Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s arterijskim tlakom u osoba s normalnom bubrežnom funkcijom

Ivković, Vanja

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:971201

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Vanja Ivković

POVEZANOST POLIMORFIZAMA GENA ZA ADIPONEKTIN S ARTERIJSKIM TLAKOM U OSOBA S NORMALNOM BUBREŽNOM FUNKCIJOM

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.

University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Vanja Ivković

ASSOCIATION OF ADIPONECTIN GENE POLYMORPHISMS WITH BLOOD PRESSURE IN PERSONS WITH NORMAL KIDNEY FUNCTION

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015

Ovaj je doktorski rad izrađen u Zavodu za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof.dr.sc. Bojana Jelakovića u sklopu Sveučilišnog poslijediplomskog doktorskog studija Biologije pri Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Prije svega, zahvaljujem mom prijatelju i mentoru Bojanu Jelakoviću na potpori, usmjeravanju i ohrabrujućim riječima i na svim mogućnostima i prilikama koje mi je pružio tijekom zajedničkog rada. Hvala mu na pametnim i dobrim savjetima koje mi je dao, pogotovo na onima za koje sam naknadno shvatio koliko su pametni i dobri tek nakon što sam tvrdoglavo postupio po svom. Iz takvih sam najviše naučio.

Velike zahvale dugujem Marijani Peričić Salihović i Željki Tomas iz Instituta za antropologiju na pomoći koju su mi pružile poučavanjem statističkih metoda u populacijskoj genetici. Svojim savjetima znatno su unaprijedile ovaj rad.

Zahvaljujem i svim kolegama iz laboratorija i sa Zavoda koji su pomogli u prikupljanju i obradi podataka iz terenskog rada.

Hvala prijateljima i cijeloj mojoj obitelji: Dadi, Igoru, Noahu i Mili, seki Ivki, dedi Cigi, baki Zlati, Miljenoj i ljudima iz Dublina na potpori sve ove godine. Posebno zahvaljujem Goranu na svoj potpori, savjetima i strpljenju.

Ipak, najviše zahvaljujem mojoj majci koja je zaslužna za sve uspjehe i dobre stvari koje sam postigao. Za loše sam se sam pobrinuo. Njoj posvećujem ovaj rad.

Sveučilište u Zagrebu Doktorski rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

POVEZANOST POLIMORFIZAMA GENA ZA ADIPONEKTIN S ARTERIJSKIM TLAKOM U OSOBA S NORMALNOM BUBREŽNOM FUNKCIJOM

VANJA IVKOVIĆ

Adiponektin je protein koji ima antiaterogene, protuupalne i antidijabetičke učinke u organizmu. Smatra se da je njegova koncentracija inverzno povezana s arterijskim tlakom. U ovom radu ispitivali smo utjecaj dvaju polimorfizama, -11377 C>G i -11391 G>A, gena za adiponektin na arterijski tlak u osoba s normalnom bubrežnom funkcijom.

Normotoničari i hipertoničari nisu se razlikovali u plazmatskoj koncentraciji adiponektina, a koncentracija adiponektina nije bila korelirana s arterijskim tlakom niti u jednoj skupini ispitanika. Polimorfizmi gena za adiponektin nisu bili povezani niti s arterijskim tlakom niti s hipertenzijom, ali je polimorfizam -11391 G>A bio povezan s inzulinskom rezistencijom na način da je minor alel A bio alel povišenog rizika.

U našoj skupini ispitanika polimorfizmi gena za adiponektin nisu bili povezani s arterijskim tlakom, ali potrebne su veće genetičke epidemiološke studije kako bi se ovaj odnos mogao podrobnije razjasniti.

(155 stranica, 41 slika, 55 tablica, 308 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski jezik)

Ključne riječi: adiponektin, polimorfizmi, hipertenzija, inzulinska rezistencija

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102A, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.Ključne riječi: adiponektin, polimorfizmi, hipertenzija, inzulinska rezistencija.

Mentor: izv.prof.dr.sc. Bojan Jelaković

Ocjenjivači:
izv.prof.dr.sc. Darko Kaštelan
izv.prof.dr.sc. Maja Matulić
dr.sc. Davorka Breljak, viši zn. suradnik

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Doctoral Thesis

ASSOCIATION OF ADIPONECTIN GENE POLYMORPHISMS WITH BLOOD PRESSURE IN PERSONS WITH NORMAL KIDNEY FUNCTION

VANJA IVKOVIĆ

Adiponectin is a protein with antiatherogenous, antiinflammatory and antidiabetic effects. It was found in some studies that its plasma concentration is inversely associated with blood pressure. In this thesis we evaluated the association of two common adiponectin gene polymorphisms, -11377 C>G and -11391 G>A, with blood pressure in persons with normal kidney function.

Normotensives and hypertensives did not differ in plasma adiponectin concentration and adiponectin concentration was not correlated with blood pressure in the whole group or in different subgroups. Adiponectin gene polymorphisms were not associated with blood pressure or hypertension, but polymorphism -11391 G>A was associated with insulin resistance, with minor alelle A carrying increased risk.

In our group of subjects adiponectin gene polymorphisms were not associated with blood pressure but further larger epidemiologic studies are warranted to clarify this relationship completely.

(155 pages, 41 figures, 55 tables, 308 references, original in Croatian)

Keywords: adiponectin, polymorphisms, hypertension, insulin resistance.

