korelira s glukozom, inzulinom, HOMA indeksom i trigliceridima a pozitivno s HDL-kolesterolom. Nije nađena korelacija tkivnog izražaja ni serumske koncentracije adiponektina sa masom ni sa postotkom masnog tkiva u tijelu.

### 5.3.3. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima ženskog spola

Tablica 8. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima ženskog spola

	P/ADIPO	D/ADIPO	adiponektin u serumu
TM	0,053	0,160	-0,455
ITM	-0,047	-0,002	-0,370
OV	0,082	-0,079	-0,405
OS	-0,034	-0,094	-0,427
OB	0,149	0,089	-0,372
glukoza	-0,024	-0,228	-0,401
inzulin	-0,255	-0,086	-0,481
HOMA	-0,245	-0,141	-0,507
CRP	0,115	0,140	-0,346
TG	0,271	0,196	-0,394
HDL-kolesterol	-0,104	-0,277	0,185
masno tkivo (masa)	0,030	-0,022	-0,308
masno tkivo (%)	-0,108	0,005	-0,316

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja adiponektina je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njim imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata*

(glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)

Kada je uzorak ispitanika podijeljen prema spolu kod žena nije nađena statistički značajna korelacija tkivnog izražaja adiponektina ni s jednom mjerenom varijablom. Našli smo statistički značajnu negativnu korelaciju serumske koncentracije adiponektina s tjelesnom masom, ITM, opsegom vrata, opsegom struka i opsegom bokova. Serumska koncentracija adiponektina statistički značajno negativno korelira s glukozom, inzulinom i HOMA indeksom. Negativna, statistički značajna korelacija je nađena i između serumske koncentracije adiponektina i triglicerida, dok za razliku od testiranja na cijelom uzorku ovdje nismo našli statistički značajnu korelaciju sa HDL-kolesterolom.

#### 5.3.4. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima muškog spola

Tablica 9. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem adiponektina u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima muškog spola

	P/ADIPO	D/ADIPO	adiponektin u serumu
TM	0,500	0,671	-0,573
ITM	0,610	0,720	-0,489
OV	0,485	0,579	-0,324
OS	0,501	0,623	-0,227
OB	0,157	0,547	-0,030
glukoza	0,569	0,163	-0,397
inzulin	0,248	0,503	-0,310
HOMA	0,270	0,368	-0,420
CRP	-0,009	0,202	0,157
TG	-0,159	-0,247	-0,426
HDL-kolesterol	-0,159	-0,113	0,487
masno tkivo (masa)	0,266	0,374	-0,055
masno tkivo (%)	0,226	0,489	-0,397

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja adiponektina je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njim imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Kod ispitanika muškog spola je nađena statistički značajna negativna korelacija između izražaja adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata i tjelesne mase, opsega vrata i opsega struka. Za sve navedene parametre, ali i za opseg bokova, je nađena statistički značajna negativna korelacija s izražajem adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata.

Sa serumskom koncentracijom adiponektina statistički značajno negativno koreliraju tjelesna masa, ITM, HOMA indeks i trigliceridi. HDL-kolesterol statistički značajno pozitivno korelira sa serumskom koncentracijom adiponektina.

### 5.3.5. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na cijelom uzorku

Tablica 10. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na cijelom uzorku

	P/ITLN1	D/ITLN1	omentin u serumu
TM	0,036	0,181	-0,464
ITM	0,038	0,151	-0,305
OV	0,078	0,172	-0,211
OS	0,075	0,145	-0,196
OB	0,023	0,258	-0,189
glukoza	0,165	-0,028	-0,182
inzulin	0,299	0,065	-0,203
HOMA	0,267	0,022	-0,204
CRP	0,145	0,140	0,076
TG	0,144	-0,034	-0,583
HDL-kolesterol	-0,114	-0,166	0,186
masno tkivo (masa)	0,082	0,089	-0,196
masno tkivo (%)	0,094	-0,040	-0,265

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja omentina-1 je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njim imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Analiza učinjena na cijelom uzorku ispitanika nije pokazala statistički značajne korelacije između izražaja omentina-1 u tkivima ni s jednom analiziranom varijablom. Serumaska koncentracija omentina-1 statistički značajno negativno korelira sa tjelesnom masom, ITM i trigliceridima.

### 5.3.6. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na ispitanicima ženskog spola.

Tablica 11. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na ispitanicima ženskog spola

	P/ITLN1	D/ITLN1	omentin u serumu
TM	0,538	0,385	-0,300
ITM	0,424	0,648	-0,037
OV	0,451	0,320	0,157
OS	0,249	0,671	0,148
OB	-0,152	0,799	0,112
glukoza	0,502	-0,270	-0,055
inzulin	0,688	0,236	0,213
HOMA-IR	0,679	0,055	0,103
CRP	0,713	-0,096	0,569
TG	-0,222	-0,500	-0,402
HDL-kolesterol	-0,349	0,143	0,131
masno tkivo (masa)	0,350	0,291	0,189
masno tkivo (%)	0,406	-0,009	-0,174

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja omentina-1 je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njim imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Kod ispitanica s izražajem omentina-1 u potkožnom masnom tkivu statistički značajno negativno korelira tjelesna masa. Statistički značajnu negativnu korelaciju s ovim odjeljkom pokazuju CRP, inzulin i HOMA indeks. S izražajem omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu statistički značajno negativno korelira ITM, opseg struka i opseg bokova. Sa serumskom

koncentracijom omentina-1, izuzev CRP-a, ni jedna analizirana varijabla nije pokazala statistički značajnu povezanost.

### 5.3.7. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom – analiza na ispitanicima muškog spola.

Tablica 12. Povezanost antropometrijskih i metaboličkih parametara i količine masnog tkiva u tijelu s izražajem omentina-1 u masnom tkivu vrata i njegovom serumskom koncentracijom - analiza na ispitanicima muškog spola

	P/ITLN1	D/ITLN1	omentin u serumu
TM	-0,072	0,084	-0,590
ITM	-0,021	-0,169	-0,469
OV	0,074	0,116	-0,546
OS	0,054	-0,153	-0,425
OB	0,048	0,006	-0,337
glukoza	0,009	0,105	-0,242
inzulin	0,075	-0,023	-0,395
HOMA-IR	0,072	-0,053	-0,374
CRP	-0,062	0,233	-0,361
TG	0,332	0,178	-0,710
HDL-kolesterol	-0,084	-0,383	0,265
masno tkivo (masa)	0,030	-0,032	-0,442
masno tkivo (%)	-0,009	-0,120	-0,415

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja omentina-1 je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njim imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; OB - opseg bokova; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Analiza na ispitanicima muškog spola pokazala je statistički značajnu negativnu korelaciju izražaja omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu i HDL-kolesterola. Sa serumskom koncentracijom omentina statistički značajno negativno koreliraju svi mjereni

antropometrijski parametri, inzulin, HOMA indeks, trigliceridi, ukupna masa masnog tkiva kao i postotak masnog tkiva u tijelu.

### 5.3.8. Povezanost između tkivnog izražaja adiponektina i omentina-1 u masnom tkivu vrata i njihove serumske koncentracije

Tablica 13. Povezanost tkivnog izražaja adiponektina i omentina-1 u masnom tkivu vrata međusobno i njihove serumske koncentracije – analiza na cijelom uzorku

	P/ADIPO	D/ADIPO	P/ITLN1	D/ITLN1	adiponektin u serumu	omentin u serumu
P/ADIPO	1,000	0,287	0,494	0,197	-0,256	-0,203
D/ADIPO	0,287	1,000	0,182	0,639	-0,158	0,022
P/ITLN1	0,494	0,182	1,000	-0,004	0,021	0,105
D/ITLN1	0,197	0,639	-0,004	1,000	0,192	0,020
adiponektin u serumu	-0,256	-0,158	0,021	0,192	1,000	0,490
omentin u serumu	-0,203	0,022	0,105	0,020	0,490	1,000

*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja adiponektina i omentina-1 je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njima imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu statistički značajno pozitivno korelira s izražajem omentina-1 u potkožnom masnom tkivu, a i izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata korelira pozitivno s izražajem omentina-1 u istom odjeljku. Serumska koncentracija adiponektina pozitivno korelira sa serumskom koncentracijom omentina-1.

### 5.3.9. CIMT

Tablica 14. Povezanost CIMT s mjerenim antropometrijskim i metaboličkim parametrima te sa tkivnim izražajem i serumskom koncentracijom adiponektina i omentina - analiza na cijelom uzorku

	CIMTd	CIMT I	CIMT prosjek
TM	0,287	0,287	0,332
ITM	0,291	0,295	0,339
OV	0,255	0,213	0,273
OS	0,479	0,383	0,493
glukoza	-0,121	-0,026	-0,013
inzulin	0,144	0,197	0,230
HOMA-IR	0,100	0,139	0,187
CRP	0,059	0,100	0,105
TG	0,222	0,296	0,276
HDL-kolesterol	-0,234	-0,197	-0,242
masno tkivo (masa)	0,228	0,249	0,320
masno tkivo (%)	0,067	0,205	0,170
P/ADIPO	0,091	0,094	0,081
D/ADIPO	0,127	0,245	0,132
P/ITLN1	0,072	0,292	0,195
D/ITLN1	0,077	-0,027	-0,049
adiponektin u serumu	-0,029	-0,038	-0,017
omentin-1 u serumu	0,056	-0,110	-0,036

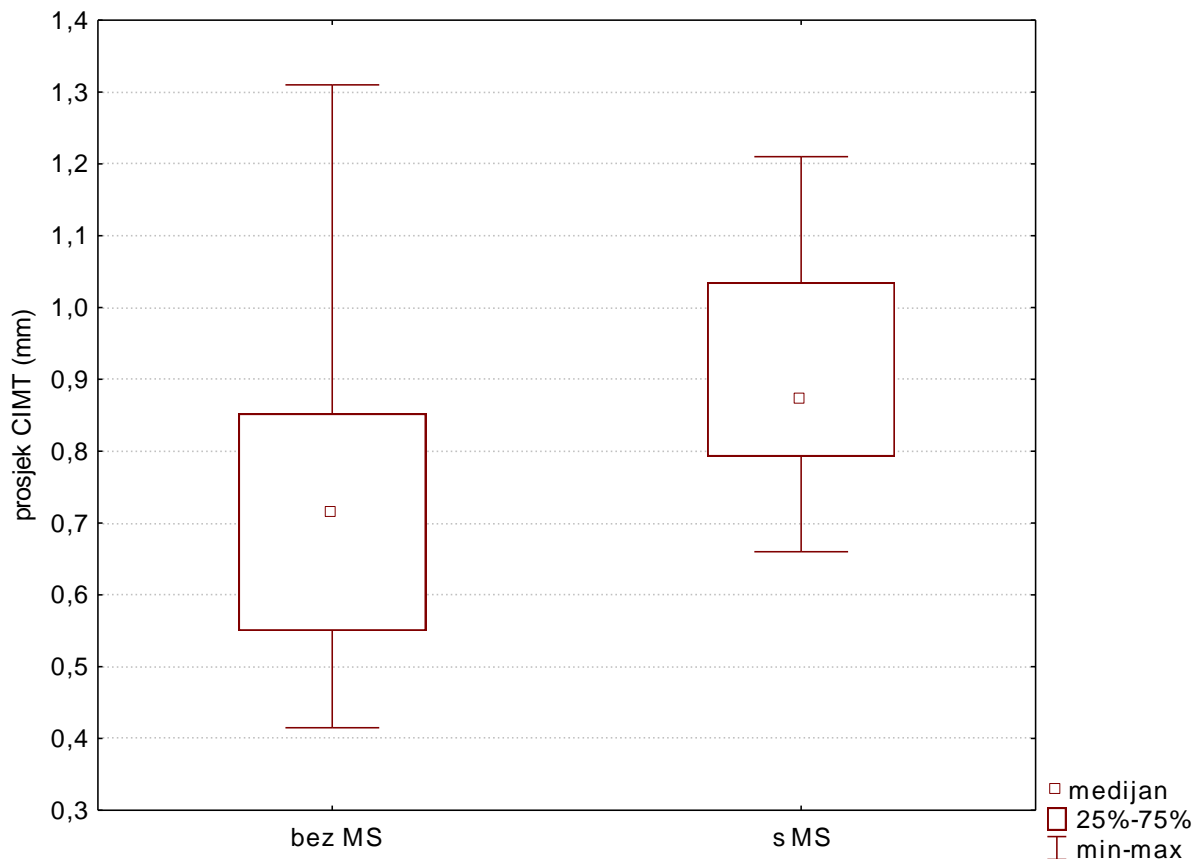
*Spearman (Crveno označene korelacije su statistički značajne,  $p < 0,05$ . Rezultat analize genskog izražaja adiponektina i omentina-1 je dobiven u recipročnoj vrijednosti te korelacije s njima imaju predznak suprotan prikazanome u tablici)*

*TM - tjelesna masa; ITM - indeks tjelesne mase; OV - opseg vrata; OS - opseg struka; HOMA - HOMA indeks, indeks procjene inzulinske rezistencije homeostatskim modelom; CRP - C-reaktivni protein; TG - trigliceridi; HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće; P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); CIMTd - prosječna vrijednost debljine intime-medije*



*zajedničke karotidne arterije na desnoj strani; CIMTl- prosječna vrijednost debljine intime-medije zajedničke karotidne arterije na lijevoj strani; CIMT prosjek - prosječna vrijednost debljine intime-medije obiju zajedničkih karotidnih arterija*

U istraživanju smo pronašli statistički značajnu pozitivnu korelaciju CIMT s tjelesnom masom, ITM i opsegom struka. Navedene korelacije se odnose na prosječnu vrijednost CIMT na lijevoj i desnoj karotidnoj arteriji te na zajedničku prosječnu vrijednost CIMT obje karotidne arterije. Nije nađena statistički značajna korelacija s opsegom vrata ni s ostalim ispitivanim čimbenicima metaboličkog rizika, a izuzetak je korelacija triglicerida i prosječne vrijednosti CIMT lijeve zajedničke karotidne arterije. Nije nađena statistički značajna korelacija CIMT ni sa tkivnim izražajem ni sa serumskom koncentracijom adiponektina ni omentina-1.



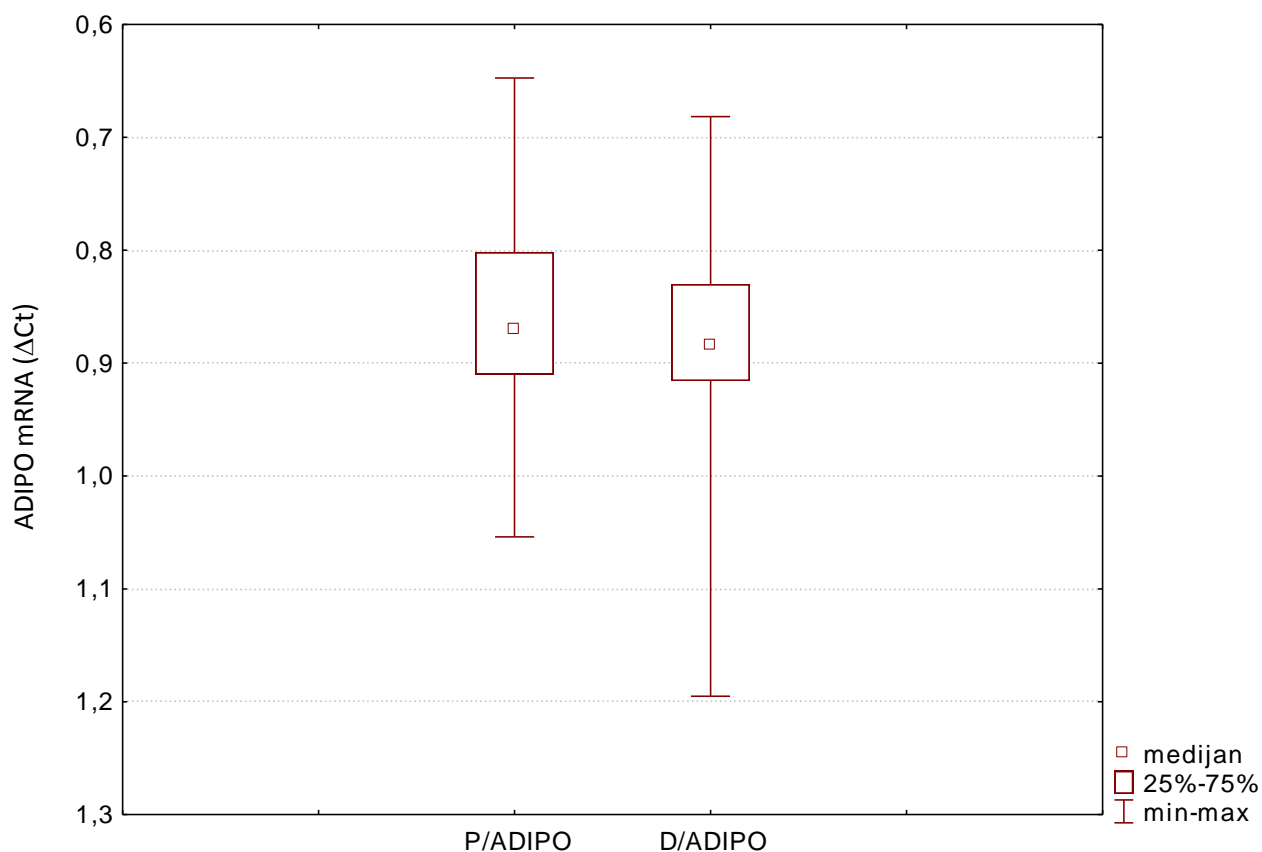
Slika 2. Usporedba prosječne vrijednosti CIMT kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i sa metaboličkim sindromom

prosjeak CIMT –prosječna vrijednost debljine intime-medije zajedničkih karotidnih arterija s lijeve i desne strane; MS – metabolički sindrom

Našli smo statistički značajno nižu prosječnu vrijednost CIMT-a kod ispitanika bez MS u odnosu na ispitanike s MS.

## 5.4. Analiza izražaja adiponekina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata

### 5.4.1. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza na cijelom uzorku



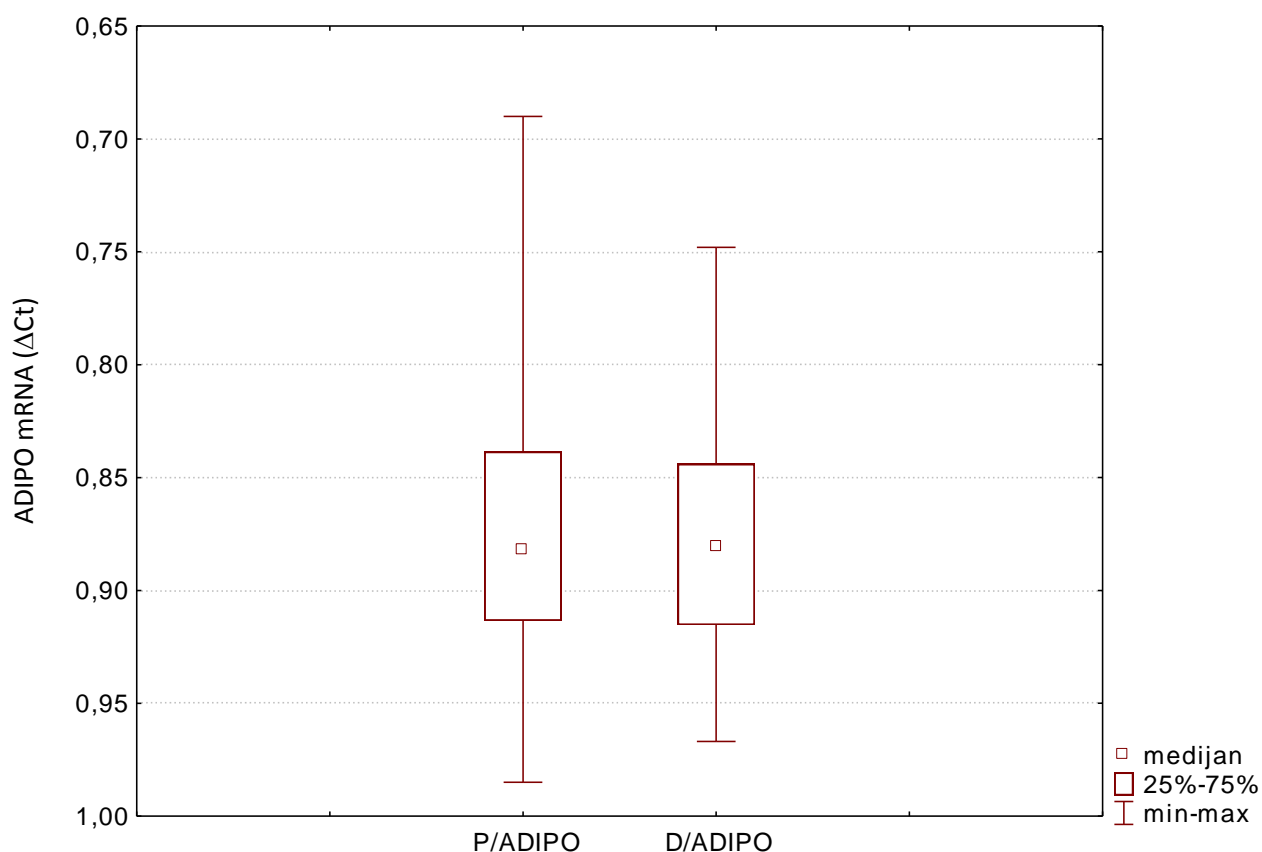
Slika 3. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata na cijelom uzorku

*ADIPO mRNA* – glasnička ribonukleinska kiselina za adiponektinski gen; *Ct* - prag ciklusa; *P/ADIPO* - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); *D/ADIPO* - izražaj adiponektina u

*parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

U istraživanju smo našli statistički značajno veći izražaj adiponektina u potkožnom u odnosu na parakarotidno masno tkivo vrata ( $p = 0,044$ ).