Thesis deposited in Central Biological Library, Marulićev trg 20/II, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Supervisor: Assoc. Professor Bojan Jelaković, MD, PhD

Reviewers:
Assoc. Professor Darko Kaštelan, MD, PhD
Assoc. Professor Maja Matulić, PhD
Davorka Breljak, PhD, senior research associate

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. PREGLED LITERATURE 3

2.1. ARTERIJSKI TLAK I HIPERTENZIJA 3

2.1.1. Osnove fiziologije cirkulacije. Arterijski tlak 3

2.1.2. Klasifikacije i podjele arterijskog tlaka 4

2.1.3. Hipertenzija 5

2.1.3.1. Etiopatogeneza i patofiziologija hipertenzije 5

2.1.3.2. Epidemiologija hipertenzije 7

2.1.3.3. Hipertenzija kao klinički problem 8

2.2. MASNO TKIVO 10

2.2.1. Građa, raspodjela i tipovi masnog tkiva 10

2.2.2. Masno tkivo kao spremnik energije i endokrini organ 13

2.2.2.1. Adipociti: akumulacija i iskorištavanje lipida 13

2.2.2.2. Adipokini 14

2.2.3. Povišena tjelesna masa i pretilost 19

2.2.3.1. Klasifikacije povišene tjelesne mase 19

2.2.3.2. Metabolički sindrom 20

2.2.3.3. Pretilost, metabolički sindrom i hipertenzija 22

2.2.4. Inzulinska rezistencija 23

2.3. ADIPONEKTIN 25

2.3.1.Otkriće, struktura i oblici 25

2.3.2. Receptori i mehanizam djelovanja 27

2.3.3. Gen za adiponektin (*ADIPOQ*) 30

2.3.4. Polimorfizmi gena za adiponektin i njihova uloga u zdravlju i bolesti 31

2.3.4.1. -11377 C>G 32

2.3.4.2. -11391 G>A 33

2.3.5. Uloga adiponektina u zdravlju i nekim poremećajima i bolestima 34

2.3.5.1. Pretilost i metabolički sindrom 34

2.3.5.2. Inzulinska rezistencija i šećerna bolest tipa 2 35

2.3.5.3. Kronična bubrežna bolest 36

2.3.6. Adiponektin i arterijski tlak 37

2.3.6.1. Adiponektin i mehanizmi utjecaja na arterijski tlak 37

2.3.6.2. Adiponektin i hipertenzija 40
3. MATERIJALI I METODE 42
3.1. MATERIJALI 42
3.1.1. Ispitanici 42
3.2. METODE 42
3.2.1. Antropometrijski i klinički podaci 42
3.2.2. Laboratorijski podaci 43
3.2.3. Genotipizacija polimorfizama jednoga nukleotida C-11377G i G-11391A gena ADIPOQ 44
3.2.4. Statistička analiza 47
3.2.4.1. Kvantitativne analize 47
3.2.4.2. Kvalitativne i kvantitativno-kvalitativne analize asocijacija 47
3.2.5. Modeli korišteni u procjeni povezanosti fenotipskih obilježja s genotipima i alelima 48
3.2.6. Međupopulacijska usporedba 49
4. REZULTATI 50
4.1. Genotipizacija polimorfizama 50
4.2. Međupopulacijska usporedba učestalosti genotipova i alela istraživanih polimorfizama 51
4.3. Opće antropometrijske, kliničke i laboratorijske značajke ispitanika 62
4.4. Povezanost plazmatske koncentracije adiponektina i arterijskog tlaka i klinički korelati i mehanizam djelovanja adiponektina. 75
4.5. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s arterijskim tlakom i hipertenzijom 94
4.6. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s inzulinskom rezistencijom 106
5. RASPRAVA 113
5.1. Međupopulacijska usporedba učestalosti ispitivanih polimorfizama 113
5.2. Povezanost koncentracije adiponektina s arterijskim tlakom, hipertenzijom i drugim fenotipskim obilježjima 115
5.3. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s ekspresijom adiponektina, arterijskim tlakom i hipertenzijom 118
5.4. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s inzulinskom rezistencijom 125
6. ZAKLJUČCI 129

7. POPIS LITERATURE 131
8. ŽIVOTOPIS 155

1. UVOD

Arterijska hipertenzija jedan je od vodećih uzroka kardiovaskularnog pobola i smrtnosti u svijetu od kojeg boluje 26,4% svjetske odrasle populacije (1). Godišnje od posljedica hipertenzije umre oko 1,65 milijuna ljudi te ona predstavlja jedan od vodećih javnozdravstvenih, kliničkih i farmakoekonomskih problema današnjice (2). Pretilost i povećana tjelesna masa također su vrlo ozbiljan javnozdravstveni problem i poprimaju epidemijske razmjere s oko 30-70% ljudi u europskim državama koji se klasificiraju kao osobe s prekomjernom tjelesnom masom (3). Masno tkivo nije inertni spremnik energije, već je najveći endokrini organ u čovjeka koji luči plejadu spojeva koje nazivamo adipokini ili adipocitokini (4). Povezanost arterijske hipertenzije i pretilosti dovela je do poticaja za brojna istraživanja o utjecaju čimbenika koje luči masno tkivo na povišenje arterijskog tlaka.

Adiponektin je adipokin s antiaterogenim, protuupalnim, antidijabetičkim i inzulin senzitizirajućim djelovanjem (5). Za razliku od ostalih adipokina, koncentracija adiponektina je smanjena u pretilosti (6). Smatra se da je adiponektin značaj čimbenik u nastanku i razvoju šećerne bolesti tipa 2, hipertenzije, pretilosti, upale i kronične bubrežne bolesti. Dosadašnja istraživanja o vezi adiponektina i arterijskog tlaka bila su kontradiktorna. Većina autora pronašla je inverzan odnos koncentracije adiponektina i arterijskog tlaka, neki nisu pronašli značajnu povezanost dok je jedan autor pronašao pozitivnu povezanost. Metaanaliza Kima i sur. objavila je da je koncentracija adiponektina u hipertoničara manja nego u normotoničara, kao i da je hiperadiponektinemija povezana s nižim rizikom za hipertenziju (7). Ipak, više od četvrtine studija nije pronašlo povezanost adiponektina i hipertenzije (7). Takva nesloga u rezultatima navela nas je na istraživanje povezanosti adiponektina i arterijskog tlaka i hipertenzije u populaciji s normalnom bubrežnom funkcijom kako bi se isključila prethodno otkrivena paradoksalna povezanost kronične bubrežne bolesti i koncentracije adiponektina (8,9). U tom našem istraživanju nismo našli povezanost koncentracije adiponektina i arterijskog tlaka (10). Ostalo je ipak neodgovoreno pitanje utječu li polimorfizmi gena za adiponektin na arterijski tlak u ovoj populaciji. To vrlo važno pitanje postavljamo u hipotezi ovog istraživanja.