#### **5.4.2. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata - analiza kod ispitanika s metaboličkim sindromom**

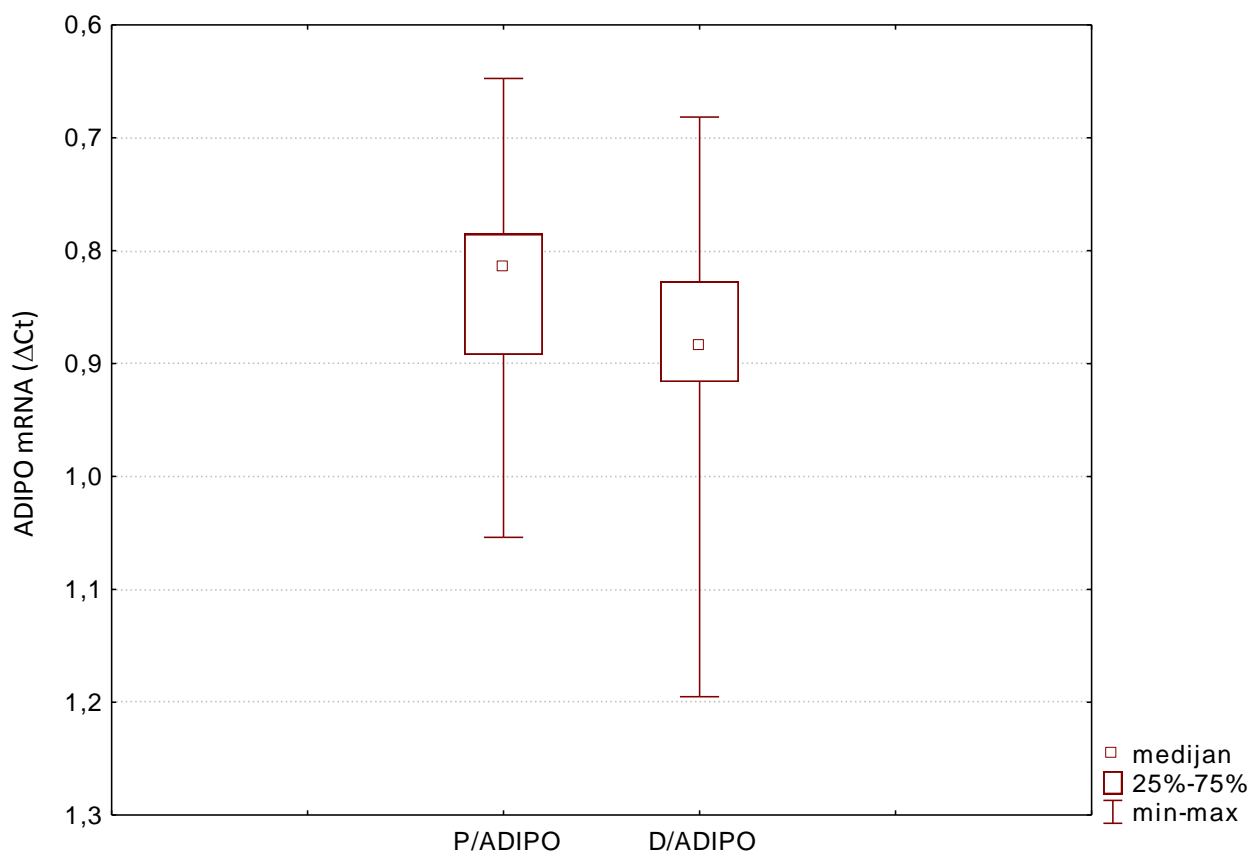


Slika 4. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika s metaboličkim sindromom

*ADIPO mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina za adiponektinski gen; Ct - prag ciklusa; P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

U skupini ispitanika s metaboličkim sindromom nismo našli statistički značajnu razliku između izražaja adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata ( $p=0,637$ ).

### 5.4.3. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza kod ispitanika bez metaboličkog sindroma



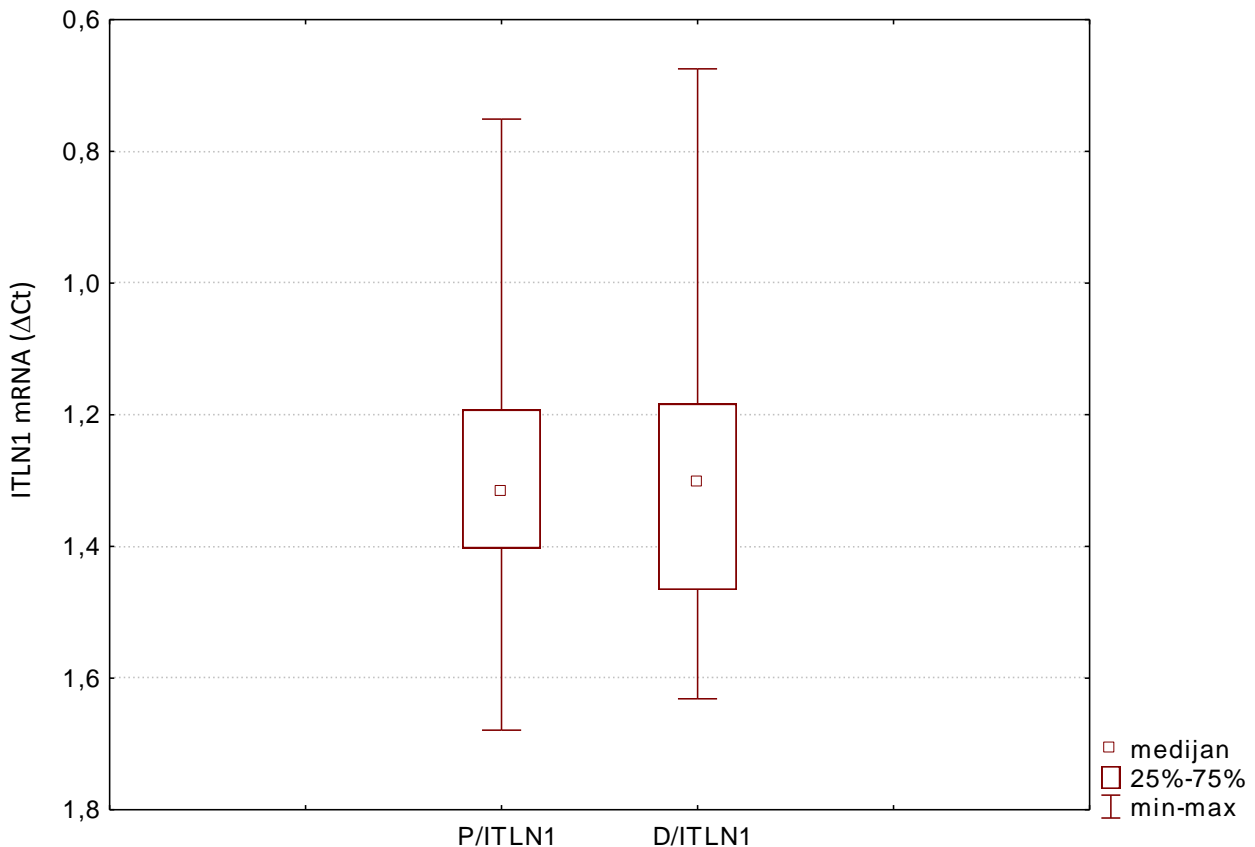
Slika 5. Izražaj adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika bez metaboličkog sindroma

*ADIPO mRNA* - glasnička ribonukleinska kiselina za adiponektinski gen; *Ct* - prag ciklusa; *P/ADIPO* - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); *D/ADIPO* - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)

Kod ispitanika bez MS je nađen statistički značajno veći izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu u odnosu na parakarotidno masno tkivo vrata ( $p=0,016$ ).

## 5.5. Analiza izražaja omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata

### 5.5.1. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza na cijelom uzorku

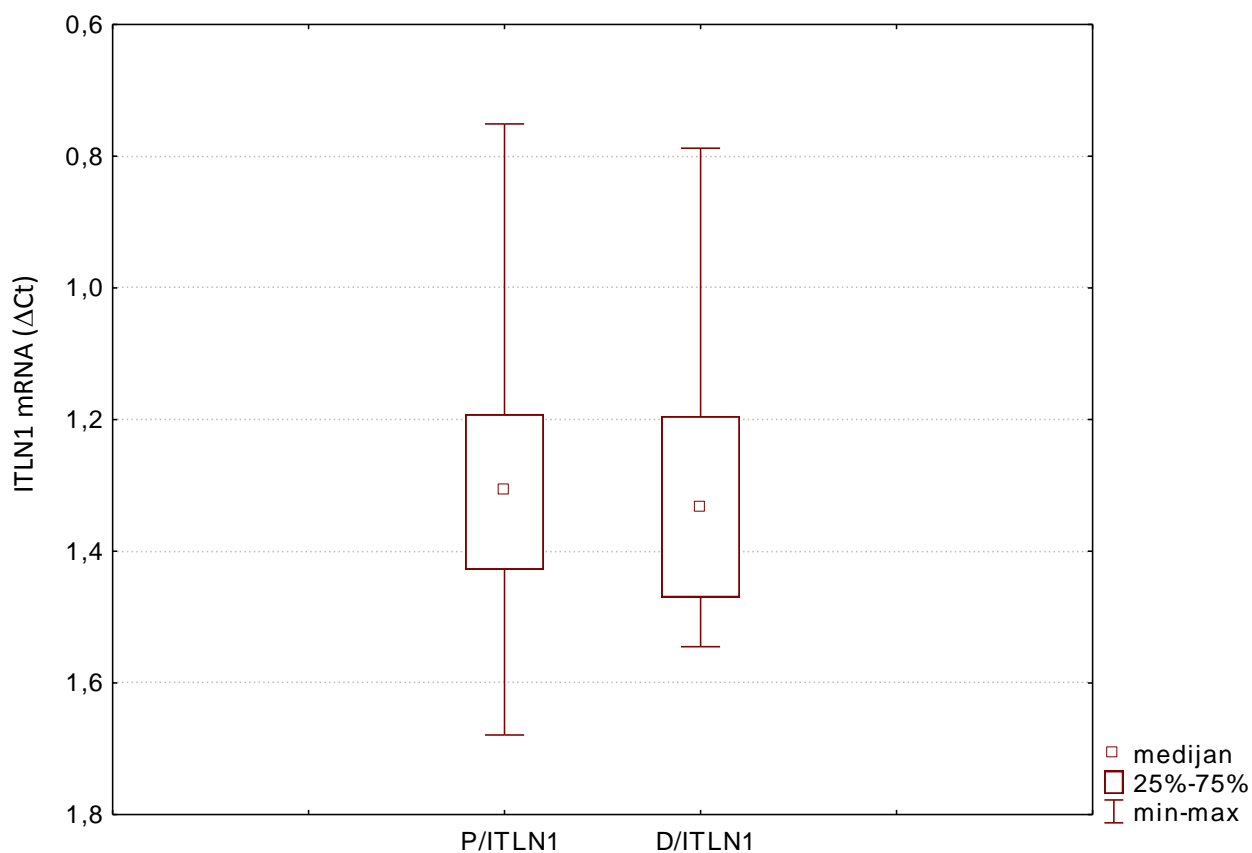


Slika 6. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata na cijelom uzorku

*ITLN1 mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina za omentin-1; Ct - prag ciklusa ; P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Usporedbom izražaja omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata na cijelom uzorku ispitanika nismo našli statistički značajnu razliku ( $p=0,494$ ).

### 5.5.2. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza kod ispitanika s metaboličkim sindromom

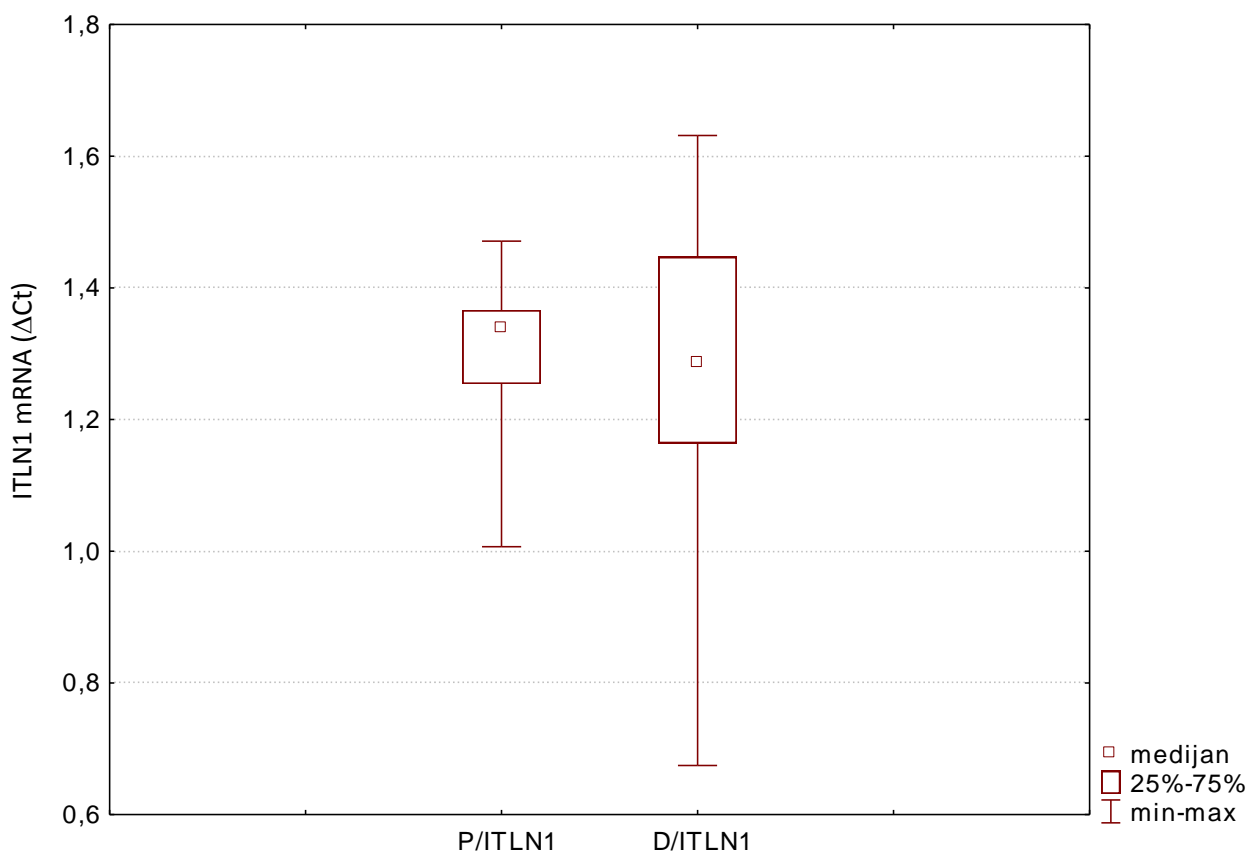


Slika 7. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika s metaboličkim sindromom

*ITLN1 mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina za omentin-1; Ct - prag ciklusa ; P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Usporedbom izražaja omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika s metaboličkim sindromom nismo našli statistički značajnu razliku ( $p=0,872$ ).

### 5.5.3. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata – analiza kod ispitanika bez metaboličkog sindroma



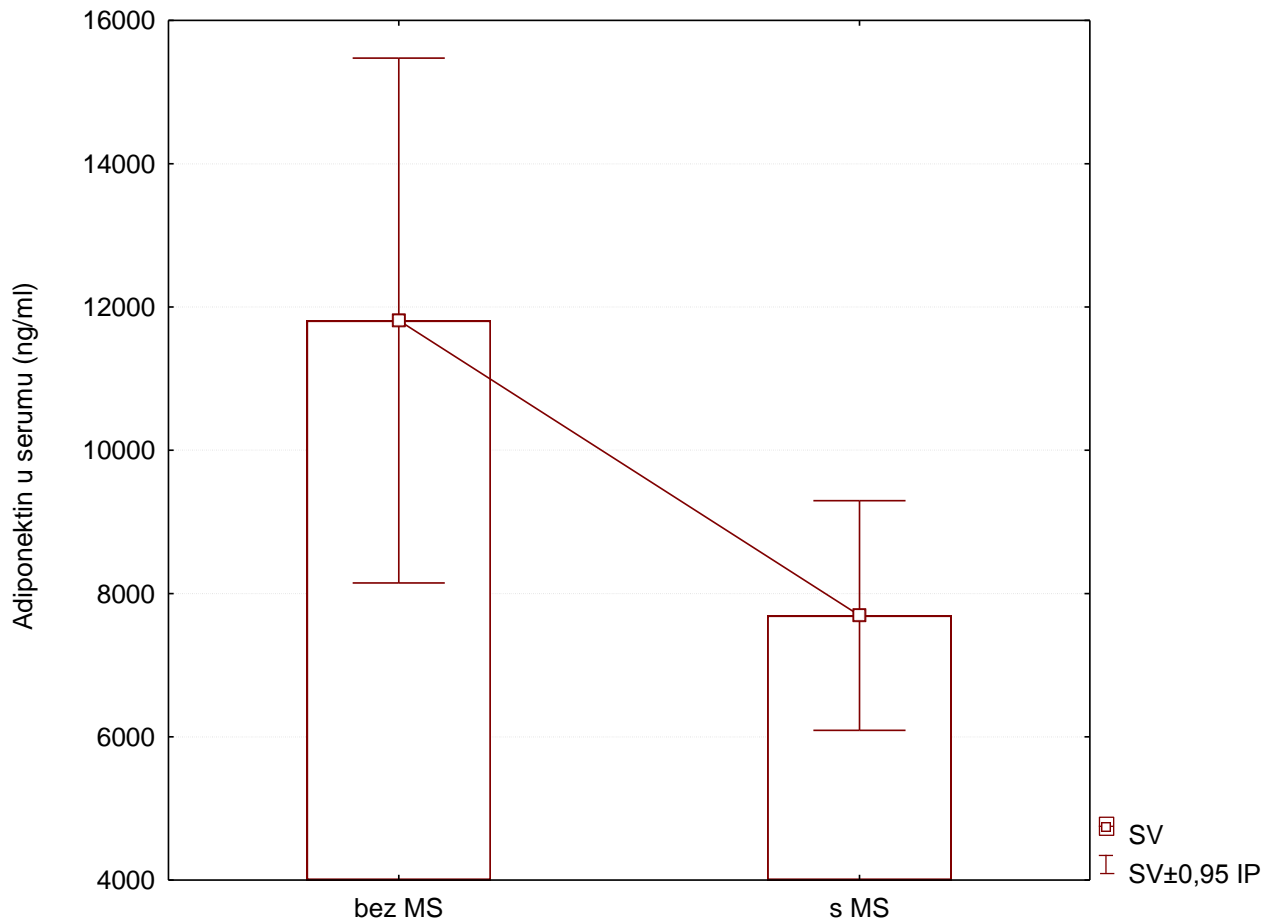
Slika 8. Izražaj omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika bez metaboličkog sindroma

*ITLN1 mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina za omentin-1; Ct - prag ciklusa ; P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti)*

Usporedbom izražaja omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata kod ispitanika bez metaboličkog nismo našli statistički značajnu razliku ( $p=0,374$ ).

## 5.6. Analiza serumskih koncentracija adiponektina i omentina-1

### 5.6.1. Analiza serumskih koncentracija adiponektina kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom



Slika 9. Serumske koncentracije adiponektina kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom

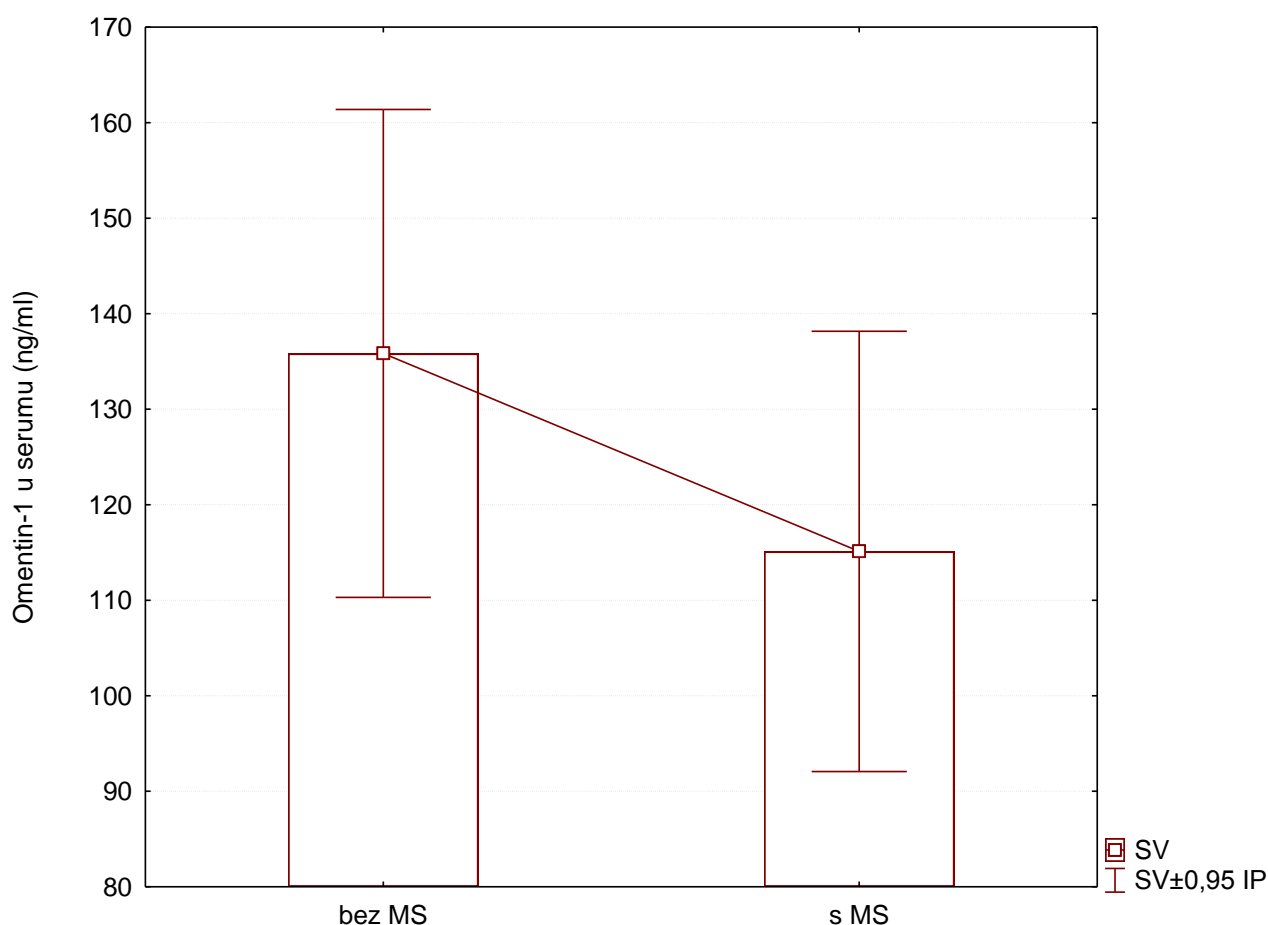
*MS – metabolički sindrom; SV – srednja vrijednost; IP – interval pouzdanosti*

Kod ispitanika bez metaboličkog sindroma našli smo statistički značajno više koncentracije adiponektina u serumu ( $p=0,024$ ) nego kod ispitanika s metaboličkim sindromom.

Prosječna vrijednost koncentracije adiponektina u serumu kod ispitanika bez metaboličkog sindroma je bila 11.811,55 ng/ml (95% IP: 8.360,09 - 15.263,00), a kod ispitanika s metaboličkim sindromom 7.693 ng/ml (95% IP: 6.186,58 - 9.200,67).



### 5.6.2. Analiza serumskih koncentracija omentina-1 kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom



Slika 10. Serumske koncentracije omentina-1 kod ispitanika bez metaboličkog sindroma i ispitanika s metaboličkim sindromom

*MS – metabolički sindrom; SV – srednja vrijednost; IP – interval pouzdanosti*

Nismo našli statistički značajnu razliku u serumskim koncentracijama omentina-1 kod ispitanika bez metaboličkog sindroma u odnosu na ispitanike s metaboličkim sindromom ( $p=0,223$ ).

Prosječna vrijednost koncentracije omentina-1 u serumu kod ispitanika bez metaboličkog sindroma je bila 135,84 ng/ml (95% IP: 111,77 – 159,90), a kod ispitanika s metaboličkim sindromom je bila 115,11 ng/ml (95% IP: 93,44 - 136,77).

## 5.7. Povezanost izražaja adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata i njegove koncentracije u serumu s pojedinim sastavnicama metaboličkog sindroma

Tablica 15. Tkivni izražaj i serumska koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti ŠBT2

	suma rangova ŠBT2+ (n=13)	suma rangova ŠBT2- (n=47)	P
P/ADIPO	444	186	0,101
D/ADIPO	604	201	0,788
adiponektin u serumu	1428	777	0,079

*Mann-Whitney U test*

*P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); ŠBT2 - šećerna bolest tip 2*

Ispitanike smo podjelili u dvije skupine ovisno imaju li ili nemaju ŠBT2 te smo usporedili postoji li razlika u izražaju adiponektina u pojedinim odjeljcima masnog tkiva vrata i u serumu između skupina. Ni za jednu varijablu nije nađena statistički značajna razlika među ovim skupinama.

Tablica 16. Tkivni izražaj i serumska koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti triglicerida u serumu

	suma rangova TG<1,7 (n=26)	suma rangova TG>1,7 (n=24)	P
P/ADIPO	449,000	497,000	0,752
D/ADIPO	577,000	504,000	0,775
adiponektin u serumu	<b>1.193,000</b>	<b>518,000</b>	<b>0,011</b>

*Mann-Whitney U test*

*P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); TG - trigliceridi*

Kada su bolesnici podijeljeni u skupine ovisno imaju li urednu ili povišenu razinu triglicerida nije nađena statistički značajna razlika u izražaju adiponektina u tkivima, ali je nađena statistički značajna razlika u serumskoj koncentraciji adiponektina između skupina ispitanika.

Tablica 17. Tkivni izražaj i serumska koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti HDL-kolesterola u serumu

	suma rangova HDL-kolesterol<1,03 (n=45)	suma rangova HDL-kolesterol>1,03 (n=15)	p
P/ADIPO	608,000	338,000	0,045
D/ADIPO	766,000	315,000	0,146
adiponektin u serumu	1.470,000	241,000	0,002

*Mann-Whitney U test*

*P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); HDL-kolesterol –kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće*

Kod ispitanika s urednim vrijednostima HDL-kolesterola je nađen statistički značajno veći izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu i statistički značajno veća serumska koncentracija adiponektina u odnosu na ispitanike sa sniženom koncentracijom HDL-kolesterola.

Tablica 18. Tkivni izražaj i serumska koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti arterijske hipertenzije

	suma rangova AH+ (n=24)	suma rangova AH- (n=36)	P
P/ADIPO	306,00	640,00	0,541
D/ADIPO	408,00	720,00	0,599
adiponektin u serumu	808,00	962,00	0,667

*Mann-Whitney U test*

*P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); AH – arterijska hipertenzija*

Nije pronađena statistički značajna razlika između skupine ispitanika s arterijskom hipertenzijom i ispitanika bez arterijske hipertenzije u izražaju adiponektina u tkivima kao ni u serumskoj koncentraciji adiponektina .

Tablica 19. Tkivni izražaj i serumska koncentracija adiponektina u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti opsega struka

	suma rangova OS<88 ili 102 (n=26)	suma rangova OS>88 ili 102 (n=34)	p
P/ADIPO	330,00	616,00	0,274
D/ADIPO	463,00	665,00	0,715
adiponektin u serumu	837,00	863,00	0,182

*Mann-Whitney U test*

*P/ADIPO - izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ADIPO - izražaj adiponektina u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); OS - opseg struka*

Ispitanike smo podjelili u dvije skupine ovisno imaju li uredan opseg struka ili povišen (za žene > 88 cm, za muškarce > 102 cm) te smo usporedili postoji li razlika u izražaju adiponektina u pojedinim odjeljcima masnog tkiva vrata i u serumskoj koncentraciji između skupina. Ni za jednu varijablu nije nađena statistički značajna razlika među ovim skupinama.

### **5.8. Povezanost izražaja omentina-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata i njegove koncentracije u serumu s pojedinim sastavnicama metaboličkog sindroma**

Tablica 20. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti ŠBT2

	suma rangova ŠBT2+ (n=13)	suma rangova ŠBT2- (n=47)	p
P/ITLN1	148	447	0,025
D/ITLN1	256	447	0,371
omentin-1 u serumu	819	777	0,079

*Mann-Whitney U test*

*P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); ŠBT2 – šećerna bolest tip 2*

Ispitanike smo podijelili u dvije skupine ovisno o prisutstvu ŠBT 2 te smo usporedili postoji li razlika u izražaju omentina-1 u pojedinim odjeljcima masnog tkiva i u serumskoj koncentraciji između skupina. Ni za jednu varijablu nije nađena statistički značajna razlika među ovim skupinama.

Tablica 21. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti triglicerida u serumu

	suma rangova TG<1,7 (n = 26)	suma rangova TG>1,7 (n = 24)	P
P/ITLN1	323,00	307,00	0,575
D/ITLN1	399,00	421,00	0,797
omentin-1 u serumu	1.255,50	455,50	<b>0,000*</b>

*Mann-Whitney U test*

*P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); TG – trigliceridi; \* -  $p < 0,001$*

Kada su ispitanici podijeljeni u skupine ovisno imaju li urednu ili povišenu razinu triglicerida, nije nađena statistički značajna razlika u izražaju omentina-1 u tkivima, ali je pronađena statistički značajno veća serumska koncentracija omentina-1 kod ispitanika s urednom vrijednosti triglicerida.

Tablica 22. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti HDL-kolesterola u serumu

	suma rangova HDL-kolesterol<1,03 (n=45)	suma rangova HDL-kolesterol>1,03 (n=15)	p
P/ITLN1	409,00	221,00	0,414
D/ITLN1	643,00	186,00	0,961
omentin-1 u serumu	1.343,50	367,50	0,408

*Mann-Whitney U test*

*P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); HDL-kolesterol – kolesterol vezan na lipoprotein visoke gustoće*

Nije nađena statistički značajna razlika u izražaju omentina-1 u tkivima kao ni u serumskoj razini cirkulirajućeg omentina kod ispitanika sa sniženim HDL-kolesterolom u odnosu na ispitanike s urednim vrijednostima HDL-kolesterola.

Tablica 23. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema prisutnosti arterijske hipertenzije

	suma rangova AH+ (n=24)	suma rangova AH- (n=36)	P
P/ITLN1	214,00	416,00	0,570
D/ITLN1	275,00	545,00	0,734
omentin-1 u serumu	732,00	1.037,00	0,509

*Mann-Whitney U test*

*P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); AH – arterijska hipertenzija*

Nije pronađena statistički značajna razlika u izražaju omentina-1 u tkivima kao ni u serumskoj koncentraciji omentina-1 između skupine ispitanika sa arterijskom hipertenzijom i skupine ispitanika bez arterijske hipertenzije.

Tablica 24. Tkivni izražaj i serumska koncentracija omentina-1 u skupinama nakon podjele ispitanika prema vrijednosti opsega struka

	suma rangova OS<88 ili 102 (n=26)	suma rangova OS>88 ili 102 (n=34)	p
P/ITLN1	249,00	381,00	0,920
D/ITLN1	286,00	534,00	0,548
omentin-1 u serumu	863,00	906,00	0,082

*Mann-Whitney U test*

*P/ITLN1 - izražaj omentina-1 u potkožnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); D/ITLN1 - izražaj omentina-1 u parakarotidnom masnom tkivu vrata (glasnička ribonukleinska kiselina izražena u recipročnoj vrijednosti); OS – opseg struka*

Ispitanike smo podjelili u dvije skupine ovisno imaju li uredan ili povišen opseg struka (za žene > 88 cm, za muškarce >102 cm) te smo usporedili postoji li razlika u izražaju omentina-

1 u pojedinim odjeljcima masnog tkiva i u serumu između skupina. Ni za jednu varijablu nije nađena statistički značajna razlika među ovim skupinama.



## 6. RASPRAVA

### 6.1. Izražaj adiponektina u masnom tkivu

U našem istraživanju smo našli statistički značajno veći izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu vrata u odnosu na parakarotidno masno tkivo, kako na cijelom uzorku tako i kod ispitanika bez metaboličkog sindroma što je u skladu s ranije provedenim istraživanjima na abdominalnom masnom tkivu (400, 401) i govori u prilog postavljenoj tezi. Kod ispitanika s metaboličkim sindromom ta se razlika gubi, u skladu s činjenicom da se u metaboličkim poremećajima mijenja izražaj u oba odjeljka masnog tkiva (402). U tom kontekstu vjerojatno dolazi i do smanjenja izražaja adiponektina kao antiinflamatorne i metabolički protektivne molekule u oba odjeljka, a upravo se neravnoteža u proizvodnji adipokina smatra jednim od uzroka metaboličkih poremećaja (403).

Količina adiponektina izlučena iz potkožnog i visceralnog masnog tkiva varira. Iako je *in vitro* dokazano da je izražaj adiponektina niži u visceralnom nego u potkožnom masnom tkivu *in vivo* situacija je znatno složenija (401). Dok u nekim istraživanjima potkožno masno tkivo negativno korelira sa cirkulirajućom koncentracijom adiponektina (404), druge navode upravo pozitivnu korelaciju ovog odjeljka sa serumskim adiponektinom (405), a ove razlike su se pokušale u preglednim člancima objasniti spolnim dimorfizmom, ali i dobnom heterogenošću ispitivanih populacija. U našem istraživanju našli smo statistički značajnu pozitivnu korelaciju serumske koncentracije adiponektina s njegovim izražajem u oba analizirana odjeljka. Upravo zbog činjenice da se adiponektin izlučuje i iz potkožnog i iz visceralnog masnog tkiva, ali i drugih tkiva, vjerojatno cirkulirajući adiponektin bolje odražava njegov metabolički učinak nego izražaj u masnom tkivu.

Nekoliko studija je istraživalo odnos između izražaja adiponektina u različitim odjeljcima masnog tkiva i antropometrijskih parametara. U većini radova je nađena negativna korelacija između izražaja adiponektina u potkožnom masnom tkivu i antropometrijskih mjera, dok je veza s izražajem adiponektina u visceralnom masnom tkivu manje jasna (401, 406). U ovom istraživanju nađena je statistički značajna negativna korelacija izražaja adiponektina i u potkožnom i u parakarotidnom odjeljku sa tjelesnom masom. Nakon podjele uzorka po spolu, u skupini muških ispitanika uočena je i statistički značajna negativna korelacija izražaja u oba odjeljka sa opsegom struka i opsegom vrata, dok kod ispitanica ove korelacije izostaju, što je možda posljedica različitog metaboličkog profila kod žena i muškaraca.

Izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu statistički značajno pozitivno korelira s izražajem omentina u istom odjeljku, a statistički pozitivna korelacija u njihovu izražaju nađena je i u parakarotidnom masnom tkivu. Ovi rezultati su u skladu s ranijim istraživanjima koja govore u prilog o njihovoj bliskoj vezi i međuovisnosti (280), a koja se manifestira i na tkivnoj razini.

## **6.2. Izražaj omentina-1 u masnom tkivu**

Iako smo pošli od pretpostavke da će se parakarotidno masno tkivo vrata ponašati kao visceralno masno tkivo, izražaj omentina-1 u ovom odjeljku nije pokazao statistički značajnu razliku u odnosu na potkožno masno tkivo. Razlika nije pronađena ni nakon podjele ispitanika ovisno o prisutnosti metaboličkog sindroma. Nismo našli ni statistički značajnu korelaciju između omentinskog izražaja u tkivima s mjerenim metaboličkim i antropometrijskim varijablama, iako je ona kod drugih autora nađena (283). Izostanak razlike u izražaju među odjeljcima je i ranije opisan (407), a objašnjenje možda leži u činjenici da omentin-1 u masnom tkivu luče dominantno neadipociti, odnosno stromovaskularni odjeljak, a iz ranijih istraživanja poznato je da je izražaj omentina visok primjerice u epikardijalom, ali ne i u masnom tkivu unutarnje strane toraksa, što može biti posljedica različitog embrionalnog podrijetla adipocita, ali i neadipocita (309). Ovdje treba spomenuti i istraživanja koja sugeriraju da je i potkožno masno tkivo gornjeg dijela tijela disfunkcionalno skladište koje je povezano s metaboličkim rizikom, neovisno o adipozitetu i abdominalnom visceralnom masnom tkivu (51). Ovi podaci bi mogli objasniti izostanak razlike u izražaju omentina-1 u istraživanim odjeljcima iako je poznato da izražaj mRNA ne mora nužno precizno odražavati izlučivanje proteina (408).

## **6.3. Adiponektin u serumu**

U našem istraživanju našli smo statistički značajnu negativnu korelaciju koncentracije serumskog adiponektina sa koncentracijom inzulina i HOMA indeksom. Prvi članak koji je ukazao da adiponektin aktivno utječe na inzulinsku osjetljivost je objavljen 2001. godine (409), a brojna kasnija istraživanja dosljedno su potvrdila njegovu ulogu u inzulinskoj signalizaciji (410, 411). Inzulin-senzibilizirajući učinak adiponektina proizlazi uglavnom iz smanjenja jetrene glukoneogeneze, povećanog transporta glukoze u mišiće te oksidacije masnih kiselina s ciljem povećanja proizvodnje ATP-a. Smanjenjem sadržaja lipida u jetri i mišićima dolazi do povećanja inzulinske osjetljivosti (207). Adiponektinski receptori su

široko rasprostranjeni u mozgu, a trimerni i LMW oblik adiponektina su prisutni u cerebrospinalnom likvoru kod ljudi te je moguće i da adiponektin može centralno utjecati na potrošnju energiju i time ublažiti otpornost na inzulin (204). Izražaj adiponektinskih receptora u jetri i masnom tkivu se smanjuje kod inzulinske rezistencije (412), a aplikacija adiponektina može povećati razinu izražaja AdipoR1 kod mršavih ispitanika, dok je kod pretilih, ili pretilih bolesnika s ŠBT2, porast prisutan ali znatno slabiji (413). Ovi nalazi upućuju na to da pretilost i inzulinska rezistencija mogu biti povezani s nekom vrstom "rezistencije na adiponektin", što dovodi do pogrešnog signaliziranja i odgovora adiponektina, a koja bi mogla igrati ulogu u pogoršanju otpornosti na inzulin.

U našem istraživanju je utvrđena statistički značajna pozitivna korelacija između serumskog adiponektina i HDL-kolesterola, a pronađena je i statistički značajno veća koncentracija adiponektina kod ispitanika sa urednim vrijednostima HDL-kolesterola u odnosu na ispitanike kod kojih je snižen. Korelacija adiponektina i HDL-kolesterola se pokazala u brojnim istraživanjima čak neovisnom o drugim mjerenim parametrima kao što su to inzulinska osjetljivost ili pretilost (229, 410, 414). Danas se smatra da adiponektin utječe na porast koncentracije HDL-kolesterola putem stimulacije proizvodnje ApoA-I koji je dominantan apolipoprotein HDL-kolesterola u jetri i što dovodi do vezanja HDL-kolesterola i povratnog transporta (415, 416). Drugi predloženi mehanizam je utjecaj adiponektina na smanjenje aktivnosti jetrene lipaze (417), ali i putem smanjenja razine lipoprotein lipaze čime se smanjuje hidroliza i prijenos triglicerida iz VLDL-kolesterola na HDL-kolesterol. Iz navedenog je jasno da adiponektin utječe na razinu HDL-kolesterola u različitim stadijima, od proizvodnje pa vjerojatno do katabolizma. Činjenica da je u istraživanjima nađeno da veza između adiponektina i koronarne bolesti nestaje nakon prilagodbe za HDL-kolesterol govori čak da bi adiponektin upravo preko HDL-kolesterola mogao ostvarivati neke od svojih povoljnih metaboličkih učinaka (418). Osim toga, podaci u nekim radovima sugeriraju dvosmjernan odnos adiponektina i HDL-kolesterola. Poznato je da gubitak tjelesne mase uslijed redukcijske dijeta dovodi do smanjenja HDL-kolesterola, a održavanje reducirane razine tjelesne mase dovodi do njegovog ponovnog porasta (419). Slično se događa i s razinom adiponektina (420), a istraživanja u dugotrajnim redukcijskim dijetama su pokazala da je ova promjena čak i neovisna o tjelesnoj masi (421). Sve ovo navodi na ideju da su promjene koncentracije adiponektina u serumu, barem što se tiče kratkoročnog gladovanja, povezane s promjenama u HDL-kolesterolu, a ne s gubitkom tjelesne mase, dok tjelesna

aktivnost povećava razinu adiponektina bez promjene u ITM baš kao i razinu HDL-kolesterola .

U našem istraživanju nađena je statistički značajna negativna korelacija serumske koncentracije adiponektina s trigliceridima. Ova negativna veza je u brojnim ranijim radovima potvrđena (410, 414), a zanimljiva je činjenica da je izostala u radovima na primjerice isključivo mršavim pojedincima ili ispitanicima sa šećernom bolešću (229, 422), što je vjerojatno posljedica činjenice da se radilo o homogenim populacijama sa sličnim koncentracijama adiponektina. Kinetičke studije koje istražuju i proizvodnju i katabolizam VLDL-a pokazale su da koncentracija adiponektina korelira s njegovim katabolizmom, ali ne i s produkcijom VLDL-a, kao ni s produkcijom triglicerida (423). Objašnjenje ove pojave leži vjerojatno u činjenici da adiponektin regulira izražaj lipoprotein lipaze u mišićima i masnom tkivu te u mogućoj indukciji VLDL receptora na skeletnim mišićima Adiponektin smanjuje i zadržavanje aterogenih lipoproteina u aterosklerotičnim lezijama kroz djelovanje na specifične enzime (246, 424) i potiskuje gene uključene u razvoj pjenušavih stanica neovisno o promjenama razine lipoproteina (425). Kada navedeno povežemo s aterosklerozom za koju je karakteristično nakupljanje pjenušavih stanica nakrcanih aterogenim lipoproteinima (426), postaje jasno da niska koncentracija adiponektina pogoduje formaciji ovih stanica različitim utjecajem na brojne segmente lipoproteinskog metabolizma. Iako smo se osvrnuli na korelaciju adiponektina samo s dva lipidna parametra i danas je poznato da je povezan i sa ostalima, veza s HDL-kolesterolom i trigliceridima se čini najsnažnijom. Ograničenje većine provedenih istraživanja leži u činjenici da su istraživale način djelovanja adiponektina na lipide, ali većinom nisu uzimale reciprocitet u obzir (427).