U ovom radu ispitat ćemo utjecaj dvaju često istraživanih polimorfizma gena za adiponektin: rs266729 (-11377 C>G) i rs17300539 (-11391 G>A). Ovi polimorfizmi su u prijašnjim istraživanjima povezani s patogenezom šećerne bolesti tipa 2, pretilosti, utjecajem na razinu adiponektina, nastankom nekih vrsta karcinoma i rizikom za koronarnu srčanu bolest, infarkt miokarda i cerebrovaskularnu bolest. Povezanost ovih polimorfizama i

hipertenzije ispitana je u malobrojnim studijama i to samo u azijskoj populaciji (11–13). Kako se populacije genetički razlikuju potrebno je njihove rezutate istražiti na našoj europskoj populaciji.

Ovo istraživanje ima cilj ispitati može li adiponektin biti suvremen klinički biljeg korišten u svakodnevnom kliničkom radu, a u budućnosti možda i terapijsko sredstvo u individualiziranoj farmakoterapiji.

Hipoteza istraživanja je da su u osoba s normalnom bubrežnom funkcijom vrijednosti adiponektina povezane s vrijednostima arterijskoga tlaka samo u osoba koje imaju tzv. minor alel G polimorfizma jednog nukleotida rs266729 i minor alel A polimorfizma jednog nukleotida rs17300539 gena za adiponektin.

Glavni cilj je ispitati povezanost polimorfizama gena za adiponektin s arterijskim tlakom i hipertenzijom.

Specifični ciljevi rada su:

1. analizirati povezanost vrijednosti koncentracije plazmatskog adiponektina i arterijskog tlaka u neliječenoj populaciji s normalnom bubrežnom funkcijom: a) neovisno o navedenim polimorfizmima; b) ovisno o utjecaju svakog pojedinog polimorfizma; c) ovisno o udruženoj pojavnosti pojedinih minor alela oba polimorfizma jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP);
2. analizirati povezanost navedenih polimorfizama s plazmatskom koncentracijom adiponektina;
3. analizirati povezanost navedenih polimorfizama s inzulinskom rezistencijom neovisno o utjecaju na vrijednosti arterijskog tlaka;
4. proučiti mehanizam djelovanja adiponektina na arterijski tlak koristeći kliničke biljege (pato)fizioloških procesa u organizmu (npr. srčanu frekvenciju kao biljeg aktivnosti simpatikusa, tlak pulsa kao biljeg krutosti arterija);
5. uvesti metodu određivanje polimorfizama gena ADIPOQ metodom lančane reakcije polimeraze u stvarnom vremenu.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. ARTERIJSKI TLAK I HIPERTENZIJA

2.1.1. Osnove fiziologije cirkulacije. Arterijski tlak

Krvotok je podijeljen je u dva optoka – veliki ili sustavni i mali ili plućni optok. Srce ima ulogu crpke koja mehaničkim pokretima potiskuje krv protiv perifernog žilnog otpora u velike krvne žile (aortu i plućne vene). Neoksigenirana krv iz desne klijetke odlazi u plućne arterije gdje dalje ide u plućne kapilare u kojima se na alveolokapilarnoj membrani događa izmjena plinova te dalje protječe u plućne vene kojima se vraća u lijevu pretklijetku. Iz lijeve pretklijetke oksigenirana krv odlazi u lijevu klijetku odakle aortom ide u elastične i mišićne arterije, arteriole i kapilarnu mrežu gdje predaje kisik tkivima i prima ugljikov dioksid. Iz kapilarne mreže krv odlazi u venule, zatim u vene pa šupljim venama nazad u desnu pretklijetku. Volumen krvi koji srce istisne u jednoj minuti iznosi 5 litara i naziva se srčani minutni volumen (SMV), a jednak je umnošku udarnog volumena i srčane frekvencije. Masa krvi pritišće stijenke arterija i stvara arterijski tlak koji je potreban za održavanje cirkulacije. Arterijski tlak (AT) jednak je umnošku ukupnog perifernog otpora (UPO) i SMV i računa se prema jednadžbi:

$$AT = SMV \times UPO \quad (1)$$

Arterijski tlak mijenja se tijekom srčanog ciklusa ovisno o napunjenosti srčanih komora i konfiguraciji srčanih zalistaka. Tlak u aorti također koleba ili pulsira zbog intermitentnog pulsatilnog protoka krvi uzrokovanog srčanim kontrakcijama. Srednji arterijski tlak predstavlja prosjek tlaka u srčanom ciklusu ovisno o duljini trajanja sistole i dijastole, za održavanje adekvatne tkivne perfuzije nužno je da bude >60 mm Hg, a fiziološki se kreće od 70 do 110 mm Hg. Zbog intermitentnog protoka, tlak koleba između vrijednosti od 80 mm Hg koju nazivamo dijastolički tlak i vrijednosti od 120 mm Hg koju nazivamo sistolički tlak. Razlika između sistoličkog i dijastoličkog tlaka naziva se tlak pulsa i fiziološki iznosi <50 mm Hg. Efektivni arterijski volumen i arterijski tlak podložni su brojnim živčanim i humoralnim kontrolnim mehanizmima, kao i mehanizmu autoregulacije, koji omogućavaju da se tlak održava unutar fiziološkog raspona, a kada ti mehanizmi zakažu nastupa hipoperfuzija ili hipertenzija.