Serumska koncentracija adiponektina statistički značajno negativno korelira sa tjelesnom masom i mjerenim antropometrijskim parametrima izuzev opsega bokova. I u sličnim studijama nađena je negativna korelacija između adiponektina i ITM (428, 429), ali i adiponektina i mjera centralne pretilosti (430). Nakon podjele po spolu korelacija sa antropometrijskim mjerama se gubi kod ispitanika muškog spola, izuzev za tjelesnu masu i ITM što je neočekivan rezultat obzirom na dokazane niže koncentracije adiponektina kod muškaraca zbog učinka androgena (431, 432). Spolni dimorfizam se u adiponektinskoj koncentraciji pojavljuje tijekom progresije puberteta (433) te možda dijelom može objasniti spolne razlike u metaboličkim čimbenicima rizika tijekom cijelog života. Točna biološka veza

adiponektina i spolnih hormona još nije jasna, kao ni zašto su očekivane korelacije na muškim ispitanicima u našem istraživanju izostale.

Značajan nalaz našeg istraživanja je i da je serumska koncentracija adiponektina statistički značajno veća u skupini ispitanika bez metaboličkog sindroma u odnosu na skupinu ispitanika s metaboličkim sindromom što je u skladu s nalazima iz ranijih istraživanja (435) i sugerira da serumska koncentracija adiponektina može biti dodatni marker metaboličkog rizika.

#### **6.4. Omentin-1 u serumu**

Dosadašnja istraživanja su pokazala da su serumska koncentracija omentina-1 kao i njegov izražaj sniženi u pojedinaca sa oštećenom tolerancijom glukoze u odnosu na zdrave ispitanike (287, 280). Kod pojedinaca sa ŠBT2 serumska koncentracija omentina-1 negativno korelira sa koncentracijom inzulina i HOMA indeksom, a HOMA indeks se pokazao i kao nezavisan prediktor cirkulirajuće koncentracije omentina-1 (280). U našem istraživanju je nakon podjele po spolu kod muških ispitanika nađena statistički značajna negativna korelacija serumskog omentina-1 s inzulinom i HOMA indeksom koja je izostala na cijelom uzorku. Izostanak ovih korelacija, iako je neočekivan, već je opisan (294). Odnos inzulina i omentina-1 je vjerojatno recipročan jer su istraživanja pokazala i da u *in vitro* uvjetima inzulin suprimira izražaj omentinske mRNA, a infuzija glukoze i inzulina kod zdravih pojedinaca dovodi do sniženja cirkulirajuće razine omentina-1 (436). Liječenje rekombinantnim omentinom-1 pojačava inzulinom stimulirani unos glukoze u adipocite, stimulirajući Akt signalizaciju (271), ali je primjećeno da ne stimulira njen samostalni transport, što ukazuje na to da nema nikakvu intrinzičnu inzulinsku mimiku.

Ono što je pomalo iznenađujuće je činjenica da nije nađena korelacija između serumske koncentracije omentina-1 i HDL-kolesterola na cijelom uzorku, ali ni nakon podjele po spolu. Ovaj izostanak se možda može dijelom objasniti u sklopu spomenutih korelacija s inzulinom jer prema nekim istraživanjima omentin-1 upravo utjecajem na inzulin i njegovu signalizaciju utječe i na proizvodnju HDL-kolesterola (280, 437). S druge strane, cirkulirajuća koncentracija omentina-1 statistički značajno negativno korelira sa koncentracijom triglicerida. Statistički značajno veća koncentracija omentina-1 nađena je u skupini ispitanika s urednim vrijednostima triglicerida u odnosu na skupinu ispitanika kod kojih su povišene što govori u prilog protektivnoj kardiovaskularnoj ulozi omentina-1. Iako se danas smatra da trigliceridi nisu izravno aterogeni, njihova povišena razina je glavna karakteristika aterogenih

dislipidemija (438). Trigliceridima bogati lipoproteini su povezani s koronarnom aterosklerozom u humanim opservacijskim studijama (439), a studije na eksperimentalnim modelima su pokazale da ovi lipoproteini i njihovi ostaci dovode do brojnih proaterogenih reakcija, uključujući pojačano regrutiranje i vezanje monocita djelovanjem upalnih proteina iz endotelnih stanica i makrofaga, povećanu ekspresiju adhezijskih molekula i smanjenu protokom posredovanu vazodilataciju koji su uključeni u endotelnu disfunkciju i aterosklerozu (440). Nadalje, visoki trigliceridi su u istraživanjima povezani s brojnim metabolički nepovoljnim ne-lipoproteinskim parametrima kao što su abdominalna pretilost, inzulinska rezistencija, i hipertenzija (441). Jasno je da je izuzetno teško razdvojiti povišene razine triglicerida iz ove složene mreže zbunjujućih varijabli čak i u redukcionističkim eksperimentalnim sustavima zasnovanim na staničnim mehanizmima, a posebice u epidemiološkim podacima ili kliničkim ispitivanjima neizmjenjenih uzročnih agenata koji djeluju izravno na mjestu vaskularne patologije, a vjerojatno ni odnos s omentinom-1 nije jednostavniji te se isprepliće sa spomenutim čimbenicima.

Pretilost inducira redukciju, a smanjenje tjelesne mase pa čak i energetska ograničenje dovodi do porasta koncentracije serumskog omentina-1 u pretilih osoba (442). Negativna povezanost između omentina-1 i pretilosti je pronađena već kod djece i adolescenata (443, 444, 445) što upućuje na to da omentin-1 može biti biomarker za metaboličku disfunkciju već u djetinjstvu. U našem istraživanju serumska koncentracija omentina-1 na cijelom uzorku statistički značajno negativno korelira s tjelesnom masom, opsegom struka, a kod žena i s opsegom vrata i masom masnog tkiva. De Souza Batista i suradnici bili su prvi koji su ukazali na spolni dimorfizam i da su u zdravih ispitanika žene imale više cirkulirajuće koncentracije omentina-1 nego muškarci (283). Moreno-Navarrete i suradnici također su pokazali da je spol nezavisni prediktor cirkulirajuće koncentracije omentina-1 u pretilih ispitanika (284), a cirkulirajuća koncentracija omentina-1 negativno korelira sa koncentracijom slobodnog testosterona, kako u pretilih tako i u normalno uhranjenih ispitanika (446). Podaci o spolnom dimorfizmu nisu konzistentni (280, 447) te se pretpostavlja da su različite koncentracije u adipokinima rezultat različite raspodjele masnog tkiva između muškaraca i žena, pridruženih razlika u genskom izražaju, ali i utjecaja spolnih hormona na izražaj omentina-1 (280, 446, 448). Omentin-1 je samo jedna u nizu molekula koje pokazuje spolni dimorfizam i svakako će biti nužno razlikovati je li razlika u izražaju kompenzatorni mehanizam u metaboličkom stresu ili ima utjecaj u procesu remodelacije masnog tkiva.

Nije nađena statistički značajna razlika u serumskoj koncentraciji omentina-1 kod ispitanika s metaboličkim sindromom u odnosu na one bez njega, što je u proturječju s nekim ranijim istraživanjima, primjerice Jialala i suradnika koji su našli čak 41% nižu koncentraciju omentina-1 kod ispitanika s metaboličkim sindromom nego u onih bez (449). Ovo nesuglasje u rezultatima je možda rezultat razlike u dizajnu studije jer su u spomenutom istraživanju učinjena uparivanja prema dobi i spolu što u našem istraživanju nije slučaj te činjenice da je u našem istraživanju analizirana metabolički znatno heterogenija populacija. Nadalje, jedan dio razlike se vjerojatno može objasniti i medikamentima koje su ispitanici uzimali, obzirom da popratna terapija možda može smanjiti povezanost između omentina-1 i komponenti metaboličkog sindroma.

Serumska koncentracija omentina-1 u našem istraživanju statistički značajno pozitivno korelira sa serumskom koncentracijom adiponektina što je u skladu sa spoznajom o njihovoj povezanosti i da dijele sličan uzorak fizioloških učinaka (284, 450).

Regulacija izlučivanja omentina u masnom tkivu vjerojatno je multifaktorska i potrebna su dodatna *in vitro* i *in vivo* istraživanja kako bi se osvijetlili relevantni signalni putovi, ali i prospektivne longitudinalne studije kako bi se utvrdilo jesu li cirkulirajuće koncentracije omentina-1 neovisan i isplativ klinički prediktor ŠBT2 i / ili kardiovaskularnog rizika.

## **6.5. Opseg vrata**

Povezanost antropometrijskih parametara i metaboličkih poremećaja došla je u centar znanstvenog interesa u posljednjih 30-ak godina, no klinička praktičnost često je bila zasjenjena statističkom značajnošću. Antropometrijske mjere uključujući i ITM, koliko god se na prvi pogled čine robusne, jako dobro koreliraju s metaboličkim poremećajima. Ipak, mjerila centralne pretilosti su se pokazale kao bolji prediktori kardiovaskularnog rizika od ITM, a njihov dodatak u procjeni poboljšava točnost stratifikacije sudionika u nižim i višim rizičnim kategorijama za smrtnost i osigurava inkrementalnu vrijednost u predviđanju iznad onih koje se pružaju općim mjerama pretilosti (451, 452, 453).

Iako je opseg struka još davno prepoznat kao mjerilo nakupljanja metabolički nepovoljnog visceralnog masnog tkiva i kao takav ušao i u definiciju MS, postoji značajan broj radova koji govore u prilog činjenici da i opseg vrata može poslužiti kao mjerilo nakupljanja metabolički nepovoljnog masnog tkiva. U skladu s tim u našem istraživanju je nađena statistički značajna

negativna korelacija opsega vrata s tjelesnom masom, opsegom struka i ITM. Također je nađena i negativna korelacija opsega vrata s HDL-kolesterolom, a pozitivna korelacija s glukozom i HOMA indeksom kao i u ranijim istraživanjima (454, 455).

Opseg vrata kao mjerilo nakupljanja masnog tkiva u centralnom djelu došao je u centar interesa nakon što je u studijama povezan s čimbenicima metaboličkog rizika. U istraživanju Preisa i suradnika pojedinci s velikim opsegom vrata imali su veću vjerojatnost prisutnosti čimbenika metaboličkog rizika od onih s malim opsegom vrata. Ova je asocijacija bila jača kod žena nego kod muškaraca. Zanimljivo je i da su masno tkivo u vratu i visceralno masno tkivo sinergistički. Osobe s velikim opsegom vrata i velikim opsegom struka imale su veću vjerojatnost za prisutnost nepovoljnih kardiovaskularnih čimbenika rizika u usporedbi s osobama koje su imale samo jedan od ovih parametara povišenim (59). Uslijedila su i brojna druga istraživanja koja su također utvrdila da je opseg vrata jednostavan i učinkovit alat za procjenu rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti koji pozitivno korelira s visceralnim masnim tkivom, otpornosti na inzulin i metaboličkim sindromom, posebno kod žena (60, 456, 457). Štoviše, akumulacija masnog tkiva u vratu bolje korelira metaboličkim rizikom od opsega struka (53), a opseg vrata se pokazao kao nezavisni prediktor metaboličkog rizika mimo ITM i opsega struka (59). Čini se da ova povezanost počinje dosta rano jer su Selim i suradnici pokazali da opseg vrata pozitivno korelira s pojavom metaboličkih poremećaja već u pretilo djece (458). U našem istraživanju našli smo statistički značajno veći opseg vrata kod ispitanika s metaboličkim sindromom u odnosu na one bez njega. Istraživanja su pokazala i da opseg vrata može biti značajna varijabla za određivanje rizika za razvoj sindroma opstruktivne apneje u snu (OSAS) (459). Pacijenti s OSAS-om često imaju prekomjernu tjelesnu masu, inzulinsku rezistenciju neovisnu o tjelesnoj masi, arterijsku hipertenziju, snižen HDL-kolesterol i kardiovaskularne bolesti (459, 460, 461). Postoji jasan odnos između OSAS i MS i prevalencija MS-a je prema nekim istraživanjima čak 5 puta veća u bolesnika s OSAS u usporedbi s pojedincima bez njega (61). Mehanizmi za objašnjenje ove veze nisu jasni i ne može se za sada sa sigurnošću utvrditi je li apneja spavanja uzročni faktor u razvoju metaboličkih čimbenika rizika ili je samo poveznica zbog svoje snažne povezanosti s pretilošću.

U našem istraživanju opseg vrata statistički značajno negativno korelira s koncentracijom adiponektina u serumu i njegovim izražajem u potkožnom masnom tkivu, što je u skladu sa dosadašnjim spoznajama i što mu daje metabolički negativan predznak. Statistički značajna



korelacija s koncentracijom omentina-1 nije nađena. Nije nađena ni statistički značajna korelacija između opsega vrata i izražaja omentina-1 u istraživanim odjeljcima masnoga tkiva vrata.

Bilo da opseg vrata odražava odlaganje masnog tkiva na ektopičnom mjestu (462, 463), ili je antropometrijska mjera koji ukazuje na centralnu pretilost, svakako može poslužiti kao koristan identifikator faktora metaboličkog rizika izvan konvencionalnih antropometrijskih mjera i indeksa.

## **6.6. CRP**

Spoznaja da upala niskog stupnja igra ulogu u patogenezi metaboličkih bolesti je tijekom prošlog desetljeća pridobila značajan istraživački interes. U tom smislu, niz studija je procijenio CRP kao vjerodostojan marker rizika (464). Podaci iz projekta Emerging Risk Factors Collaboration objavljenog 2010. godine temeljem metaanalize na 160.309 sudionika bez povijesti krvožilnih bolesti iz 54 dugoročne prospektivne studije ukazala su da koncentracija CRP-a ima kontinuirane povezanosti s rizikom od ishemijskog moždanog udara, vaskularne smrtnosti i smrti od nekoliko vrsta raka i bolesti pluća neovisno o pretilosti i drugim metaboličkim biomarkerima (465). Iako neka istraživanja nisu našla uzročnu vezu između CRP-a i kardiovaskularnih bolesti objasnivši da su povezane sa nizom drugih rizičnih faktora i upalnih markera (466), upala se i dalje smatra važnim okidačem u razvoju kardiovaskularnih bolesti, a visok interes za istraživanje proinflammatoryh citokina ne jenjava. Iako su brojni upalni faktori proučavani, ni jedan od njih izuzev fibrinogena i CRP-a nije našao značajnije mjesto u kliničkoj praksi.

U našem istraživanju nađena je statistički značajna povezanost serumske koncentracije C reaktivnog proteina s opsegom struka, opsegom vrata, masom masnog tkiva i njegovim udjelom u tijelu, što je u skladu s istraživanjima u kojima je čak dokazana i korelacija CRP-a i MR-om utvrđenog volumena visceralnog masnog tkiva (467, 468), a centralno nakupljanje masnog tkiva rezultira značajno povišenim razinama CRP-a čak i ako osobe nisu pretile (469). U našem istraživanju CRP pokazuje statistički značajnu pozitivnu korelaciju s inzulinom i HOMA indeksom što je u skladu s ranijim istraživanjima gdje se pokazalo da CRP onemogućuje signalizaciju inzulina i doprinosi inzulinskoj rezistenciji (470).

Kod ispitanika muškog spola nađena je statistički značajna negativna korelacija CRP-a s koncentracijom omentina-1 u serumu što je u skladu s podacima iz drugih studija (284, 315). Na cijelom uzorku nismo našli statistički značajnu korelaciju između ova dva parametra. CRP statistički značajno negativno korelira s koncentracijom adiponektina u serumu kod ispitanica, dok na cijelom uzorku kao ni kod muških ispitanika ova korelacija nije bila statistički značajna. Nejasno je zašto je korelacija izostala kod muških ispitanika iako su slični rezultati opisani i ranije (471). Statistički značajna korelacija s izražajem ovih adipokina u masnom tkivu nije nađena što govori u prilog već spomenutoj činjenici da cirkulirajuće razine imaju značajniji metabolički učinak od tkivnog izražaja.

C-reaktivni protein je nespecifični marker sustavne upale, ali ima li uzročnu ulogu u aterosklerozi i njenim komplikacijama ostaje kontroverzno. Rezultati istraživanja mogućih izravnih proaterogenih učinaka CRP-a *in vitro* i *in vivo* su nekonzistentni (472, 473). Nekoliko opservacijskih studija studija pokazalo je da visoki cirkulirajući CRP povezan s povećanim rizikom za koronarnu bolest (474) i povećanim CIMT-om (475, 476). Međutim, te povezanosti mogu možda biti i obrnute i razina CRP može biti promijenjena kao posljedica ateroskleroze, a ne kao uzrok ili povezanost CRP-a s aterosklerozom može proizaći iz zajedničke povezanosti s drugim uzročnim čimbenicima. U našem istraživanju nismo našli statistički značajnu povezanost CRP-a s CIMT-om, a izostanak korelacije opisan je i u ranijim istraživanjima (477). Ovi rezultati mogu se objasniti činjenicom da možda CRP sam po sebi ne utječe na razvoj ateroskleroze nego detektira proaterogenu ekspoziciju, prisutnost ateroma ili njihovu kombinaciju. Može se reći da je značaj ove molekule zapravo u činjenici da je dao novu dimenziju u patofiziološkoj interpretaciji metaboličkih poremećaja više no što je sam po sebi detektor istih, što je i u skladu s rezultatima ovog istraživanja.

## **6.7. CIMT**

Debljina CIMT-a se smatra neinvazivnim pokazateljem subkliničke ateroskleroze. Brojne studije su pokazale njegovu povezanost s debljinom i metaboličkim poremećajima već u adolescentskoj dobi (478). Nekoliko prospektivnih studija ukazalo je na povezanost CIMT-a i pojave kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih događaja, a pojedina istraživanja sugeriraju da bi se pojedincima s povećanim IMT trebalo pristupiti agresivnije u prevenciji neželjenih događaja (396). Iako su ranija istraživanja opisala negativnu korelaciju serumske koncentracije adiponektina i omentina-1(447) s CIMT-om u našem istraživanju ju nismo

našli, kao ni statistički značajne korelacije s tkivnim izražajem ovih adipokina. U našem istraživanju pronašli smo statistički značajnu korelaciju prosječne vrijednosti CIMT-a s tjelesnom masom, ITM te s opsegom struka, što je u skladu s ranijim istraživanjima koja su ukazala na snažnu korelaciju visceralne akumulacije masnog tkiva i subkliničke ateroskleroze (479). Nije nađena značajna korelacija s opsegom vrata, ni s ostalim ispitivanim čimbenicima metaboličkog rizika, a izuzetak je razina triglicerida. Kada su ispitanici podijeljeni u dvije skupine ovisno o prisutnosti metaboličkog sindroma, nađena je statistički značajna razlika, odnosno CIMT je bio statistički značajno veći kod ispitanika s MS, što je u skladu s ranijim opažanjima da je u ovoj skupini čak 40% veća vjerojatnost za razvoj povećanog CIMT-a (480, 481). Ovaj rezultat govori i u prilog činjenici o sinergističkom djelovanju pojedinih komponenti metaboličkog sindroma, iako je njihov pojedinačni utjecaj slab. Na tom tragu su i dokazi iz velikih kliničkih studija koje su istraživale ulogu CIMT-a u strukturi rizika i poduprle tezu da ovaj parametar ima svoj značaj u procjeni rizika u velikim populacijskim studijama, ali nije zanemariv ni u procjeni rizika pojedinaca i kliničkom odlučivanju, posebice kada postoji neizvjesnost ili neodlučnost u provedbi strategije prevencije (482).

CIMT je rezultat složene interakcije između različitih faktora rizika i stijenke krvne žile te najviše odražava kumulativnu izloženost faktorima rizika tijekom vremena, ali ostaje strukturno mjerenje. Dobro je utvrđeno da u njegovom razvoju, osim strukturnih abnormalnosti, upalni i trombogeni procesi igraju važnu ulogu, a koji vjerojatno nisu zarobljeni niti opisani u povećanom CIMT-u.

Masno tkivo vrata se smatra predstavnikom masnog tkiva gornjeg dijela tijela i do sada je uglavnom istraživano u sklopu sindroma opstruktivne apneje u snu. Studije su pokazale da ono može biti jedinstven odjeljak koji dodatno doprinosi metaboličkom riziku. Istovremena procjena izražaja različitih adipokina iz površinskih i dubokih odjeljaka, njihove serumske koncentracije, interakcija i korelacija s kliničkim parametrima je potrebna za bolje razumijevanje kliničkog značaja ovih odjeljaka, sekrecijskog profila, lokalnih učinaka i povezanosti s drugim odjeljcima masnog tkiva. Masno tkivo je povezano kompleksnom signalnom mrežom i iako je njegovo smanjenje poželjno kod pretilih, ciljano djelovanje na pojedine odjeljke pojedinaca s većim metaboličkim rizikom predstavlja alternativni terapijski pristup.

## **6.8. Ograničenja u istraživanju**

Postoje ograničenja istraživanja koje je potrebno napomenuti. Ova studija je po dizajnu presječna zbog čega nije bilo moguće analizirati uzročni odnos između serumskih koncentracija adiponektina i omentina-1 kao ni njihovog izražaja u masnom tkivu s mjerenim parametrima. Svi uključeni sudionici su iz iste zdravstvene ustanove te selektivna pristranost nije mogla biti isključena. Inherentna varijabilnost u laboratorijskim testovima i mjerenjima nije se mogla uzeti u obzir budući da je istraživanje završeno u jednom posjetu. Važno je napomenuti da je mali broj uzoraka u našoj studiji analiziran nakon drugog ciklusa smrzavanja-otapanja. Ovo može dovesti do degradacije adipokina i posljedično nižih izmjerenih vrijednosti njihovih koncentracija. I na kraju, veličina uzorka je mala, što može imati ograničenu snagu za otkrivanje značajnih asocijacija, osobito u manjim podskupinama.