2.1.2. Klasifikacije i podjele arterijskog tlaka

U ovom poglavlju kratko su izložene povijest stavova prema arterijskom tlaku i današnja klasifikacija arterijskog tlaka prema smjernicama Europskog društva za hipertenziju (ESH) i Europskog društva za kardiologiju (ESC) (14).

Istraživanje hipertenzije i arterijskog tlaka bilo je ograničeno nedostatkom pouzdanih mjernih instrumenata. Prvo mjerenje tlaka napravio je velečasni Stephen Hales na konju 1733. god. Nešto manje od jednog stoljeća nakon toga razvijeni su prvi tlakomjeri koji su u kliničku medicinu uvedeni u krajem 18. i početkom 19. stoljeća. Jedno od najvažnijih otkrića u hipertenziji bilo je opisivanje zvukova povezanih s pulsnim valom Korotkoffa 1905. god. Zgodno je napomenuti da preteča epidemioloških istraživanja arterijskog tlaka i kardiovaskularnog rizika nije bila vezana uz bolnice, već uz osiguravajuća društva koja su prva shvatila da se visina tlaka može iskoristiti u aktuarskim izračunima mortaliteta i morbiditeta. Do 1918. god. ta osiguravajuća društva rutinski su mjerila i sistolički i dijastolički tlak metodom auskultacije, a ne kao što je ranije bilo uvriježeno samo sistolički metodom palpacije. Od 1925. do 1979. god. Američko aktuarsko društvo izdavalo je godišnje izvještaje u kojima su bilježili raspodjelu tlaka u populaciji, povišenje sa životnom dobi i utjecaj na mortalitet i morbitidet (15).

No, to još nije bio početak sustavnog praćenja visine arterijskog tlaka. Američki Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC) je 1977. god. izdao svoje prvo izvješće o stanju hipertenzije u SAD-u (15). Do danas je izdano ukupno osam JNC smjernica, od kojih je zadnja izdana 2014. God. (16). U Hrvatskoj se koriste smjernice ESH i ESC koje su prvi puta publicirane 2003. god., a 2013. god. je objavljeno zadnje izdanje (14). Svake nove smjernice temeljene su na istraživanjima i metaanalizama objavljenim od posljednjih smjernica i baziraju se na pristupu medicini temeljenom na dokazima. Smjernice ESH i ESC za dijagnozu hipertenzije temeljene na ordinacijskom mjerenju arterijskog tlaka koriste se i u ovom radu te su prikazane u **Tablici 2.1.** Osim osnovnih podataka o klasifikaciji visine arterijskog tlaka, one sadržavaju i preporuke o liječenju (dijetetsko, fizička aktivnost, farmakoterapija), pristupu posebnim skupinama pacijenata (npr. trudnice, starci, dijabetičari) i podvrstama hipertenzije (npr. izolirana sistolička hipertenzija, maskirana i hipertenzija bijele kute), preporuke o pregledu, strategijama uzimanja anamneze, novim načinima mjerenja tlaka, novim čimbenicima rizika i strategijama probira.

Klasifikacija arterijskog tlaka i njegova povezanost s kardiovaskularnim rizikom dobila je zamaha uvođenjem medicine zasnovane na dokazima, a taj pristup omogućava izradu najpouzdanijih preporuka i unificiran i standardiziran pristup pacijentu.

Tablica 2.1. Klasifikacija arterijskog tlaka prema smjernicama Europskog društva za hipertenziju i Europskog društva za kardiologiju

Kategorija		Sistolički tlak (mmHg)		Dijastolički tlak (mmHg)
Optimalni		<120	i	<80
Normalan		120-129	ili	80-84
Visoki normalan		130-139	ili	85-89
Hipertenzija	Stadij 1	140-159	ili	90-99
	Stadij 2	160-179	ili	100-109
	Stadij 3	≥180	ili	≥110
Izolirana sistolička hipertenzija		≥140	i	<90

Preuzeto i prilagođeno prema (14).

2.1.3. Hipertenzija

Hipertenzija je danas jedna od najmasovnijih i najznačajnijih bolesti današnjice koja predstavlja izniman izazov za kliničare, temeljne istraživače i javnozdravstvene djelatnike. U nastavku su izložene najvažnije spoznaje o etiologiji, epidemiologiji i kliničkoj radu.

2.1.3.1. Etiopatogeneza i patofiziologija hipertenzije

Iako predstavlja klinički, javnozdravstveni i farmakoepidemiološki problem od najvećeg značaja i usprkos mnogim temeljnim i translacijskim istraživanjima, uzrok esencijalne hipertenzije do današnjeg dana nije otkriven. Guyton je prvi postulirao da bubrežni mehanizmi igraju najznačajniju ulogu u nastanku hipertenzije (17). Mnogi današnji istraživači, podržavaju Guytonove spoznaje i pretpostavljaju da bubreg uistinu čini osnovu u nastanku hipertenzije, a drugi mehanizmi pojačavaju ili puferiraju renalne učinke zadržavanja soli i vode (18). Oparil i sur. navode sljedeće „sekundarne“ mehanizame : povećani tonus simpatikusa, psihološki stres, pretjerana proizvodnja hormona koji štede natrij i vazokonstriktora, dugoročni pretjerani unos natrija i smanjeni unos kalija, neprimjereno lučenje renina i proizvodnja angiotenzina II i aldosterona, manjak vazodilatatora, promjene u

ekspresiji sustava kalikrein-kinin, abnormalnosti otpornih žila (sa selektivnim lezijama u renalnoj mikrovaskulaturi), inzulinska rezistencija i posljedična šećerna bolest tipa 2, pretilost, povećana aktivnost vaskularnih čimbenika rasta, promjene u adrenergičkim receptorima, žilni tonus i promjenjen stanični transport iona (18). Osim ovih uzroka, sve se više priča o disregulaciji stanične imunosti, specifičnoj neravnoteži različitih populacija T-limfocita, kao jednom od sekundarnih uzroka hipertenzije (19).

Hipertenzija je sasvim sigurno povezana i s genetičkim uzrocima. Zabilježeno je klasteriranje hipertoničara i sličnost u visini arterijskog tlaka u pojedinim obiteljima, a blizanačke studije pokazale su veću konkordanciju u arterijskom tlaku jednojajčanih nego dvojajčanih blizanaca (20–22). Osim toga, iako nisu uzrok esencijalne hipertenzije, pojedini geni mogu biti uzrok monogenetskih bolesti obilježenih teškom i ranom hipertenzijom (manjak 17α-hidroksilaze i 11β-hidroksilaze, Liddleov sindrom i višak mineralokortikoida) (18). No, hipertenzija je kompleksno fenotipsko svojstvo i multifaktorna bolest i za nju je, uz okolišne čimbenike, odgovorna čitava plejada gena. Analizama cijelog genoma već su pronađeni pojedine kromosomske regije i lokusi koji su povezani s hipertenzijom i konkomitantnim metaboličkim poremećajima (23–25).

Poznato je da čimbenici kardiovaskularnog rizika imaju tendenciju kosegregacije, tj. da se u jedne osobe pojavljuju skupa češće nego što je to očekivano kada bi se radilo o slučajnosti. Tako je hipertenzija dva puta češća u osoba sa šećernom bolesti nego bez nje, a čak 40% osoba s esencijalnom hipertenzijom ima hiperkolesterolemiju (26,27).

Simpatički živčani sustav jedan je od glavnih regulatornih mehanizama arterijskog tlaka. Povećani tonus simpatikusa stimulira tahikardiju, povećava periferni žilni otpor i potiče zadržavanje tekućine bubrezima što u konačnici dovodi do povećanja arterijskog tlaka i nastanka hipertenzije (28). Osim toga, neravnoteža u autonomnom živčanom sustavu dovodi i do mnogih drugih hemodinamskih i metaboličkih poremećaja (29). Mehanizam kojim simpatikus povećava arterijski tlak dijelom se odnosi na poremećaje u barorefleksnim i kemorefleksnim putovima, tj. postavljanjem baroreceptora na razinu višeg tlaka (30). Osim toga, simpatikus djeluje i na bubrežnu hemodinamiku.

Jedan od najvažnijih mehanizama regulacije tlaka je sustav renina, angiotenzina i aldosterona (RAAS). Angiotenzin II jedan je od glavnih vazokonstriktora, a osim toga djeluje i na rast i proliferaciju stanica, hipertrofiju krvožilja, otpuštanje aldosterona (koji regulira izlučivanje kalija i ravnotežu tekućina i kiselosti) i renina, aktivaciju simpatikusa i zadržavanje soli i vode. Svi ovi učinci u zdravom će organizmu dovesti do dugotrajnog

održavanja tlaka u fiziološkim rasponima, no patofiziološki pretjerana aktivacija i disregulacija ovog sustava dovodi do povišenja tlaka i nastanka i održavanja hipertenzije.

Osim ova četiri najpoznatija pobliže objašnjena uzroka postoji još cijela mreža interakcija odgovornih za nastanak hipertenzije koja obuhvaća gotovo sve organske sustave. Sigurno je da će se u budućnosti otkriti novi patofiziološki mehanizmi, a o već poznatima saznat će se više te će se ta saznanja moći uporabiti za nove ciljane antihipertenzive.

2.1.3.2. Epidemiologija hipertenzije

Hipertenzija je masovna globalna bolest koja poprima razmjere pandemije (31). Procjenjuje se da danas na svjetskoj razini od hipertenzije boluje 26,4% odrasle populacije - 26,6% muškaraca i 26,1% žena (1). Prema podacima Kearney i sur., 2000. god. bilo je oko 972 milijuna hipertoničara, od toga čak 639 milijuna u zemljama u razvoju (1). Taj podatak demantira mit kako je hipertenzija bolest samo bogatih, ekonomskih razvijenih zapadnih zemalja i naglašava kako u budućnosti možemo očekivati značajan porast broja hipertoničara, bez obzira na neke indikacije o smanjenju prevalencije hipertenzije u razvijenom svijetu, jer zemlje u razvoju imaju veći prirast stanovništva (1). Hipertenzija je puno češća u starijoj dobi pa je tako prevalencija u muškaraca i žena ≥70 godina oko 60%, odnosno 70%, dok je u dobnoj skupini 20-29 godina 12,7%, odnosno 7,4%. Ovdje se ocrtava još jedna bitna razlika u dobno-spolnoj distribuciji hipertenzije, a to je da je u mlađoj dobi prevalencija viša u muškaraca, a u starijoj u žena (1).

Kearney i sur. također upozoravaju da će između 2000. i 2025. god. prevalencija hipertenzije porasti za 9% u muškaraca i za 12% u žena, većinom zbog starenja stanovništva (1). Te brojke postaju još više zabrinjavajuće kada se izraze u ukupnom broju stanovništva – u navedenom vremenskom razdoblju broj hipertoničara porast će za 60% na 1,56 milijardi hipertoničara (1). Bitno je reći da ovi podaci vjerojatno potcjenjuju očekivanu prevalenciju, jer uzimaju u obzir samo promjene prevalencije zbog dinamike dobne strukture stanovništva, tj. pomicanja prema starijoj populaciji, a ne i moguće promjene u ishrani, fizičkoj aktivnosti i načinu života stanovništva.