## 7. ZAKLJUČAK

- U ovom istraživanju smo našli statistički značajnu razliku između izražaja adiponektina u potkožnom i u parakarotidnom masnom tkivu, kako na cijelom uzorku tako i kod ispitanika bez metaboličkog sindroma.
- Kod ispitanika s metaboličkim sindromom nije nađena značajna razlika u izražaju adiponektina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu što je u skladu s od ranije poznatom činjenicom da se u metaboličkim poremećajima mijenja adipokinski izražaj neovisno o lokaciji masnog tkiva.
- Izražaj adiponektina u potkožnom masnom tkivu statistički značajno pozitivno korelira s izražajem omentina-1 u istom odjeljku, a pozitivna korelacija u njihovu izražaju nađena je i u parakarotidnom masnom tkivu.
- Našli smo statistički značajnu negativnu povezanost serumske koncentracije adiponektina sa inzulinom i HOMA indeksom što je u skladu s ranijim saznanjima o ulozi adiponektina u moduliranju inzulinske osjetljivosti.
- Serumska koncentracija adiponektina statistički je značajno viša kod ispitanika bez metaboličkog sindroma nego kod ispitanika s metaboličkim sindromom.
- Serumska koncentracija adiponektina u našem istraživanju pozitivno korelira sa serumskom koncentracijom omentina-1, što je u skladu s rezultatima ranije provedenih istraživanja o bliskoj povezanosti ova dva adipokina.
- Nije nađena statistički značajna razlika u izražaju omentina-1 između potkožnog i parakarotidnog masnog tkiva vrata. Razlika nije pronađena ni nakon podjele ispitanika ovisno o prisutnosti metaboličkog sindroma.
- Nije nađena statistički značajna korelacija između izražaja omentina-1 u tkivima s mjerenim metaboličkim i antropometrijskim varijablama.
- Nije nađena statistički značajna razlika u serumskoj koncentraciji omentina-1 između ispitanika sa i bez metaboličkog sindroma
- Opseg vrata statistički značajno negativno korelira s koncentracijom adiponektina u serumu i njegovim izražajem u potkožnom masnom tkivu. Statistički značajna korelacija s koncentracijom omentina-1 nije nađena. Nije nađena ni statistički značajna korelacija između opsega vrata i izražaja omentina-1 u pojedinim odjeljcima masnoga tkiva vrata.

- Opseg vrata statistički značajno pozitivno korelira s tjelesnom masom, ITM, opsegom struka, inzulinom i HOMA indeksom, a negativno s HDL-kolesterolom.
- Nije nađena statistički značajna povezanost CIMT-a sa tkivnim izražajem ni sa serumskim koncentracijama istraživanih adipokina. CIMT je bio statistički značajno veći kod ispitanika s metaboličkim sindromom u odnosu na ispitanike bez njega.

## 8. SAŽETAK

**Cilj.** Pretpostavljajući da bar dio masnog tkiva vrata djeluje kao ektopični odjeljak, namjera nam je bila odrediti izražaj adiponektina i omentina u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata te njihov odnos s razinom tih adipokina u serumu i čimbenicima metaboličkog rizika u naših ispitanika.

**Metode i ispitanici.** U istraživanje je uključeno 60 ispitanika koji su podvrgnuti operativnom zahvatu na vratu. Učinjene su rutinske laboratorijske pretrage, antropometrijska mjerenja, ultrazvučno mjerenje CIMT-a i analiza sastava tijela. Određena je serumska koncentracija ukupnog adiponektina i omentina-1 te izražaj gena za adiponektin i omentin-1 u potkožnom i parakarotidnom masnom tkivu vrata.

**Rezultati.** Našli smo statistički značajnu razliku između izražaja adiponektina u potkožnom i u parakarotidnom masnom tkivu. Cirkulirajuća koncentracija adiponektina je viša kod ispitanika bez metaboličkog sindroma, pozitivno korelira sa HDL-kolesterolom, negativno s opsegom vrata i struka, inzulinom i HOMA indeksom. Nismo našli statistički značajnu razliku izražaja omentina-1 između potkožnog i parakarotidnog odjeljka ni značajne korelacije između izražaja omentina-1 u tkivima s analiziranim varijablama. Serumska razina omentina-1 negativno korelira s tjelesnom masom, ITM i trigliceridima. Našli smo statistički značajnu pozitivnu korelaciju opsega vrata s tjelesnom masom, opsegom struka, ITM, inzulinom i HOMA indeksom.

**Zaključak.** Ovi rezultati govore u prilog činjenici da je masno tkivo vrata specifično skladište sa mogućim parakrinim i sustavnim utjecajem, ali i skladište koje je nezavisni prediktor metaboličkog rizika izvan postojećih standardnih mjerila.

## 9. SUMMARY

Thesis title: Adiponectin and omentin in the adipose tissue of the neck and in blood serum of patients with metabolic risk

PhD candidate: Danijela Grizelj

Zagreb, 2019.

**Aim.** In assuming that a portion of the adipose tissue within the neck region acts as an ectopic compartment, we intend to determine the expression of adiponectin and omentin-1 within the subcutaneous and paracarotid adipose tissue of the neck, analyze the relationship of serum adipocytokine levels and evaluate the metabolic risk factors in our examinees.

**Materials and methods.** 60 patients who underwent neck surgery were included in the study. Routine laboratory tests, anthropometric measurements and measurements of the carotid intima-media thickness were performed. Serum concentrations of total adiponectin and omentin-1 were determined. Expression of the adiponectin and omentin-1 genes in subcutaneous and paracarotid neck adipose tissue was analyzed.

**Results.** We found a statistically significant difference between the expression of adiponectin in subcutaneous and in paracarotid adipose tissue. Circulating levels of adiponectin were higher in subjects without metabolic syndrome and positively correlated with the level of HDL-cholesterol and negatively correlated with the neck and waist circumferences, glucose and insulin levels and the HOMA index. We did not find a statistically significant difference in the expression of omentin-1 between the subcutaneous and the paracarotid compartments nor did we find a correlation between the omentin-1 expression in the tissues using our analyzed variables. The serum level of omentin-1 has a statistically significant negative correlation with body weight, BMI and triglyceride levels. We found a statistically significant positive correlation of neck circumference with body mass, waist circumference, BMI, insulin level and HOMA index.

**Conclusion.** These results support the fact that, although relatively small, the adipose tissue of the neck is positioned as a significant and specific depot with a possible paracrine and systemic influence and as a depot that is an independent predictor of metabolic risk beyond the existing standards of measurement.



## 10. POPIS LITERATURE

1. Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*. 2007;131(2):242-56.
2. Ottaviani E, Malagoli D, Franceschi C. The evolution of the adipose tissue: a neglected enigma. *Gen Comp Endocrinol*. 2011;174(1):1–4.
3. Geschwind DH, Rakic P. Cortical Evolution: Judge the Brain by Its Cover. *Neuron*. 2013;80(3):633-47.
4. Kant AK, Schatzkin A, Graubard BI, Ballard-Barbash R. Frequency of eating occasions and weight change in the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1995;19(7):468-74.
5. Stubbs RJ, Tolkamp BJ. Control of energy balance in relation to energy intake and energy expenditure in animals and man: an ecological perspective. *Br J Nutr*. 2006;95(4):657-76.
6. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35(7):595-601.
7. Griskevicius V, Delton AW, Robertson TE, Tybur JM. Environmental Contingency in Life History Strategies: The Influence of Mortality and Socioeconomic Status on Reproductive Timing. *J Pers Soc Psychol*. 2011;100(2):241-54.
8. Hill, K. Life history theory and evolutionary anthropology. *Evol Anthropol*. 1993;2(3):78–89.
9. Montague CT, O'Rahilly S. The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*. 2000;49(6):883-8.
10. Vague J. Sexual differentiation. A determinant factor of the forms of obesity. 1947. *Obes Res*. 1996;4(2):201-3.
11. Avogaro P, Crepaldi G. Essential hyperlipidemia, obesity and diabetes. *Diabetologia*. 1965;1:137.
12. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595–1607.
13. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143–421.

14. Assmann G, Schulte H. The Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *Am Heart J.* 1988;116(6 Pt 2):1713-24.
15. Desroches S, Lamarche B. The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007;32(1):23-32.
16. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2014;2014:943162. doi: 10.1155/2014/943162. Epub 2014 Mar 11.
17. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. 1999. Dostupno na. [http://www.who.int/hq/1999/WHO\\_NCD\\_NCS\\_99.2.pdf](http://www.who.int/hq/1999/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf).
18. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998;15(7):539-53.
19. Katzmarzyk PT, Janssen I, Ross R, Church TS, Blair SN. The importance of waist circumference in the definition of metabolic syndrome: prospective analyses of mortality in men. *Diabetes care.* 2006;29(2):404-9.
20. Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes care.* 2005;28(7):1769-78.
21. Kadota A, Hozawa A, Okamura T, Kadowak T, Nakamura K, Murakami Y, i sur. Relationship between metabolic risk factor clustering and cardiovascular mortality stratified by high blood glucose and obesity: NIPPON DATA90, 1990-2000. *Diabetes care.* 2007;30(6):1533-8.
22. Vague J. The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr.* 1956;4(1):20-34.
23. Tokunaga K, Matsuzawa Y, Ishikawa K, Tarui S. A novel technique for the determination of body fat by computed tomography. *Int J Obes.* 1983;7:437-45.
24. Matsuzawa Y. The role of fat topology in the risk of disease. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(Suppl 7):S83-92.
25. Zamboni M, Armellini F, Milani MP, De Marchi M, Todesco T, Robbi R, i sur. Body fat distribution in pre- and post-menopausal women: metabolic and anthropometric variables and their inter-relationships. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1992;16(7):495-504.

26. Bjorntorp P. "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis*. 1990;10(4):493-6.
27. Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, Tarui S. Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism*. 1987;36(1):54-9.
28. Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci*. 2009;54(9):1847-56.
29. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*. 2000;21:679–738.
30. Arner P. Obesity and the adipocyte. Regional adiposity in man. *J Endocrinol*. 1997;155: 191–2.
31. Shen W, Wang Z, Punyanita M, Lei J, Sinav A, Kral JG, i sur. Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification. *Obes Res*. 2003;11(1): 5–16.
32. Iozzo P. Myocardial, perivascular, and epicardial fat. *Diabetes care*. 2011;34(Suppl 2):S371-9.
33. Suganami T, Tanaka M, Ogawa Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. *Endocr J*. 2012;59(10):849-57.
34. Rosen ED, Spiegelman BM. What We Talk About When We Talk About Fat. *Cell*. 2014;156(1-2): 20–44.
35. Rodriguez AM, Elabd C, Delteil F, Astier J, Vernochet C, Saint-Marc P, i sur. Adipocyte differentiation of multipotent cells established from human adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;315(2):255-63.
36. Napolitano L. The Differentiation of White Adipose Cells. An Electron Microscope Study. *J Cell Biol*. 1963;18:663-79.
37. Knittle JL, Timmers K, Ginsberg-Fellner F, Brown RE, Katz DP. The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross-sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size. *J Clin Invest*. 1979;63(2):239-46.
38. Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ, Hausman GJ, Martin RJ. The biology of white adipocyte proliferation. *Obes Rev*. 2001;2(4):239-54.
39. Blaak E. Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2001;4(6):499-502.
40. Tchernof A, Bélanger C, Morisset AS, Richard C, Mailloux J, Laberge P, i sur. Regional Differences in Adipose Tissue Metabolism in Women Diabetes 2006;55(5):1353-60.

41. Tchkonina T, Giorgadze N, Pirtskhalava T, Tchoukalova Y, Karagiannides I, Forse RA, i sur. Fat depot origin affects adipogenesis in primary cultured and cloned human preadipocytes *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;282(5):R1286-96.
42. Tchoukalova YD, Votruba SB, Tchkonina T, Giorgadze N, Kirkland JL, Jensen MD. Regional differences in cellular mechanisms of adipose tissue gain with overfeeding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(42):18226-31.
43. DiGirolamo M, Fine JB, Tagra K, Rossmanith R. Qualitative regional differences in adipose tissue growth and cellularity in male Wistar rats fed ad libitum. *Am J Physiol*. 1998;274:R1460–R1467.
44. Meyer LK, Ciaraldi TP, Henry RR, Wittgrove AC, Phillips SA. Adipose tissue depot and cell size dependency of adiponectin synthesis and secretion in human obesity. *Adipocyte* 2013;2(4):217-26.
45. Macdougald, Ormond A. *Methods of adipose tissue biology. Part A*. Burlington. Elsevier Science, 2014. Pristupljeno 25.07.2017. Dostupno na : <https://www.sciencedirect.com/science/bookseries/00766879/537>.
46. Pulit SL, Karaderi T, Lindgren CM. Sexual dimorphisms in genetic loci linked to body fat distribution. *Biosci Rep*. 2017 ;37(1). pii: BSR20160184. doi: 10.1042/BSR20160184.
47. Heid IM, Jackson AU, Randall JC, Winkler TW, Qi L, Steinthorsdottir V, i sur. Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution. *Nat Genet*. 2010;42(11):949-60.
48. Adams M, Montague CT, Prins JB, Holder JC, Smith SA, Sanders L, i sur. Activators of peroxisome proliferator-activated receptor gamma have depot-specific effects on human preadipocyte differentiation. *J Clin Invest*. 1997;100(12):3149-53.
49. Gesta S, Bluher M, Yamamoto Y, Norris AW, Berndt J, Kralisch S, i sur. Evidence for a role of developmental genes in the origin of obesity and body fat distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(17):6676-81.
50. Tchkonina T, Giorgadze N, Pirtskhalava T, Thomou T, DePonte M, Koo A, i sur. Fat depot-specific characteristics are retained in strains derived from single human preadipocytes. *Diabetes*. 2006;55(9):2571-8.
51. Lee JJ, Pedley A, Therkelsen KE, Hoffmann U, Massaro JM, Levy D, i sur. Upper Body Subcutaneous Fat Is Associated with Cardiometabolic Risk Factors. *Am J Med*. 2017;130(8):958-966.e1.

52. Cypess AM, White AP, Vernochet C, Schulz TJ, Xue R, Sass CA, i sur. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. *Nat Med.* 2013 May;19(5):635-9.
53. Torriani M, Gill CM, Daley S, Oliveira AL, Azevedo DC, Bredella MA. Compartmental neck fat accumulation and its relation to cardiovascular risk and metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2014;100(5):1244-51.
54. Shigeta Y, Enciso R, Ogawa T, Ikawa T, Clark GT. Cervical CT derived neck fat tissue distribution differences in Japanese males and females and its effect on retroglossal and retropalatal airway volume. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(2):275–84.
55. Pandzic Jaksic V, Grizelj D, Livun A, Boscic D, Ajduk M, Kusec R, i sur. Neck adipose tissue - tying ties in metabolic disorders. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2018;9;33(2). pii: /j/hmbci.2018.33.issue-2/hmbci-2017-0075/hmbci-2017-0075.xml. doi: 10.1515/hmbci-2017-0075.
56. Geisler F. Transversal section of a human neck.DocCeck pictures. (slika s interneta). 2010 Dec 24 (pristupljeno 10.10.2018). Dostupno na: <https://pictures.doccheck.com/com/photo/10881-neck-transversal-section>
57. Freedman DS, Rimm AA. The relation of body fat distribution, as assessed by six girth measurements, to diabetes mellitus in women. *Am J Public Health.* 1989;79(6):715-20.
58. Laakso M, Matilainen V, Keinanen-Kiukaanniemi S. Association of neck circumference with insulin resistance-related factors. *International journal of obesity and related metabolic disorders.* *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26(6):873-5.
59. Preis SR, Massaro JM, Hoffmann U, D'Agostino RB, Sr., Levy D, Robins SJ, i sur. Neck circumference as a novel measure of cardiometabolic risk: the Framingham Heart study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(8):3701-10.
60. Nielsen S, Guo Z, Johnson CM, Hensrud DD, Jensen MD. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest.* 2004;113(11):1582-8.
61. Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, Calverley PM, Wilding JP. Obstructive sleep apnoea is independent association with an increased prevalence of metabolic syndrome. *Eur Heart J.* 2004;25(9):735–41.
62. Garg A. Acquired and inherited lipodystrophies. *N Engl J Med.* 2004;350(12):1220–34.
63. Chen K, Xie Y, Hu P, Zhao S, Mo Z. Multiple symmetric lipomatosis: substantial subcutaneous adipose tissue accumulation did not induce glucose and lipid metabolism dysfunction. *Ann Nutr Metab.* 2010;57(1):68–73.

64. Jensen MD. Adipose tissue as an endocrine organ: implications of its distribution on free fatty acid metabolism. *Eur Heart J Suppl.* 2006;8(B):B13–B19.
65. Birsoy K, Festuccia WT, Laplante M. A comparative perspective on lipid storage in animals. *J Cell Sci.* 2013; 126(Pt 7):1541–52.
66. Chawla A, Nguyen KD, Goh YP. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11(11):738–49.
67. Huh JY, Park YJ, Ham M, Kim JB. Crosstalk between adipocytes and immune cells in adipose tissue inflammation and metabolic dysregulation in obesity. *Mol Cells.* 2014; 37(5):365-71.
68. Sims EA, Danforth E Jr. Expenditure and storage of energy in man. *J Clin Invest.* 1987;79(4):1019-25.
69. Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest.* 1983;72(3):1150-62.
70. Smith U, Kahn BB. Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, de novo lipogenesis and novel lipids. *J Intern Med.* 2016;280(5):465-75.
71. Nusse R. Wnt signaling and stem cell control. *Cell Res.* 2008;18(5):523-7.
72. Holland WL, Bikman BT, Wang LP, Yuguang G, Sargent KM, Bulchand S, i sur. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(5):1858–70.
73. Badin PM, Louche K, Mairal A, Liebisch G, Schmitz G, Rustan AC i sur. Altered skeletal muscle lipase expression and activity contribute to insulin resistance in humans. *Diabetes.* 2011;60(6):1734–42.
74. Kumashiro N, Erion DM, Zhang D, Kahn M, Beddow SA, Chu X, i sur. Cellular mechanism of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(39):16381–5.
75. de Luca C, Olefsky JM. Inflammation and Insulin Resistance. *FEBS Lett.* 2008; 582(1): 97–105.
76. Van Tienen FH, van der Kallen CJ, Lindsey PJ, Wanders RJ, van Greevenbroek MM, Smeets HJ. Preadipocytes of type 2 diabetes subjects display an intrinsic gene expression profile of decreased differentiation capacity. *Int J Obes. (Lond.)* 2011;35(9):1154–64.

77. Arner P, Arner E, Hammarstedt A, Smith U. Genetic predisposition for Type 2 diabetes, but not for overweight/obesity, is associated with a restricted adipogenesis. *PLoS One*. 2011;6(4):e18284.
78. Gealekman O, Guseva N, Hartigan C, Apotheker S, Gorgoglione M, Gurav K, i sur. Depot-specific differences and insufficient subcutaneous adipose tissue angiogenesis in human obesity. *Circulation*. 2011;123:186–94.
79. Sánchez-López M, Ortega FB, Moya-Martínez P, López-Martínez S, Ortiz-Galeano I, Gómez-Marcos MA, i sur. Leg fat might be more protective than arm fat in relation to lipid profile. *Eur J Nutr*. 2013;52(2):489-95.
80. Jensen MD. Role of Body Fat Distribution and the Metabolic Complications of Obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11 Suppl 1):S57-S63.
81. Martins AR, Nachbar RT, Gorjao R, Vinolo MA, Festuccia WT, Lambertucci RH, i sur. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis*. 2012;23;11:30.
82. Matsuzaka T, Shimano H. Molecular mechanisms involved in hepatic steatosis and insulin resistance. *J Diabetes Investig*. 2011;2(3):170–5.
83. Hardy OT, Perugini RA, Nicoloso SM, Gallagher-Dorval K, Puri V, Straubhaar J, i sur. Body mass index-independent inflammation in omental adipose tissue associated with insulin resistance in morbid obesity. *Surg Obes Relat Dis*. 2011;7(1):60–7.
84. Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012;19(2):81-7.
85. Chung S, Yoon IY, Shin YK, Lee CH, Kim JW, Lee T, i sur. Endothelial dysfunction and C-reactive protein in relation with the severity of obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep*. 2007;30(8):997-1001.
86. Hsueh WA, Quiñones MJ. Role of endothelial dysfunction in insulin resistance. *Am J Cardiol*. 2003;92(4A):10J-17J.
87. Byun AR, Lee SW, Lee HS, Shim KW. What is the most appropriate lipid profile ratio predictor for insulin resistance in each sex? A cross-sectional study in Korean populations (The Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey). *Diabetol Metab Syndr*. 2015;7:59.
88. Vanhecke TE, Franklin BA, Zalesin KC, Sangal RB, deJong AT, Agrawal V. i sur. Cardiorespiratory fitness and obstructive sleep apnea syndrome in morbidly obese patients. *Chest*. 2008;134(3):539-45.

89. Victor VM, Rocha M, Herance R, Hernandez-Mijares A. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes. *Curr Pharm Des.* 2011;17(36):3947-58.
90. Konige M, Wang H, Sztalryd C. Role of adipose specific lipid droplet proteins in maintaining whole body energy homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2014;1842(3):393–401.
91. Luo L, Liu M. Adipose tissue in control of metabolism. *J Endocrinol.* 2016;231(3):R77-R99.
92. Assimacopoulos-Jeannet F, Brichard S, Rencurel F, Cusin I, Jeanrenaud B. In vivo effects of hyperinsulinemia on lipogenic enzymes and glucose transporter expression in rat liver and adipose tissues. *Metabolism.* 1995;44(2):228-33.
93. Koutsari C, Ali AH, Mundi MS, Jensen MD. Storage of circulating free fatty acid in adipose tissue of postabsorptive humans: quantitative measures and implications for body fat distribution. *Diabetes.* 2011;60(8):2032-40.
94. Jensen MD. Gender differences in regional fatty acid metabolism before and after meal ingestion. *J Clin Invest.* 1995;96(5):2297-303.
95. Martin ML, Jensen MD. Effects of body fat distribution on regional lipolysis in obesity. *J Clin Invest.* 1991;88(2):609-13.
96. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev.* 2000;21(6):697–738
97. Ali AH, Koutsari C, Mundi M, Stegall MD, Heimbach JK, Taler SJ, i sur. Free fatty acid storage in human visceral and subcutaneous adipose tissue: role of adipocyte proteins. *Diabetes.* 2011;60(9):2300-7.
98. Svedberg J, Bjorntorp P, Smith U, Lonroth P. Free-fatty acid inhibition of insulin binding, degradation, and action in isolated rat hepatocytes. *Diabetes.* 1990;39(5):570-4.
99. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, DeFronzo RA. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest.* 1983;72(5):1737-47.
100. Björntorp P. Metabolic implications of body fat distribution. *Diabetes care.* 1991;14(12):1132-43.
101. Guo Z, Hensrud DD, Johnson CM, Jensen MD. Regional postprandial fatty acid metabolism in different obesity phenotypes. *Diabetes.* 1999;48(8):1586-92.
102. Laurencikiene J, Skurk T, Kulyte A, Heden P, Astrom G, Sjolin E, i sur. Regulation of lipolysis in small and large fat cells of the same subject. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):E2045-9.