Najviša prevalencija hipertenzije je u Poljskoj (68,9% u muškaraca i 72,5% u žena), a najniža u ruralnim dijelovima Indije (3,4% u muškaraca i 6,8% u žena) (32). Prevalencija hipertenzije u Europi iznosi 44,2% i viša je u muškaraca (49,7%) nego u žena (38,6%), a prosječan arterijski tlak u odrasloj populaciji Europe je 136/83 mm Hg (33).

U Hrvatskoj je u razdoblju od 2002. do 2004. god. u sklopu projekta Epidemiologija hipertenzije u Hrvatskoj (EH-UH), pod vodstvom prof.dr.sc. Bojana Jelakovića, provedena prva sustavna studija prevalencije hipertenzije (34). U studiju je bilo uključeno 1447 ispitanika starijih od 18 godina što čini nešto više od 0,03% ukupne populacije Hrvatske i usporedivo je s veličinom uzorka u ostalim zemljama. Srednji arterijski tlak u populaciji bio je 137/84 mm Hg u muškaraca i 134/83 mm Hg u žena što je usporedivo s europskim prosjekom. Standardizirana prevalencija hipertenzije bila je 37,5% (35,2% u muškaraca i 39,7% u žena) i rasla je s dobi tako da je u devetoj dekadi života gotovo 85% populacije bolovalo od hipertenzije. Prevalencija se razlikovala i po pojedinim županijama i regijama pa je tako u kontinentalnom dijelu bila 38,0%, a u primorskom 34,8%. Takva disparatnost oslikava gotovo jedinstvenu dvojnu prirodu Hrvatske kao zemlje srednjoeuropske i mediteranske kulture što implicira poprilično različite stilove života. Prema stadiju hipertenzije najveći broj novootkrivenih hipertoničara imao je hipertenziju stadija 1 (49,1% muškaraca i 46,1% žena), dok je hipertenziju stadija 2 i 3 imalo 26,1% muškaraca i 12,3% žena.

Iz navedenih studija vidljivo je da je prevalencija hipertenzije u Hrvatskoj usporediva s trendovima u Europi te da je i kod nas vrlo značajan, ako ne i najznačajniji javnozdravstveni problem koji se može riješiti samo koordiniranim javnozdravstvenim akcijama usmjerenima na smanjenje prevalencije čimbenika rizika na koje se može utjecati.

2.1.3.3. Hipertenzija kao klinički problem

Hipertenzija nije samo javnozdravstveni populacijski problem, već i kompleksno stanje koje se prezentira nizom kliničkih problema na razini pacijenta. U prošlosti se hipertenzija liječila gotovo isključivo dijetetskim mjerama i promjenom životnog stila (neslana dijeta i tjelovježba) pa čak i najkompleksniji životno ugrožavajući sindromi kao što su hipertenzivna kriza tj. maligna hipertenzija (teška hipertenzija koja akutno utječe na ciljne organe, a liječila se rižinom dijetom dr. Kempnera kojom se je dio pacijenata uspjevao spasiti sigurne smrti) (35). I danas je prva linija u liječenju većine pacijenata s hipertenzijom, a pogotovo onih s povećanom tjelesnom masom, dijeta i povećanje i fizičke aktivnosti (14,36). Jedan od glavnih prehramenih čimbenika impliciranih u razvoj hipertenzije je kuhinjska sol (NaCl) (37). Preci čovjeka hranili su se dijetom koja je sadržavala manje od 0,25 g soli dnevno, no prije otprilike 5000 godina Kinezi su otkrili da se sol može koristiti za

prezervaciju hrane. To je izazvalo veliki porast konzumacije soli, jer je omogućavalo da se hrana čuva pri dugom transportu ili kroz dugotrajne zime, a taj porast dosegao je vrh u 70-im godinama 19. stoljeća (37). Zbog novih načina čuvanja hrane (konzervansi, hladnjaci) sol se više nije koristila kao konzervans te od tada njena upotreba pada i ona danas iznosti oko 9-12 g dnevno, a prema istraživanju prof.dr.sc. B. Jelakovića ni Hrvatska nažalost ne zaostaje s prosječnim unosom soli od 13,3 g u muškaraca i 10,2 g žena (37,38).

Svjetska zdravstvena organizacija preporuča unos soli manji od 6 g dnevno, s tendencijom smanjenja te granice na 5 g. Kako bi se ostvario taj cilj osnovane su brojne udruge na svjetskoj i nacionalnoj razini predvođene savezom WASH (engl. *World Action on Salt and Health)* (39). Hrvatska je također postala članica ove inicijative predvođene programom CRASH (engl. *Croatian Action on Salt and Health*) osnovanim 2006. god. koji vodi Hrvatsko društvo za hipertenziju (38). Iznimnu važnost ciljeva ovih akcija najbolje ocrtava nedavna velika studija Mozzaffariana i sur. koja je prikupila podatke o unosu soli u osoba iz 66 zemalja što je odgovaralo 74,1% odraslog stanovništva svijeta (2). Modeliranjem su otkrili da je globalno prekomjeran unos soli odgovoran za 1,65 milijuna smrti od kardiovaskularnih uzroka godišnje (61,9% u muškaraca i 38,1% u žena) (2). Recentne studije koje su govorile o mogućoj štetnosti smanjenja unosa soli ispod predloženih granica imale su veći broj epidemioloških pogrešaka i manjkav dizajn na što je upozorila i naša suradnička grupa, a i veći broj drugih istraživačkih skupina (40–43).