103. Galgani J, Ravussin E. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *Int J Obes (Lond)*. 2008; 32(7):S109–S119.
104. Ravussin Y, Leibel RL, Ferrante AW Jr. A missing link in bodyweight homeostasis: The catabolic signal of the overfed state. *Cell Metab*. 2014;20(4):565-72.
105. Crisan M, Casteilla L, Lehr L, Carmona M, Paoloni-Giacobino A, Yap S, i sur. A reservoir of brown adipocyte progenitors in human skeletal muscle. *Stem Cells*. 2008;26(9):2425-33.
106. Lidell ME, Enerback S. Brown adipose tissue—a new role in humans? *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6:319-25.
107. Oelkrug R, Polymeropoulos ET, Jastroch M. Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance. *J Comp Physiol B*. 2015;185(6):587-606.
108. Smith RE, Horwitz BA. Brown fat and thermogenesis. *Physiol Rev*. 1969;49(2):330-425.
109. Trayhurn P, Temple NJ, Van Aerde J. Evidence from immunoblotting studies on uncoupling protein that brown adipose tissue is not present in the domestic pig. *Can J Biochem Physiol*. 1989;67(12):1480-5.
110. Ricquier D. Uncoupling protein 1 of brown adipocytes, the only uncoupler: a historical perspective. *F Front Endocrinol (Lausanne)*. 2011;2:85. doi: 10.3389/fendo.2011.00085. eCollection 2011.
111. Khedoe PP, Hoeke G, Kooijman S, Dijk W, Buijs JT, Kersten S, i sur. Brown adipose tissue takes up plasma triglycerides mostly after lipolysis. *J Lipid Res*. 2015;56(1):51-9.
112. Lidell ME, Betz MJ, Dahlqvist Leinhard O, Heglind M, Elander L, Slawik M, i sur. Evidence for two types of brown adipose tissue in humans. *Nat Med*. 2013;19(5):631-4.
113. Heaton JM. The distribution of brown adipose tissue in the human. *J Anat*. 1972;112(Pt 1):35-9.
114. Ootsuka Y, de Menezes RC, Zaretsky DV, Alimoradian A, Hunt J, Stefanidis A, i sur. Brown adipose tissue thermogenesis heats brain and body as part of the brain-coordinated ultradian basic rest-activity cycle. *Neuroscience*. 2009;164(2):849-61.
115. Seale P, Bjork B, Yang W, Kajimura S, Chin S, Kuang S, i sur. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*. 2008;454(7207):961-7.
116. Villarroya F, Cereijo R, Villarroya J, Giralt M. Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(1):26-35.
117. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, i sur. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med*. 2009;360(15):1509-17.

118. Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293(2):E444-52.
119. Devlin MJ. The "Skinny" on brown fat, obesity, and bone. *Am J Phys Anthropol.* 2015;156( Suppl 59):98-115.
120. Morrison SF, Madden CJ, Tupone D. Central control of brown adipose tissue thermogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2012;3(5).
121. Nguyen KD, Qiu Y, Cui X, Goh YP, Mwangi J, David T, i sur. Alternatively activated macrophages produce catecholamines to sustain adaptive thermogenesis. *Nature.* 2011;480(7375):104-8.
122. Collins S.  $\beta$ -Adrenoceptor Signaling Networks in Adipocytes for Recruiting Stored Fat and Energy Expenditure. *Fron Endocrinol (Lausanne).* 2011;2:102.
123. Murano I, Barbatelli G, Giordano A, Cinti S. Noradrenergic parenchymal nerve fiber branching after cold acclimatisation correlates with brown adipocyte density in mouse adipose organ. *J Anat.* 2009;214(1):171-8.
124. Foster DO, Frydman ML. Nonshivering thermogenesis in the rat. II. Measurements of blood flow with microspheres point to brown adipose tissue as the dominant site of the calorogenesis induced by noradrenaline. *Can J Physiol Pharmacol.* 1978;56(1):110-22.
125. Xue Y, Petrovic N, Cao R, Larsson O, Lim S, Chen S, i sur. Hypoxia-independent angiogenesis in adipose tissues during cold acclimation. *Cell Metab.* 2009;9(1):99-109.
126. Guerra C, Navarro P, Valverde AM, Arribas M, Bruning J, Kozak LP, i sur. Brown adipose tissue-specific insulin receptor knockout shows diabetic phenotype without insulin resistance. *J Clin Invest.* 2001;108(8):1205-13.
127. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004;84(1):277-359.
128. Lean ME, James WP, Jennings G, Trayhurn P. Brown adipose tissue in patients with pheochromocytoma. *Int J Obes.* 1986;10(3):219-27.
129. Wu J, Cohen P, Spiegelman BM. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes Dev.* 2013;27(3):234-50.
130. Wu J, Bostrom P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, i sur. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell.* 2012;150(2):366-76.
131. Sanchez-Gurmaches J, Hung CM, Sparks CA, Tang Y, Li H, Guertin DA. PTEN loss in the Myf5 lineage redistributes body fat and reveals subsets of white adipocytes that arise from Myf5 precursors. *Cell Metab.* 2012;16(3):348-62.

132. Wang QA, Tao C, Gupta RK, Scherer PE. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat Med.* 2013;19(10):1338-44.
133. Rosenwald M, Perdikari A, Rulicke T, Wolfrum C. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nat Cell Biol.* 2013;15(6):659-67.
134. Cederberg A, Gronning LM, Ahren B, Tasken K, Carlsson P, Enerback S. FOXC2 is a winged helix gene that counteracts obesity, hypertriglyceridemia, and diet-induced insulin resistance. *Cell.* 2001;106(5):563-73.
135. Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(1):96-105.
136. Ouellet V, Labbé SM, Blondin DP, Phoenix S, Guérin B, Haman F, et al. Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *J Clin Invest.* 2012 ;122(2):545-52.
137. Ranvier L. 1874 Du développement et de l'accroissement des vaisseaux sanguins. *Arch de Physiol.* 1874;1; 429–50.
138. Goldsmith HS. *The omentum: Research and clinical applications.* New York: Springer-Verlag;1990. (pristupljeno 15.03.2017.). Dostupno na: <https://www.springer.com/us/book/9781461280118>
139. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259(5091):87-91.
140. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444(7121):860-7.
141. 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(12):1796-808.
142. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1821-30.
143. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation.* 2000;102(1):42-7.
144. Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis.* 2000;148(2):209-14.

145. Barzilay JI, Abraham L, Heckbert SR, Cushman M, Kuller LH, Resnick HE, i sur. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes*. 2001;50(10):2384-9.
146. Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, i sur. Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest*. 2001;108(3):437-46.
147. Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, i sur. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikkbeta. *Science*. 2001;293(5535):1673-7.
148. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, i sur. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med*. 2009;15(8):921-9.
149. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, i sur. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009;15(9):914-20.
150. Lynch L, O'Shea D, Winter DC, Geoghegan J, Doherty DG, O'Farrelly C. Invariant NKT cells and CD1d(+) cells amass in human omentum and are depleted in patients with cancer and obesity. *Eur J Immunol*. 2009;39(7):1893-901.
151. Cao H. Adipocytokines in Obesity and Metabolic Disease. *J Endocrinol*. 2014;220(2):T47-T59.
152. Russo L, Lumeng CN. Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. *Immunology*. 2018;155(4):407-17.
153. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117(1):175-84.
154. Mauer J, Chaurasia B, Goldau J, Vogt MC, Ruud J, Nguyen KD, i sur. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin. *Nat Immunol*. 2014;15(5):423-30.
155. Barnes MA, Carson MJ, Nair MG. Non-traditional cytokines: How catecholamines and adipokines influence macrophages in immunity, metabolism and the central nervous system. *Cytokine*. 2015;72(2):210-9.
156. Radhakrishnan P, Srikanth P, Seshadri KG, Barani R, Samanta M. Serum monocyte chemoattractant protein-1 is a biomarker in patients with diabetes and periodontitis. *Indian J Endocrinol Metab*. 2014 ;18(4):505-10.
157. Kraakman MJ, Kammoun HL, Allen TL, Deswaerte V, Henstridge DC, Estevez E, i sur. Blocking IL-6 trans-signaling prevents high-fat diet-induced adipose tissue macrophage recruitment but does not improve insulin resistance. *Cell Metab*. 2015;21(3):403-16.

158. Mothe-Satney I, Filloux C, Amghar H, Pons C, Bourlier V, Galitzky J, i sur. Adipocytes secrete leukotrienes: contribution to obesity-associated inflammation and insulin resistance in mice. *Diabetes*. 2012;61(9):2311-9.
159. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(4):E1118-28.
160. Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, Galgani JE, Stadler K, Mynatt RL, i sur. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med*. 2011;17(2):179-88.
161. Prentki M, Matschinsky FM, Madiraju SR. Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion. *Cell Metab*. 2013;18(2):162-85.
162. Bluher M. Adipose tissue inflammation: a cause or consequence of obesity-related insulin resistance? *Clin Sci (Lond)*. 2016;130(18):1603-14.
163. Canello R, Henegar C, Viguier N, Taleb S, Poitou C, Rouault C, i sur. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes*. 2005;54(8):2277-86.
164. Goldfine AB, Fonseca V, Jablonski KA, Pyle L, Staten MA, Shoelson SE, i sur. The effects of salsalate on glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2010;152(6):346-57.
165. Kralova Lesna I, Kralova A, Cejkova S, Fronck J, Petras M, Sekerkova A, i sur. Characterisation and comparison of adipose tissue macrophages from human subcutaneous, visceral and perivascular adipose tissue. *J Transl Med*. 2016;14(1):208.
166. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, i sur. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2012;55(6):1577-96.
167. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425-32.
168. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Mizuno K, Matsuzawa Y, Matsubara K. Analysis of an expression profile of genes in the human adipose tissue. *Gene*. 1997;190(2):227-35
169. Harwood HJ. The adipocyte as an endocrine organ in the regulation of metabolic homeostasis. *Neuropharmacology*. 2012;63(1):57-75.

170. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.*2010;314(1):1–16.
171. Samaras K, Botelho NK, Chisholm DJ, Lord RV. Subcutaneous and visceral adipose tissue gene expression of serum adipokines that predict type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring).* 2010;18(5):884-9.
172. Chatterjee TK, Stoll LL, Denning GM, Harrelson A, Blomkalns AL, Idelman G, i sur. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high-fat feeding. *Circ Res.* 2009;104(4):541-9.
173. Wu D, Ren Z, Pae M, Guo W, Cui X, Merrill AH, i sur. Aging up-regulates expression of inflammatory mediators in mouse adipose tissue. *J Immunol.* 2007;179(7):4829-39.
174. Blüher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2009;117(6):241-50.
175. Flier JS, Cook KS, Usher P, Spiegelman BM. Severely impaired adiponin expression in genetic and acquired obesity. *Science.* 1987;237(4813):405-8
176. Fasshauer M, Bluher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci.*2015;36(7):461–70.
177. Wang ZV, Scherer PE. Adiponectin, the past two decades. *J Mol Cell Biol.* 2016;8(2):93-100.
178. 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(45):26746-9.
179. 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(2):286-9.
180. Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2002;13(2):84-9.
181. 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(4):803-12.
182. Ziemke F, Mantzoros CS. Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(1):258S-61S.
183. Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, i sur. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24(7):861-8.

184. Kaklamani VG, Sadim M, Hsi A, Offit K, Oddoux C, Ostrer H, i sur. Variants of the adiponectin and adiponectin receptor 1 genes and breast cancer risk. *Cancer Res.* 2008;68(9):3178-84.
185. Shapiro L, Scherer PE. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr Biol.* 1998;8(6):335-8.
186. Rutkowski JM, Scherer PE. Isolation and quantitation of adiponectin higher order complexes. *Methods Enzymol.* 2014;537:243-59.
187. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes care.* 2003;26(8):2442-50.
188. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The role of adiponectin in cancer: a review of current evidence. *Endocr Rev.* 2012;33(4):547-94.
189. Pischon T, Hotamisligil GS, Rimm EB. Adiponectin: stability in plasma over 36 hours and within-person variation over 1 year. *Clin Chem.* 2003;49(4):650-2.
190. Balsan GA, Vieira JL, Oliveira AM, Portal VL. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2015;61(1):72-80.
191. Awazawa M, Ueki K, Inabe K, Yamauchi T, Kubota N, Kaneko K, i sur. Adiponectin enhances insulin sensitivity by increasing hepatic IRS-2 expression via a macrophage-derived IL-6-dependent pathway. *Cell Metabol.* 2011;13(4):401-12.
192. Halberg N, Schraw TD, Wang ZV, Kim JY, Yi J, Hamilton MP, i sur. Systemic fate of the adipocyte-derived factor adiponectin. *Diabetes.* 2009;58(9):1961-70.
193. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, i sur. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423(6941):762-9.
194. Yamauchi T, Kadowaki T. Physiological and pathophysiological roles of adiponectin and adiponectin receptors in the integrated regulation of metabolic and cardiovascular diseases. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(Suppl 7):S13-8.
195. Silva TE, Colombo G, Schiavon LL. Adiponectin: A multitasking player in the field of liver diseases. *Diabetes Metab.* 2014;40(2):95-107.
196. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev.* 2005;26(3):439-51.
197. Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao TS, Lodish HF. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(28):10308-13.

198. Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, Walsh K, Ruiz-Lozano P, Ranscht B. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(12):4342-52.
199. Drolet R, Bélanger C, Fortier M, Huot C, Mailloux J, Légaré D, i sur. Fat depot-specific impact of visceral obesity on adipocyte adiponectin release in women. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17(3):424-30.
200. Blüher M, Williams CJ, Klöting N, Hsi A, Ruschke K, Oberbach A, i sur. Gene expression of adiponectin receptors in human visceral and subcutaneous adipose tissue is related to insulin resistance and metabolic parameters and is altered in response to physical training. *Diabetes Care.* 2007;30(12):3110-5.
201. Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, Pedersen SB, Toubro S, Astrup A, i sur. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285(3):E527-33.
202. Cantarin MPM, Waldman S, Doria C, Frank, A. M., Maley, W. R., Ramirez, C. B., i sur. The adipose tissue production of adiponectin is increased in end stage renal disease. *Kidney Int.* 2013;83(3):487-94.
203. Kern PA, Di Gregorio GB, Lu T, Rassouli N, Ranganathan G. Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression. *Diabetes.* 2003;52(7):1779-85.
204. Kusminski CM, McTernan PG, Schraw T, Kos K, O'Hare JP, Ahima R, i sur. Adiponectin complexes in human cerebrospinal fluid: distinct complex distribution from serum. *Diabetologia.* 2007;50(3):634-42.
205. Vaiopoulos AG, Marinou K, Christodoulides C, Koutsilieris M. The role of adiponectin in human vascular physiology. *Int J Cardiol.* 2012;155(2):188-93.
206. Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, i sur. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat Med.* 2004;10(5):524-9.
207. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N. The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS letters.* 2008;582(1):74-80.
208. Frankenberg ADV, Reis AF, Gerchman F. Relationships between adiponectin levels, the metabolic syndrome, and type 2 diabetes: a literature review. *Arch Endocrinol Metab.* 2017;61(6):614-622.



209. Dalamaga M, Christodoulatos GS. Adiponectin as a biomarker linking obesity and adiposopathy to hematologic malignancies. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2015;23(1):5-20.
210. Fu Y, Luo N, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res.* 2005;46(7):1369-79.
211. Lara-Castro C, Fu Y, Chung BH, Garvey WT. Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18(3):263-70.
212. Sell H, Dietze-Schroeder D, Eckardt K, Eckel J. Cytokine secretion by human adipocytes is differentially regulated by adiponectin, AICAR, and troglitazone. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;343(3):700-6.
213. Brooks NL, Moore KS, Clark RD, Perfetti MT, Trent CM, Combs TP. Do low levels of circulating adiponectin represent a biomarker or just another risk factor for the metabolic syndrome? *Diabetes Obes Metab.* 2007;9(3):246-58.
214. Tomas E, Tsao TS, Saha AK, Murrey HE, Zhang Cc Cc, Itani SI, i sur. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 ;99(25):16309-13.
215. Ceddia RB, Somwar R, Maida A, Fang X, Bikopoulos G, Sweeney G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetologia* 2005; 48(1):132-9.
216. Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energygauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab* 2005; 1(1):15-25.
217. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, i sur. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002; 8(11):1288-95.
218. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, i sur. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med.* 2001; 7(8): 941-6.
219. Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest.* 2001; 108(12):1875-81.

220. Blumer RM, van Roomen CP, Meijer AJ, Houben-Weerts JH, Sauerwein HP, Dubbelhuis PF. Regulation of adiponectin secretion by insulin and amino acids in 3T3-L1 adipocytes. *Metabolism*. 2008;57(12):1655-62.
221. Pereira RI, Draznin B. Inhibition of the phosphatidylinositol 3'-kinase signaling pathway leads to decreased insulin-stimulated adiponectin secretion from 3T3-L1 adipocytes. *Metabolism*. 2005;54(12):1636-43.
222. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, i sur. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet*. 2003;361(9353):226-8.
223. Wannamethee SG, Lowe GD, Rumley A i sur. Adipokines and risk of type 2 diabetes in older men. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1200-05.
224. Snijder MB, Heine RJ, Seidell JC, Bouter LM, Stehouwer CD, Nijpels G, i sur. Associations of adiponectin levels with incident impaired glucose metabolism and type 2 diabetes in older men and women: the hoorn study. *Diabetes care*. 2006;29(11):2498-503.
225. Imagawa A, Funahashi T, Nakamura T, Moriwaki M, Tanaka S, Nishizawa H, i sur. Elevated serum concentration of adipose-derived factor, adiponectin, in patients with type 1 diabetes. *Diabetes care*. 2002;25(9):1665-6.
226. Ranheim T, Haugen F, Staff AC, Braekke K, Harsem NK, Drevon CA. Adiponectin is reduced in gestational diabetes mellitus in normal weight women. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004;83(4):341-7.
227. Mohlig M, Wegewitz U, Osterhoff M, Isken F, Ristow M, Pfeiffer AF, i sur. Insulin decreases human adiponectin plasma levels. *Horm Metab Res*. 2002;34(11-12):655-8.
228. Basu R, Pajvani UB, Rizza RA, Scherer PE. Selective downregulation of the high molecular weight form of adiponectin in hyperinsulinemia and in type 2 diabetes: differential regulation from nondiabetic subjects. *Diabetes*. 2007;56(8):2174-7.
229. Christou GA, Tellis KC, Elisaf MC, Tselepis AD, Kiortsis DN. High density lipoprotein is positively correlated with the changes in circulating total adiponectin and high molecular weight adiponectin during dietary and fenofibrate treatment. *Hormones*. 2012;11(2):178-88.
230. Drew BG, Duffy SJ, Formosa MF, Natoli AK, Henstridge DC, Penfold SA, i sur. High-density lipoprotein modulates glucose metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2009;119(15):2103-11.
231. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med*. 2012;18(3):363-74.

232. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ i sur. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and seks *Diabetologia*, 2003;46 (4):459-69.
233. Tsuchida A, Yamauchi T, Takekawa S, Hada Y, Ito Y, Maki T, i sur. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)alpha activation increases adiponectin receptors and reduces obesity-related inflammation in adipose tissue: comparison of activation of PPARalpha, PPARgamma, and their combination. *Diabetes*. 2005;54(12):3358-70.
234. S.G. Wakil, Abu-Elheiga LA. Fatty acid metabolism: target for metabolic syndrome. *J. Lipid Res*. 2009;50(Suppl):S138-S143.
235. Lochhead PA, Coghlan M, Rice SQ, Sutherland C. Inhibition of GSK-3 selectively reduces glucose-6-phosphatase and phosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression. *Diabetes*. 2001;50 (5):937-46.
236. Ghadge AA, Khaire AA, Kuvalekar AA. Adiponectin: A potential therapeutic target for metabolic syndrome. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2018;39:151-8.
237. Chruściel P, Sahebkar A, Rembek-Wieliczko M, Serban MC, Ursoniu S, Mikhailidis DP, i sur. Impact of statin therapy on plasma adiponectin concentrations: A systematic review and meta-analysis of 43 randomized controlled trial arms. *Atherosclerosis*. 2016;253:194-208.
238. Sahebkar A, Watts GF. Fibrate therapy and circulating adiponectin concentrations: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Atherosclerosis*. 2013;230(1):110-20.
239. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J i sur. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79-83.
240. De Rosa A, Monaco ML, Capasso M, Forestieri P, Pilone V, Nardelli C, i sur. Adiponectin oligomers as potential indicators of adipose tissue improvement in obese subjects. *Eur J Endocrinol*. 2013 ;169(1):37-43.
241. Daniele A, De Rosa A, Nigro E, Scudiero O, Capasso M, Masullo M, i sur. Adiponectin oligomerization state and adiponectin receptors airway expression in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012;44(3):563-9.
242. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, i sur. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(8):3815-9.

243. Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(2):326-30.
244. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(6):1595-9.
245. Adamczak 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(1):72-5.
246. Kobayashi K, Inoguchi T, Sonoda N, Sekiguchi N, Nawata H. Adiponectin inhibits the binding of low-density lipoprotein to biglycan, a vascular proteoglycan. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;335(1):66-70.
247. Chirumbolo S. Single Nucleotide Polymorphism (SNP) in the Adiponectin Gene and Cardiovascular Disease. *Iran Biomed J.* 2016;20(3):187-8.
248. Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alokail MS, Alkharfy KM, Hussain T. Adiponectin gene variants and the risk of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes. *Mol Biol Rep.* 2011;38(6):3703-8.
249. Chen H, Montagnani M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278(45):45021-6.
250. Van Berendoncks AM, Garnier A, Beckers P, Hoymans VY, Possemiers N, Fortin D, et al. Functional adiponectin resistance at the level of the skeletal muscle in mild to moderate chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2010;3(2):185-94.
251. Kuo SM, Halpern MM. Lack of association between body mass index and plasma adiponectin levels in healthy adults. *Int J Obes (Lond).* 2011;35(12):1487-94.
252. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Chung WJ, Lee Y, Shin EK. Anti-inflammatory and metabolic effects of candesartan in hypertensive patients. *Int J Cardiol.* 2006;108(1):96-100.
253. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Chung WJ, Ahn JY, Seo YH, et al. Additive beneficial effects of losartan combined with simvastatin in the treatment of hypercholesterolemic, hypertensive patients. *Circulation.* 2004;110(24):3687-92.
254. Shibata R, Sato K, Pimentel DR, Takemura Y, Kihara S, Ohashi K, et al. Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK- and COX-2-dependent mechanisms. *Nat Med.* 2005;11(10):1096-103.

255. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *Jama*. 2004;291(14):1730-7.
256. Lu G, Chiem A, Anuurad E, Havel PJ, Pearson TA, Ormsby B, i sur. Adiponectin levels are associated with coronary artery disease across Caucasian and African-American ethnicity. *Transl Res*. 2007;149(6):317-23.
257. El-Menyar A, Rizk N, Al Nabti AD, Hassira SA, Singh R, Abdel Rahman MO, i sur. Total and high molecular weight adiponectin in patients with coronary artery disease. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2009;10(4):310-5.
258. Kobayashi H, Ouchi N, Kihara S, Walsh K, Kumada M, Abe Y, i sur. Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ Res*. 2004;94(4):e27-31.
259. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, i sur. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(1):85-9.
260. Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol*. 2009;78(6):539-52.
261. Han SH, Quon MJ, Kim JA, Koh KK. Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(5):531-8.
262. Tishinsky JM, Dyck DJ, Robinson LE. Lifestyle factors increasing adiponectin synthesis and secretion. *Vitam Horm*. 2012;90:1-30.
263. Lau WB, Zhang Y, Zhao J, Liu B, Wang X, Yuan Y, i sur. Lymphotoxin-alpha is a novel adiponectin expression suppressor following myocardial ischemia/reperfusion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;304(6):E661-7.
264. Tang H, Sebastian BM, Axhemi A, Chen X, Hillian AD, Jacobsen DW, i sur. Ethanol-induced oxidative stress via the CYP2E1 pathway disrupts adiponectin secretion from adipocytes. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36(2):214-22.
265. Ho PC, Wei LN. Negative regulation of adiponectin secretion by receptor interacting protein 140 (RIP140). *Cell Signal*. 2012;24(1):71-6.
266. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, i sur. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000;96(5):1723-32.

267. Ohashi K, Parker JL, Ouchi N, Higuchi A, Vita JA, Gokce N, i sur. Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype. *J Biol Chem.* 2010;285(9):6153-60.
268. Fantuzzi G. Adiponectin in inflammatory and immune-mediated diseases. *Cytokine.* 2013;64(1):1-10.
269. Sun Y, Xun K, Wang C, Zhao H, Bi H, Chen X, i sur. Adiponectin, an unlocking adipocytokine. *Cardiovasc Ther.* 2009;27(1):59-75.
270. Yamauchi T, Kadowaki T. Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases. *Cell Metab.* 2013;17(2):185-96.
271. Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, i sur. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(6):E1253-61.
272. Schaffler A, Neumeier M, Herfarth H, Furst A, Scholmerich J, Buchler C. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1732(1-3):96-102.
273. Kralisch S, Klein J, Bluher M, Paschke R, Stumvoll M, Fasshauer M. Therapeutic perspectives of adipocytokines. *Expert Opin Pharmacother.* 2005;6(6):863-72.
274. Tsuji S, Uehori J, Matsumoto M, Suzuki Y, Matsuhisa A, Toyoshima K, i sur. Human intelectin is a novel soluble lectin that recognizes galactofuranose in carbohydrate chains of bacterial cell wall. *J Biol Chem.* 2001;276(26):23456-63.
275. Lee JK, Schnee J, Pang M, Wolfert M, Baum LG, Moremen KW, i sur. Human homologs of the *Xenopus* oocyte cortical granule lectin XL35. *Glycobiology.* 2001;11(1):65-73.
276. Suzuki YA, Shin K, Lonnerdal B. Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor. *Biochemistry.* 2001;40(51):15771-9.
277. Komiya T, Tanigawa Y, Hirohashi S. Cloning of the novel gene intelectin, which is expressed in intestinal paneth cells in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;251(3):759-62.
278. Fu M, Gong DW, Damcott C, Sabra M, Yang RZ, Pollin TI, i sur. Systematic analysis of omentin 1 and omentin 2 on 1q23 as candidate genes for type 2 diabetes in the Old Order Amish. *Diabetes.* 2004;53:A59.
279. St Jean P, Husueh WC, Mitchell B, Ehm M, Wanger M, Burns D, Shuldiner AR: Association between diabetes, obesity, glucose and insulin levels in the Old Older Amish and SNPs on 1q21-23. *Am J Hum Genet.* 2000;67:332-37.

280. Yan P, Liu D, Long M, Ren Y, Pang J, Li R. Changes of Serum Omentin Levels and Relationship between Omentin and Adiponectin Concentrations in Type 2 Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011;119(4):257-63.
281. Watanabe T, Watanabe-Kominato K, Takahashi Y, Kojima M, Watanabe R. Adipose Tissue-Derived Omentin-1 Function and Regulation. *Compr Physiol*. 2017;7(3):765-81.
282. Wesener DA, Wangkanont K, McBride R, Song X, Kraft MB, Hodges HL, i sur. Recognition of microbial glycans by human intelectin-1. *Nat Struct Mol Biol*. 2015;22(8):603-10.
283. de Souza Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, i sur. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007;56(6):1655-61.
284. Moreno-Navarrete JM, Catalan V, Ortega F, Gomez-Ambrosi J, Ricart W, Fruhbeck G, i sur. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;7:27.
285. Barker G, Lim R, Georgiou HM, Lappas M. Omentin-1 is decreased in maternal plasma, placenta and adipose tissue of women with pre-existing obesity. *PloS one*. 2012;7(8):e42943. doi: 10.1371/journal.pone.0042943. Epub 2013 Mar 29.
286. Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Gourgiotis D, Marmarinos A, Liosi S, i sur. Omentin-1 and vaspin are present in the fetus and neonate, and perinatal concentrations are similar in normal and growth-restricted pregnancies. *Metabolism*. 2011;60(4):486-90.
287. Tan BK, Adya R, Randeva HS. Omentin: a novel link between inflammation, diabetes, and cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med*. 2010;20(5):143-8.
288. El-Mesallamy HO, El-Derany MO, Hamdy NM. Serum omentin-1 and chemerin levels are interrelated in patients with Type 2 diabetes mellitus with or without ischaemic heart disease. *Diabet Med*. 2011;28(10):1194-200.
289. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Lewandowski KC, O'Hare P, Lehnert H, i sur. 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(4):801-8.
290. Yan P, Li L, Yang M, Liu D, Liu H, Boden G, i sur. Effects of the long-acting human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide on plasma omentin-1 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;92(3):368-74.

291. Gürsoy G, Kınap NG, Ebah O, Acar Y, Demirbas B, Akçayöz S i sur . The relationship between plasma omentin-1 levels and insulin resistance in newly diagnosed type 2 diabetic women. *Clin Rev Opinion*. 2010;2(4):49-54.
292. Tan BK, Pua S, Syed F, Lewandowski KC, O'Hare JP, Randeve HS. Decreased plasma omentin-1 levels in Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2008;25(10):1254-5.
293. Greulich S, Chen WJ, Maxhera B, Rijzewijk LJ, van der Meer RW, Jonker JT, i sur. Cardioprotective properties of omentin-1 in type 2 diabetes: evidence from clinical and in vitro studies. *PLoS One*. 2013;8(3):e59697. doi: 10.1371/journal.pone.0059697
294. Herder C, Ouwens DM, Carstensen M, Kowall B, Huth C, Meisinger C, i sur. Adiponectin may mediate the association between omentin, circulating lipids and insulin sensitivity: results from the KORA F4 study. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(4):423-32.
295. Kataoka Y, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Enomoto T, Uemura Y , i sur. Omentin prevents myocardial ischaemic injury through AMP- activated protein kinase - and Akt-dependent mechanisms. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:2722–33.
296. Kuzmicki M, Telejko B, Szamatowicz J, Zonenberg A, Nikolajuk A, Kretowski A, i sur. High resistin and interleukin-6 levels are associated with gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol*. 2009;25(4):258-63.
297. Lewandowski K, Nadel I, Lewinski A, Bienkiewicz M, Tan B, Randeve HS, i sur. Positive correlation between serum omentin and thrombospondin-1 in gestational diabetes despite lack of correlation with insulin resistance indices. *Ginekol Pol*. 2010;81(12):907-12.
298. Akiyama Y, Oshima K, Kuhara T, Shin K, Abe F, Iwatsuki K, i sur. A lactoferrin-receptor, intelectin 1, affects uptake, sub-cellular localization and release of immunochemically detectable lactoferrin by intestinal epithelial Caco-2 cells. *J Biochem*. 2013;154(5):437-48.
299. Siejka A, Jankiewicz-Wika J, Kołomecki K, Cywiński J, Piestrzeniewicz P, Świętosławski J, i sur. Long-term impact of vertical banded gastroplasty (VBG) on plasma concentration of leptin, soluble leptin receptor, ghrelin, omentin-1, obestatin, and retinol binding protein 4 (RBP4) in patients with severe obesity *Cytokine*. 2013;64(2):490-3.
300. Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;393(4):668-72.



301. Yamawaki H, Kuramoto J, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;408(2):339-43.
302. Xie H, Xie PL, Wu XP, Chen SM, Zhou HD, Yuan LQ, i sur. Omentin-1 attenuates arterial calcification and bone loss in osteoprotegerin-deficient mice by inhibition of RANKL expression. *Cardiovasc Res.* 2011;92(2):296-306.
303. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, i sur. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem.* 2012;287(1):408-17.
304. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Castro A, Sabater M, Ricart W, Fernandez-Real JM. Circulating omentin as a novel biomarker of endothelial dysfunction. *Obesity.* 2011;19(8):1552-9.
305. Shibata R, Ouchi N, Kikuchi R, Takahashi R, Takeshita K, Kataoka Y, i sur. Circulating omentin is associated with coronary artery disease in men. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):811-4.
306. Shibata R, Takahashi R, Kataoka Y, Ohashi K, Ikeda N, Kihara S, i sur. Association of a fat-derived plasma protein omentin with carotid artery intima-media thickness in apparently healthy men. *Hypertens Res.* 2011;34(12):1309-12.
307. Shiojima I, Walsh K. Role of Akt signaling in vascular homeostasis and angiogenesis. *Circ Res.* 2002;90(12):1243-50.
308. Zhong X, Zhang HY, Tan H, Zhou Y, Liu FL, Chen FQ, i sur. Association of serum omentin-1 levels with coronary artery disease. *Acta Pharmacol Sin.* 2011;32:873-8.
309. Fain JN, Sacks HS, Buehrer B, Bahouth SW, Garrett E, Wolf RY, i sur. Identification of omentin mRNA in human epicardial adipose tissue: comparison to omentin in subcutaneous, internal mammary artery periadventitial and visceral abdominal depots. *Int J Obes (Lond).* 2008;32(5):810-5.
310. Shang FJ, Wang JP, Liu XT, Zheng QS, Xue YS, Wang B, i sur. Serum omentin-1 levels are inversely associated with the presence and severity of coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Biomarkers.* 2011;16(8):657-62.
311. Pan HY, Guo L, Li Q. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;88(1):29-33.

312. Tan YL, Zheng XL, Tang CK. The protective functions of omentin in cardiovascular diseases. *Clin Chim Acta*. 2015;448:98–106.
313. Halabis M, Dziedzic M, Warchulinska J, Kaznowska-Bystryk I, Solski J. Omentin - a new adipokine with many roles to play. *Curr Issues Pharm Med Sci*. 2015; 28(3):176-80.
314. Lu Y, Zhou L, Liu L, Feng Y, Lu L, Ren X, i sur. Serum omentin-1 as a disease activity marker for Crohn's disease. *Dis Markers*. 2014;2014:162517.
315. Senolt L, Polanska M, Filkova M, Cerezo LA, Pavelka K, Gay S, i sur. Vaspin and omentin: new adipokines differentially regulated at the site of inflammation in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(7):1410-1.
316. Kuperman DA, Lewis CC, Woodruff PG, Rodriguez MW, Yang YH, Dolganov GM, i sur. Dissecting asthma using focused transgenic modeling and functional genomics. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116(2):305-11.
317. Jaikanth C, Gurumurthy P, Cherian KM, Indhumathi T. Emergence of omentin as a pleiotropic adipocytokine. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013;121(7):377-83.
318. Wali A, Morin PJ, Hough CD, Lonardo F, Seya T, Carbone M, i sur. Identification of intelectin overexpression in malignant pleural mesothelioma by serial analysis of gene expression (SAGE). *Lung cancer*. 2005;48(1):19-29.
319. Campbell KL, Foster-Schubert KE, Makar KW, Kratz M, Hagman D, Schur EA, i sur. Gene expression changes in adipose tissue with diet- and/or exercise-induced weight loss. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013;6(3):217-31.
320. Faggioni R, Feingold KR, Grunfeld C. Leptin regulation of the immune response and the immunodeficiency of malnutrition. *FASEB J*. 2001;15(14):2565-71.
321. 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;145(5):2273-82.
322. Dagogo-Jack S, Fanelli C, Paramore D, Brothers J, Landt M. Plasma leptin and insulin relationships in obese and nonobese humans. *Diabetes*. 1996 ;45(5):695-8.
323. Zakrzewska KE, Cusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: toward an understanding of leptin resistance. *Diabetes*. 1997;46(4):717-9.
324. Fungfuang W, Terada M, Komatsu N, Moon C, Saito TR. Effects of estrogen on food intake, serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue of female rats. *Lab Anim Res*. 2013;29(3):168-73.

325. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26(11):1407-33.
326. Bjorbaek C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res.* 2004;59:305-31.
327. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998;395(6704):763-70.
328. Flier JS. Clinical review 94: what's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1407–1413.
329. Rexford S. Revisiting leptin's role in obesity and weight loss. *J Clin Invest.* 2008 ; 118(7): 2380–83.
330. Bjørbaek C, Elmquist JK, Michl P, Ahima RS, van Bueren A, McCall AL, i sur. Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology.* 1998 ;139(8):3485-91.
331. Sivitz WI, Walsh SA, Morgan DA, Thomas MJ, Haynes WG. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinology.* 1997;138(8):3395-401.
332. de Courten M, Zimmet P, Hodge A, Collins V, Nicolson M, Staten M, i sur. Hyperleptinaemia: the missing link in the, metabolic syndrome? *Diabet Med.* 1997;14(3):200-8.
333. Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science.* 1996;274(5290):1185-8.
334. O'Rourke L, Yeaman SJ, Shepherd PR. Insulin and leptin acutely regulate cholesterol ester metabolism in macrophages by novel signaling pathways. *Diabetes.* 2001;50(5):955-61.
335. Lundasen T, Liao W, Angelin B, Rudling M. Leptin induces the hepatic high density lipoprotein receptor scavenger receptor B type I (SR-BI) but not cholesterol 7alpha-hydroxylase (Cyp7a1) in leptin-deficient (ob/ob) mice. *J Biol Chem.* 2003;278(44):43224-8.
336. Koh KK, Park SM, Quon MJ. Leptin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *Circulation.* 2008;117(25):3238-49.
337. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2548-56.
338. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998;394(6696):897-901.

339. Cock TA, Auwerx J. Leptin: cutting the fat off the bone. *Lancet*. 2003;362(9395):1572-4.
340. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307-12.
341. Lee SE, Kim HS. Human resistin in cardiovascular disease. *J Smooth Muscle Res*. 2012;48(1):27-35.
342. Ghosh S, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ehtesham NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene*. 2003;305(1):27-34.
343. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, et al. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes*. 2001;50(10):2199-202.
344. Park HK, Ahima RS. Resistin in rodents and humans. *Diabetes Metab J*. 2013;37(6):404-14.
345. Lazar MA. Resistin- and obesity-associated metabolic diseases. *Horm Metab Res*. 2007;39(10):710-6.
346. Schwartz DR, Lazar MA. Human resistin: found in translation from mouse to man. *Trends Endocrinol Metab*. 2011;22(7):259-65.
347. Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(2):279-84.
348. Singh AK, Tiwari S, Gupta A, Natsu SM, Mittal B, Pant AB. Association of resistin with metabolic syndrome in Indian subjects. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012;10(4):286-91.
349. Abate N, Sallam HS, Rizzo M, Nikolic D, Obradovic M, Bjelogrić P, et al. Resistin: an inflammatory cytokine. Role in cardiovascular diseases, diabetes and the metabolic syndrome. *Curr Pharm Des*. 2014;20(31):4961-9.
350. Costandi J, Melone M, Zhao A, Rashid S. Human resistin stimulates hepatic overproduction of atherogenic ApoB-containing lipoprotein particles by enhancing ApoB stability and impairing intracellular insulin signaling. *Circ Res*. 2011;108(6):727-42.
351. Hsu WY, Chao YW, Tsai YL, Lien CC, Chang CF, Deng MC, 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(8):2181-8.
352. Chen C, Jiang J, Lu JM, Chai H, Wang X, Lin PH, et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(1):H193-201.

353. Qiu W, Chen N, Zhang Q, Zhuo L, Wang X, Wang D, i sur. Resistin increases platelet P-selectin levels via p38 MAPK signal pathway. *Diab Vasc Dis Res.* 2014;11(2):121-4.
354. Filkova M, Haluzik M, Gay S, Senolt L. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies. *Clin Immunol.* 2009;133(2):157-70.
355. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br J Pharmacol.* 2012;165(3):622-32.
356. Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. *J Immunol.* 2005;174(9):5789-95.
357. Jung HS, Park KH, Cho YM, Chung SS, Cho HJ, Cho SY, i sur. Resistin is secreted from macrophages in atheromas and promotes atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2006;69(1):76-85.
358. Ruan H, Lodish HF. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14(5):447-55.
359. Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27(Suppl 3):S53-5.
360. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function. *Nature.* 1997;389(6651):610-4.
361. Ruan H, Miles PD, Ladd CM, Ross K, Golub TR, Olefsky JM, i sur. Profiling gene transcription in vivo reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor-alpha: implications for insulin resistance. *Diabetes.* 2002;51(11):3176-88.
362. Sack M. Tumor necrosis factor-alpha in cardiovascular biology and the potential role for anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in heart disease. *Pharmacol Ther.* 2002;94(1-2):123-35.
363. Kanda T, Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Jpn Heart J.* 2004;45(2):183-93.
364. Fernández-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev.* 2003;24(3):278-301.
365. Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Zimmers TA, Koniaris LG, Furlanetto RW, i sur. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem.* 2003;278(16):13740-6.

366. Sopasakis VR, Sandqvist M, Gustafson B, Hammarstedt A, Schmelz M, Yang X, *i sur.* High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator. *Obes Res.* 2004;12(3):454-60.
367. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 2002;16:1335-47.
368. De Benedetti F, Alonzi T, Moretta A, Lazzaro D, Costa P, Poli V, *i sur.* Interleukin 6 causes growth impairment in transgenic mice through a decrease in insulin-like growth factor-I. A model for stunted growth in children with chronic inflammation. *J Clin Invest.* 1997;99(4):643-50.
369. Wallenius V, Wallenius K, Ahren B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL, *i sur.* Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med.* 2002;8(1):75-9.
370. Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J.* 1996 ;318 ( Pt 1):1-14.
371. Meigs JB, Panhuysen CI, Myers RH, Wilson PW, Cupples LA. A genome-wide scan for loci linked to plasma levels of glucose and HbA(1c) in a community-based sample of Caucasian pedigrees: The Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2002;51(3):833-40.
372. Colantuoni V, Romano V, Bensi G, Santoro C, Costanzo F, Raugei G, *i sur.* Cloning and sequencing of a full length cDNA coding for human retinol-binding protein. *Nucleic Acids Res.* 1983;11(22):7769-76.
373. Tsutsumi C, Okuno M, Tannous L, Piantedosi R, Allan M, Goodman DS, *i sur.* Retinoids and retinoid-binding protein expression in rat adipocytes. *J Biol Chem.* 1992;267(3):1805-10.
374. Zovich DC, Orologa A, Okuno M, Kong LW, Talmage DA, Piantedosi R, *i sur.* Differentiation-dependent expression of retinoid-binding proteins in BFC-1 beta adipocytes. *J Biol Chem.* 1992;267(20):13884-9.
375. Newcomer ME, Ong DE. Plasma retinol binding protein: structure and function of the prototypic lipocalin. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1482(1-2):57-64.
376. Erikstrup C, Mortensen OH, Nielsen AR, Fischer CP, Plomgaard P, Petersen AM, *i sur.* RBP-to-retinol ratio, but not total RBP, is elevated in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2009;11(3):204-12.
377. Kos K, Wong S, Tan BK, Kerrigan D, Randeve HS, Pinkney JH, *i sur.* Human RBP4 adipose tissue expression is gender specific and influenced by leptin. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;74(2):197-205.

378. Fernández-Real JM, Moreno JM, Ricart W. Circulating Retinol-Binding Protein-4 Concentration Might Reflect Insulin Resistance–Associated Iron Overload. *Diabetes*. 2008;57(7):1918-25.
379. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J*. 1996;10(9):940-54.
380. Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, i sur. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med*. 2006;354(24):2552-63.
381. Kotnik P, Fischer-Posovszky P, Wabitsch M. RBP4: a controversial adipokine. *Eur J Endocrinol*. 2011;165(5):703-11.
382. Hermsdorff HH, Zulet MA, Puchau B, Martinez JA. Central adiposity rather than total adiposity measurements are specifically involved in the inflammatory status from healthy young adults. *Inflammation*. 2011;34(3):161-70.
383. Cho YM, Youn BS, Lee H, Lee N, Min SS, Kwak SH, i sur. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(11):2457-61.
384. Klötting N1, Graham TE, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Wason CJ, i sur. Serum retinol-binding protein is more highly expressed in visceral than in subcutaneous adipose tissue and is a marker of intra-abdominal fat mass. *Cell Metab*. 2007;6(1):79-87.
385. Lee JW, Lee HR, Shim JY, Im JA, Lee DC. Abdominal visceral fat reduction is associated with favorable changes of serum retinol binding protein-4 in nondiabetic subjects. *Endocr J*. 2008;55(5):811-8.
386. 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(7):1802-6.
387. Jia W, Wu H, Bao Y, Wang C, Lu J, Zhu J, i sur. Association of serum retinol-binding protein 4 and visceral adiposity in Chinese subjects with and without type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(8):3224-9.
388. Qi Q, Yu Z, Ye X, Zhao F, Huang P, Hu FB, i sur. Elevated retinol-binding protein 4 levels are associated with metabolic syndrome in Chinese people. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(12):4827-34.
389. Gerber LE, Erdman JW Jr. Retinoic acid and hypertriglyceridemia. *Ann N Y Acad Sci*. 1981;359:391-2.
390. Thuren T. Hepatic lipase and HDL metabolism. *Curr OpinLipidol*. 2000;11(3):277-83.

391. Broch M, Gómez JM, Auguet MT, Vilarrasa N, Pastor R, Elio I, i sur. Association of retinol-binding protein-4 (RBP4) with lipid parameters in obese women. *Obes Surg*. 2010; 20(9):1258-64.
392. Bobbert T, Raila J, Schwarz F, Mai K, Henze A, Pfeiffer AF, i sur. Relation between retinol, retinol-binding protein 4, transthyretin and carotid intima media thickness. *Atherosclerosis*. 2010;213(2):549-51.
393. Aust G, Uptaite-Patapoviene M, Scholz M, Richter O, Rohm S, Bluher M. Circulating Nampt and RBP4 levels in patients with carotid stenosis undergoing carotid endarterectomy (CEA). *Clin Chim Acta*. 2011;412(13-14):1195-200.
394. Mallat Z, Simon T, Benessiano J, Clement K, Taleb S, Wareham NJ, i sur. Retinol-binding protein 4 and prediction of incident coronary events in healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(1):255-60.
395. Ye J, McGuinness OP. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;304(5):E466-77.
396. Bots ML, de Jong PT, Hofman A, Grobbee DE. Left, right, near or far wall common carotid intima-media thickness measurements: associations with cardiovascular disease and lower extremity arterial atherosclerosis. *J Clin Epidemiol*. 1997;50:801-7.
397. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340:14-22.
398. Touboul, PJ, Hennerici M, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, i sur. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012; 34(4): 290-96.
399. van der Velden VH, Hochhaus A, Cazzaniga G, Szczepanski T, Gabert J, van Dongen JJ. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches and laboratory aspects. *Leukemia* 2003;17:1013-34.
400. Fisher FM, McTernan PG, Valsamakis G, Chetty R, Harte AL, Anwar AJ, i sur. Differences in adiponectin protein expression: effect of fat depots and type 2 diabetic status. *Horm Metab Res*. 2002 ;34(11-12):650-4.



401. 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(1-2):9-15.
402. Kouidhi S, Jarboui S, Marrakchi R, Froidevaux MS, Seugnet I, Abid H, i sur. Adiponectin expression and metabolic markers in obesity and Type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest.* 2011;34(2):e16-23.
403. Shibata R, Ouchi N, Ohashi K, Murohara T. The role of adipokines in cardiovascular disease. *J Cardiol* 2017;70:329–34.
404. Fujikawa R, Ito C, Nakashima R, Orita Y, Ohashi N. Is there any association between subcutaneous adipose tissue area and plasma total and high molecular weight adiponectin levels? *Metabolism.* 2008;57(4):506-10.
405. Hanley AJ, Bowden D, Wagenknecht LE, Balasubramanyam A, Langfeld C, Saad MF, i sur. Associations of adiponectin with body fat distribution and insulin sensitivity in nondiabetic Hispanics and African-Americans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(7):2665-71.
406. Yang WS, Chen MH, Lee WJ, Lee KC, Chao CL, Huang KC, i sur. Adiponectin mRNA levels in the abdominal adipose depots of nondiabetic women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003; 27(8): 896–900.
407. Matloch Z, Kratochvílová H, Cinkajzlová A, Lipš M, Kopecký P, Pořízka M, i sur. Changes in omentin levels and its mRNA expression in epicardial adipose tissue in patients undergoing elective cardiac surgery: the influence of type 2 diabetes and coronary heart disease. *Physiol Res.* 2018: 11. [Epub ahead of print]
408. Urbanová M, Dostálová I, Trachta P, Drápalová J, Kaválková P, Haluzíková D, i sur. Serum concentrations and subcutaneous adipose tissue mRNA expression of omentin in morbid obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of very-low-calorie diet, physical activity and laparoscopic sleeve gastrectomy. *Physiol Res.* 2014;63(2):207-18.
409. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001;7(8):947-53.
410. Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, i sur. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond).* 2002;103(2):137-42.

411. Hung J, McQuillan BM, Thompson PL, Beilby JP. Circulating adiponectin levels associate with inflammatory markers, insulin resistance and metabolic syndrome independent of obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(5):772–9.
412. Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y, Hada Y, Maki T, Takekawa S, i sur. Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J Biol Chem*. 2004;279(29):30817-22.
413. McAinch AJ, Steinberg GR, Mollica J, O'Brien PE, Dixon JB, Macaulay SL, i sur. Differential regulation of adiponectin receptor gene expression by adiponectin and leptin in myotubes derived from obese and diabetic individuals. *Obesity*. 2006;14(11):1898-904.
414. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(6):2764-9.
415. Van Linthout S, Foryst-Ludwig A, Spillmann F, Peng J, Feng Y, Meloni M, i sur. Impact of HDL on adipose tissue metabolism and adiponectin expression. *Atherosclerosis*. 2010;210(2):438-44.
416. Oku H, Matsuura F, Koseki M, Sandoval JC, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, i sur. Adiponectin deficiency suppresses ABCA1 expression and ApoA-I synthesis in the liver. *FEBS Lett*. 2007;581(26):5029-33.
417. Schneider JG, von Eynatten M, Schiekofer S, Nawroth PP, Dugi KA. Low plasma adiponectin levels are associated with increased hepatic lipase activity in vivo. *Diabetes care*. 2005;28(9):2181-6.
418. Schulze MB, Shai I, Rimm EB, Li T, Rifai N, Hu FB. Adiponectin and future coronary heart disease events among men with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(2):534-9.
419. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 1992;56(2):320-8.
420. Lejeune MP, Hukshorn CJ, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS. Effects of very low calorie diet induced body weight loss with or without human pegylated recombinant leptin treatment on changes in ghrelin and adiponectin concentrations. *Physiol Behav*. 2007;91(2-3):274-80.
421. Baratta R, Amato S, Degano C, Farina MG, Patane G, Vigneri R, i sur. Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: evidence from both cross-sectional and intervention studies. *The J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2665-71.
422. Mantzoros CS, Li T, Manson JE, Meigs JB, Hu FB. Circulating adiponectin levels are associated with better glycemic control, more favorable lipid profile, and reduced

- inflammation in women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(8):4542-8.
423. Ng TW, Watts GF, Farvid MS, Chan DC, Barrett PH. Adipocytokines and VLDL metabolism: independent regulatory effects of adiponectin, insulin resistance, and fat compartments on VLDL apolipoprotein B-100 kinetics? *Diabetes.* 2005;54(3):795-802.
424. Furukawa K, Hori M, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, et al. Adiponectin down-regulates acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase-1 in cultured human monocyte-derived macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;317(3):831-6.
425. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M, Arita Y, Kumada M, et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2002;106(22):2767-70.
426. Gianturco SH, Bradley WA, Gotto AM Jr., Morrisett JD, Peavy DL. Hypertriglyceridemic very low density lipoproteins induce triglyceride synthesis and accumulation in mouse peritoneal macrophages. *J Clin Invest.* 1982;70(1):168-78.
427. Christou GA, Kiortsis DN. Adiponectin and lipoprotein metabolism. *Obes Rev.* 2013;14(12):939-49.
428. Smith J, Al-Amri M, Sniderman A, Cianflone K. Leptin and adiponectin in relation to body fat percentage, waist to hip ratio and the apoB/apoA1 ratio in Asian Indian and Caucasian men and women. *Nutr Metab (Lond)* 2006;3:18.
429. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(5):1930-5.
430. Ackermann D, Jones J, Barona J, Calle MC, Kim JE, LaPia B, et al. Waist circumference is positively correlated with markers of inflammation and negatively with adiponectin in women with metabolic syndrome. *Nutr Res* 2011;31(3):197-204.
431. Bottner A, Kratzsch J, Muller G, Kapellen TM, Bluher S, Keller E, et al. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(8):4053-61.
432. Tsou PL, Jiang YD, Chang CC, Wei JN, Sung FC, Lin CC, et al. Sex-related differences between adiponectin and insulin resistance in schoolchildren. *Diabetes Care.* 2004;27(2):308-13.
433. Riestra P, Garcia-Angueta A, Ortega L, Garces C. Relationship of adiponectin with sex hormone levels in adolescents. *Horm Res Pediatr.* 2013;79:83-7.

434. Tworoger SS, Mantzoros C, Hankinson SE. Relationship of plasma adiponectin with sex hormone and insulin-like growth factor levels. *Obesity*. 2007;15:2217–24.
435. Chen MC, Lee CJ, Yang CF, Chen YC, Wang JH, Hsu BG. Low serum adiponectin level is associated with metabolic syndrome and is an independent marker of peripheral arterial stiffness in hypertensive patients. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2017;9:49.
436. Yang R, Xu A, Pray J, Hu H, Jadhao S, Hansen B, i sur. Cloning of omentin, a new adipocytokine from omental fat tissue in humans. *Diabetes*. 2003;52(Suppl 1):A1.
437. Rashid S, Watanabe T, Sakaue T, Lewis GF. Mechanisms of HDL lowering in insulin resistant, hypertriglyceridemic states: the combined effect of HDL triglyceride enrichment and elevated hepatic lipase activity. *Clin Biochem*. 2003;36(6):421-9.
438. Xiao C, Dash S, Morgantini C, Hegele RA, Lewis GF. Pharmacological Targeting of the Atherogenic Dyslipidemia Complex: The Next Frontier in CVD Prevention Beyond Lowering LDL Cholesterol. *Diabetes*. 2016;65(7):1767-78.
439. Colhoun HM, Otvos JD, Rubens MB, Taskinen MR, Underwood SR, Fuller JH. Lipoprotein subclasses and particle sizes and their relationship with coronary artery calcification in men and women with and without type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(6):1949–56.
440. Kawakami A, Osaka M, Tani M, Azuma H, Sacks FM, Shimokado K , i sur. Apolipoprotein CIII links hyperlipidemia with vascular endothelial function. *Circulation*. 2008;118(7):731–42.
441. Reiner Z. Hypertriglyceridaemia and risk of coronary artery disease. *Nat Rev Cardiol*. 2017;14(7):401-11.
442. Escote X, Gomez-Zorita S, Lopez-Yoldi M, Milton-Laskibar I, Fernandez-Quintela A, Martinez JA, i sur. Role of Omentin, Vaspin, Cardiotrophin-1, TWEAK and NOV/CCN3 in Obesity and Diabetes Development. *Int J Mol Sci*. 2017;18(8):1770. doi: 10.3390/ijms18081770. [Epub ahead of print]
443. Oświęcimiska J, Suwała A, Świętochowska E, Ostrowska Z, Gorczyca P, Ziara-Jakutowicz K, i sur. Serum omentin levels in adolescent girls with anorexia nervosa and obesity. *Physiol Res*. 2015;64(5):701-9.
444. Catli G, Anik A, Abaci A, Kume T, Bober E. Low omentin-1 levels are related with clinical and metabolic parameters in obese children. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013;121(10):595–600.

445. Prats-Puig A, Bassols J, Bargalló E, Mas-Parareda M, Ribot R, Soriano-Rodríguez P, i sur. Toward an early marker of metabolic dysfunction: Omentin-1 in prepubertal children. *Obesity*. 2011;19(9):1905–7.
446. Luque-Ramirez M, Martinez-Garcia MA, Montes-Nieto R, Fernandez-Duran E, Insenser M, Alpanes M, i sur. Sexual dimorphism in adipose tissue function as evidenced by circulating adipokine concentrations in the fasting state and after an oral glucose challenge. *Hum Reprod*. 2013;28(7):1908-18.
447. Liu R, Wang X, Bu P. Omentin-1 is associated with carotid atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;93(1):21-5.
448. Martinez-Garcia MA, Montes-Nieto R, Fernandez-Duran E, Insenser M, Luque-Ramirez M, Escobar-Morreale HF. Evidence for masculinization of adipokine gene expression in visceral and subcutaneous adipose tissue of obese women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(2):E388-96.
449. Jialal I, Devaraj S, Kaur H, Adams-Huet B, Bremer AA. Increased chemerin and decreased omentin-1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(3):E514-7.
450. Zhou JY, Chan L, Zhou SW. Omentin: linking metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2014 ;12(1):136-43.
451. Goh LG, Dhaliwal SS, Welborn TA, Lee AH, Della PR. Anthropometric measurements of general and central obesity and the prediction of cardiovascular disease risk in women: a cross-sectional study. *BMJ open*. 2014;4(2):e004138. doi: 10.1136/bmjopen-2013-004138. [Epub ahead of print]
452. Shen W, Punyanitya M, Chen J, Gallagher, D, Albu, J, Pi-Sunyer, X i sur. Waist Circumference Correlates with Metabolic Syndrome Indicators Better Than Percentage Fat. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(4):727-36.
453. Zhang L, Shen Y, Zhou J, Pan JM, Yu HY, Chen HB, i sur. Relationship between waist circumference and elevation of carotid intima-media thickness in newly-diagnosed diabetic patients. *Biomed Environ Sci*. 2014;27(5):335-42.
454. Onat A, Hergenc G, Yuksel H, Can G, Ayhan E, Kaya Z, i sur. Neck circumference as a measure of central obesity: associations with metabolic syndrome and obstructive sleep apnea syndrome beyond waist circumference. *Clin Nutr*. 2009;28(1):46-51.
455. Preis SR, Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr, Meigs JB, Vasan RS, Fox CS. Neck circumference and the development of cardiovascular disease risk factors in the Framingham Heart Study. *Diabetes care*. 2013;36(1):e3. doi: 10.2337/dc12-0738.

456. Stabe C, Vasques AC, Lima MM, Tambascia MA, Pareja JC, Yamanaka A, i sur. Neck circumference as a simple tool for identifying the metabolic syndrome and insulin resistance: results from the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;78(6):874-81.
457. Fitch KV, Stanley TL, Looby SE, Rope AM, Grinspoon SK. Relationship between neck circumference and cardiometabolic parameters in HIV-infected and non-HIV-infected adults. *Diabetes care*. 2011;34(4):1026-31.
458. Kurtoglu S, Hatipoglu N, Mazicioglu MM, Kondolot M. Neck circumference as a novel parameter to determine metabolic risk factors in obese children. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(6):623-30.
459. Aurora RN, Punjabi NM. Sleep Apnea and Metabolic Dysfunction: Cause or Co-Relation? *Sleep Med Clin*. 2007;2(2):237-50.
460. Korostovtseva LS, Sviryaev YV, Zvartau NE, Konradi AO, Kalinkin AL. Prognosis and cardiovascular morbidity and mortality in prospective study of hypertensive patients with obstructive sleep apnea syndrome in St Petersburg, Russia. *Med Sci Monit*. 2011;17(3):CR146-53.
461. Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, i sur. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. *Sleep Heart Health Study*. *Jama*. 2000;283(14):1829-36.
462. Ferrannini E, Sironi AM, Iozzo P, Gastaldelli A. Intra-abdominal adiposity, abdominal obesity, and cardiometabolic risk. *Eur Heart J Suppl*. 2008;10:B4–10.
463. Zhou J, Ge H, Zhu M, Wang, L, Chen, L, Tan, Y, i sur. Neck circumference as an independent predictive contributor to cardio-metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:76.
464. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, i sur. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004;350:1387–97.
465. Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, i sur. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 2010;375:132–40.
466. Sattar N, Murray HM, McConnachie A, Blauw GJ, Bollen EL, Buckley BM, i sur. C-reactive protein and prediction of coronary heart disease and global vascular events in the

- Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER). *Circulation* 2007;115:981–9.
467. Poledne R, Lorenzova A, Stavek P, Valenta Z, Hubacek J, Suchanek P, i sur. Proinflammatory status, genetics and atherosclerosis. *Physiol. Res.* 2009;58(Suppl 2):S111-8.
468. Tintera J, Harantova P, Suchanek P, Dvorakova A, Adamova M, Hajek M, i sur. Quantification of intra-abdominal fat during controlled weight reduction: assessment using the water-suppressed breath-hold MRI technique. *Physiol Res.* 2004;53(2):229-34.
469. Kao TW, Lu IS, Liao KC, Lai HY, Loh CH, Kuo HK. Associations between body mass index and serum levels of C-reactive protein. *S Afr Med J.* 2009;99(5):326-30.
470. Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, i sur. An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2010;17(1):1-11.
471. Alissa EM, Al-Salmi MM, Alama NA, Ferns GA. Role of omentin-1 and C-reactive protein in obese subjects with subclinical inflammation. *J Clin Transl Endocrinol.* 2015 Dec 14;3:7-11.
472. Verma S, Devaraj S, Jialal I. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? C-reactive protein promotes atherothrombosis. *Circulation.* 2006 ;113(17):2135-50.
473. Pepys MB, Hawkins PN, Kahan MC, Tennent GA, Gallimore JR, Graham D, i sur. Proinflammatory effects of bacterial recombinant human C-reactive protein are caused by contamination with bacterial products, not by C-reactive protein itself. *Circ Res.* 2005 Nov 25;97(11):e97-103.
474. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA.* 1998 ;279(18):1477-82.
475. Kivimäki M, Lawlor DA, Juonala M, Smith GD, Elovainio M, Keltikangas-Järvinen L, i sur. Lifecourse socioeconomic position, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in young adults: the cardiovascular risk in Young Finns Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(10):2197-202.
476. Wang TJ, Nam BH, Wilson PW, Wolf PA, Levy D, Polak JF, i sur. Association of C-reactive protein with carotid atherosclerosis in men and women: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;22(10): 1662-7.

477. Kivimäki M, Lawlor DA, Smith GD, Kumari M, Donald A, Britton A, i sur. Does high C-reactive protein concentration increase atherosclerosis? The Whitehall II Study. *PLoS One*. 2008 ;20;3(8):e3013. doi: 10.1371/journal.pone.0003013.
478. Aydin M, Bulur S, Alemdar R, Yalçın S, Türker Y, Basar C, Aslantas Y, i sur. The impact of metabolic syndrome on carotid intima media thickness. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 ;17(17):2295-301.
479. Gast KB, den Heijer M, Smit JW, Widya RL, Lamb HJ, de Roos A, i sur. Individual contributions of visceral fat and total body fat to subclinical atherosclerosis: The NEO study. *Atherosclerosis*. 2015 Aug;241(2):547-54.
480. Bertoni AG, Wong ND, Shea S, Ma S, Liu K, Preethi S, i sur. Insulin resistance, metabolic syndrome, and subclinical atherosclerosis: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care* 2007;30(11):2951–56.
481. Kullo IJ, Cassidy AE, Peyser PA, Turner ST, Sheedy PF 2nd, Bielak LF. Association between metabolic syndrome and subclinical coronary atherosclerosis in asymptomatic adults. *Am J Cardiol* 2004;94(12):1554–58.
482. Plantinga Y, Dogan S, Grobbee DE, Bots ML. Carotid intima-media thickness measurement in cardiovascular screening programmes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2009;16(6):639-44.



## 11. ŽIVOTOPIS

Danijela Grizelj je rođena 1983. godine u Mostaru, BiH. Osnovnu školu je završila u Vitini, a Opću gimnaziju u Ljubuškom, BiH. Nakon mature, 2001. godine upisala je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem je diplomirala 2007. godine. Nakon studija i obaveznog jednogodišnjeg pripravničkog staža u KB Sveti duh, položila je državni ispit 2008. godine. Od 2009. godine zaposlena je u Kliničkoj bolnici Dubrava, za koju iste godine započinje sa specijalizacijom iz interne medicine. Specijalistički ispit položila je 2013. godine, nakon čega je radila kao internist na Zavodu za bolesti srca i krvnih žila Kliničke bolnice Dubrava. Užu specijalizaciju iz kardiologije započela je 2015. godine. Specijalistički ispit iz kardiologije je položila 2017. godine.