Farmakoterapija hipertenzije rapidno je napredovala u zadnjih par desetljeća. Smjernice ESH danas navode 8 skupina antihipertenziva: tijazidske diuretike, blokatore angiotenzinskog receptora, ACE inhibitore, kalcijske blokatore, beta blokatore i ostale antihipertenzive (14). Većina skupina može se, a često i mora, kombinirati, jer je kontrolu tlaka vrlo teško postići monoterapijom. Jedino pitanje koje se postavlja je kada treba započeti monoterapijom, a kada kombinacijama antihipertenziva (14). Strategija izbora antihipertenziva vrlo je kompleksno pitanje i značajan problem u kliničkom liječenju hipertenzije te nadilazi granice ovog kratkog pregleda. Ipak, važno je napomenuti da su mnoga istraživanja pokazala kako je glavna prednost antihipertenzivne terapije snižavanje arterijskog tlaka koje je najvećim dijelom neovisno o izabranoj skupini antihipertenziva. Ono o čemu moramo voditi brigu jest pravovremeno započinjanje, izbor antihipertenziva koji neće negativno utjecati na postojeću bolest (npr. izbjegavanje beta blokatora u pacijenata s astmom), a potencijalno ima pozitivan učinak (npr. moksonidin u pretilih i dijabetičara, jer smanjuje inzulinsku rezistenciju) te po mogućnosti preporučiti lijek koji s najmanje odvojenih

uzimanja dnevno tj. separatnih dnevnih doza, polučuje jednak učinak (u svrhu povećanja adherencije) (14).

Ono što danas predstavlja jedan od najvećih problema u liječnju hipertenzije je niska razina pridržavanja (adherencije) terapije, kako u dijetetskim mjerama i fizičkoj aktivnosti, tako i u farmakoterapiji. Jedna metaanaliza pokazala je kako adherentnost terapiji (mjerena MPR, (engl. *Medication Possession Ratio)*, definiranim kao broj dana liječenja, tj. uzimanja terapije podijeljen s brojem dana između dva prepisivanja lijeka) iznosi 64%, a udio pacijenata s MPR>80% iznosio je 67% (44). To praktično znači da pacijenti u nekom zadanom periodu između kontrola ne uzmu čak trećinu doza, a samo dvije trećine pacijenata uzimalo je >4/5 propisane doze. Takva situacija dovodi do subdoziranosti i terapijske neučinkovitosti. Još je više poražavajuće što takav trend vrijedi i za antilipemike i antidijabetike što može pogoršati i samu hipertenziju (44). Postoje dokazi kako fiksne kombinacije antihipertenziva mogu poboljšati adherenciju (45). Ništa bolji rezultati nisu ni za dijetetske mjere (46).

Ovaj kratak sažetak prezentira poteškoće i komplikacije u liječenju pacijenta s hipertenzijom. Iako je postignuto puno, glavni problemi danas nisu više lijekovi, kao što je bilo na početcima liječenja hipertenzije, već pridržavanje terapije, dijetetske navike i stil života. Ispravljanjem ovih problema značajno bi se smanjio pobol od hipertenzije što bi imalo nesagledive javnozdravstvene i farmakoekonomske posljedice.

2.2. MASNO TKIVO

2.2.1. Građa, raspodjela i tipovi masnog tkiva

Masno tkivo građeno je od dviju skupina stanica: adipocita ili masnih stanica i drugih stanica koje čine stromu oko adipocita, a skupno ih nazivamo stanice stromalne vaskularne frakcije. Ono je jedinstveno među tkivima jer nije koncentrirano u jedinstven organ (iako se u literaturi nalazi i pojam „adipozni ili masni organ“ koji podrazumijeva skup svog masnog tkiva u organizmu), nego je raspodijeljeno posvuda u ljudskom tijelu, a također ima sposobnost gotovo neograničenog rasta ovisno o energijskom unosu i potrošnji (4,47).

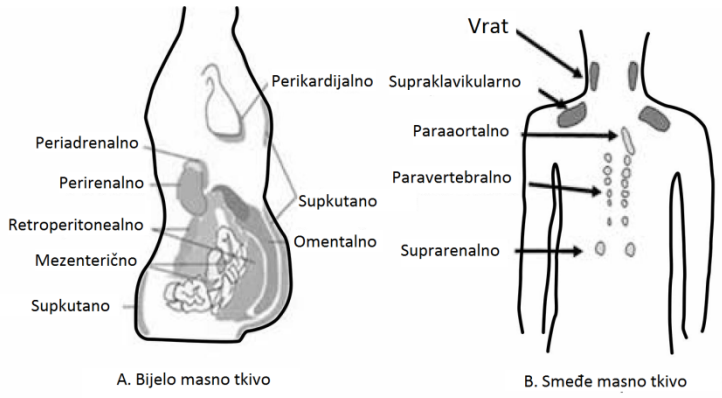
Adipocit ili masna stanica je glavna građevna stanica koja čini 30-50% masnog tkiva i ima mnogobrojne funkcije od kojih su najvažnije njegova uloga kao spremišta energije i sekretora

raznih citokina koji imaju autokrina, parakrina i endokrina djelovanja (48). O adipocitima će biti više riječi u poglavljima 2.2.2.1. i 2.2.2.2.

Stromalnu vaskularnu frakciju, koju je prvi puta izolirao Rodbell, čini skup stanica masnog tkiva koje izvršavaju plejadu različitih funkcija: služe kao matične stanice (preadipociti), sastavni dijelovi krvožilja (endotelne stanice i periciti), medijatori upale (makrofagi i monociti) i imunog odgovora (T-limfociti) (4,49,50).

Postoje dva osnovna tipa masnog tkiva – bijelo masno tkivo i smeđe masno tkivo. Ona se međusobno razlikuju prema distribuciji, građi i fiziološkoj ulozi.

Na **Slici 2.1.** prikazane su razlike u raspodjeli bijelog i smeđeg masnog tkiva. Bijelo masno tkivo čini otprilike 20-25% tjelesne mase u osobe normalne mase (nešto više kod žena, nego kod muškaraca) i raspodijeljeno je pretežito supkutano i visceralno (najviše mezenterično i retroperitonealno), dok je smeđe masno tkivo smješteno u vratu, supraklavikularno i oko aorte, kralježaka i bubrega.



Slika 2.1. Raspodjela masnog tkiva u odraslih ljudi. Na slici je prikazana raspodjela bijelog (lijevo, A) i smeđeg masnog tkiva (desno, B) u odraslog čovjeka. Preuzeto i prilagođeno prema www.scielo.br

U antropološkim istraživanjima već je odavno zapažen spolni dimorfizam u raspodjeli bijelog masnog tkiva. U žena je bijelo masno tkivo pretežito raspodjeljeno u gluteofemoralnoj regiji, dok je kod muškaraca najizraženije abdominalno masno tkivo (51). Takva raspodjela rezultirala je popularnom podjelom na tzv. ženske debljine u obliku kruške i muške debljine u obliku jabuke. Fiziološka osnova ovog procesa su regionalno diferentna aktivnost lipolize i ekspresija lipoprotein lipaze u muškaraca i žena što rezultira odlaganjem triglicerida u različite regije tijela (52). Zapaženo je da ova raspodjela iščezava u menopauzi kada se i kod žena pojavljuje abdominalni tip pretilosti pa je predloženo niz modela po kojima utjecaj na raspodjelu masnog tkiva u žena imaju estrogen i neki drugi spolni hormoni (53).

Bijelo masno tkivo služi kao spremište energije u obliku masti u adipocitima, kao termalna izolacija, mehanička potpora i kao endokrini organ. U sljedećim poglavljima detaljno su izložene najvažnije uloge bijelog masnog tkiva.

Smeđe masno tkivo nađeno je samo u sisavaca. Smatra se da se je pojavilo vrlo rano u evolucijskom slijedu kao odgovor na potrebu za lakšim preživljenjem izlaganju hladnoći i kao prilagodba hrani siromašnoj esencijalnim hranjivim tvarima (54). Ipak, iako je opisano prije gotovo 500 godina, tek je 1961. god. Smith u štakora aklimatiziranih na hladnoću otkrio da ono sudjeluje u proizvodnji topline (47). Većina sisavaca toplinsku energiju proizvodi na dva načina: 1. termogenezom drhtanjem koje kemijsku energiju ATP-a pretvara u toplinsku, odnosno u kojoj se ATP „neproduktivno“ troši i pretvara u ADP što dovodi do potrošnje kisika u mitohondriju; i 2. termogenezom bez drhtanja. Ubrzo je shvaćeno da proces sličan termogenezi drhtanjem nije odgovoran za proizvodnju energije u smeđem masnom tkivu, jer ono ima vrlo malen kapacitet ATP sinteze (55). Tako je prihvaćena hipoteza termogeneze bez drhtanja koja je proces u kojem se protoni koji se kreću uzduž mitohondrijskog gradijenta razdružuju (engl. *to uncouple*) od sinteze ATP-a i na taj način omogućuju da se oslobođena energija rasipa kao toplina (54). Biokemijska osnova za ovu pretpostavku dobivena je kada su Nicholls i sur. 1978. god. identificirali protein mase 32 kDa koji veže egzogene purinske nukleotide za vanjsku stranu unutrašnje membrane mitohondrija u smeđem masnom tkivu hrčka *in vitro* i na taj način regulira kretanje protona (56). Taj protein je deset godina kasnije kloniran i nazvan UCP1 (engl. *uncoupling protein 1*, hrv. razdružujući protein) što govori o njegovoj fiziološkoj ulozi, tj. mehanizmu djelovanja, a kasnije je nazvan i termogenin kako bi se jasnije istaknula njegova uloga u termogenezi (57,58). Sve ove pretpostavke potvrđene su mnogim kasnijim istraživanjima od kojih je posebno zanimljivo ono Matthiasa i sur. u kojem su pokazali da smeđe masno tkivo miševa u kojih je uklonjena ekspresija UCP1 na dodavanje slobodnih masnih kiselina i norepinefrina *in vitro* ne odgovara povećanjem potrošnje kisika za razliku od smeđeg masnog tkiva koje eksprimira UCP1 i u kojemu se pod tim uvjetima potrošnja kisika poveća gotovo deset puta (59). Ovo istraživanje pokazalo je kako za termogenezu bez drhtanja nije dovoljno samo smeđe masno tkivo, već i ekspresija ovog specifičnog proteina.

Iako se do nedavno mislilo kako je smeđe masno tkivo važno samo u ranoj životnoj dobi (novorođenčad ima razmjerno velike količine smeđeg masnog tkiva i visoku ekspresiju UCP1 koji znatno pridonose teromoregulaciji), danas se zna da ono ima važnu ulogu u termoregulaciji i u odraslih ljudi, vjerojatno pri stanjima aklimatizacije na hladnoću, ali i u

određenim patološkim stanjima koja rezultiraju povećanom proizvodnjom norepinefrina kao što je to u osoba s feokromocitomom (60,61).
S medicinskog i antropološkog gledišta važno je spomenuti da su neke studije pokazale kako je smeđe masno tkivo negativno korelirano s ITM i kako se njegova aktivnost mjerena pozitronskom emisijskom tomografijom ^{18}F-fluorodeoksiglukozom nakon izlaganja hladnoći povećava nakon mršavljenja, što može potencijalno biti vrlo zanimljivo u farmakoterapiji pretilosti (62,63).

Osim ova dva glavna tipa masnog tkiva, postoji i treći tip – bež masno tkivo (engl. *beige adipose tissue*) koje nastaje kada se nakupine adipocita koji eksprimiraju UCP1 (koji su normalni sastavni dio smeđeg masnog tkiva) kao rezultat različitih poticajnih čimbenika (npr. aklimatizacija na hladnoću) pojave u bijelom masnom tkivu (64). Bež masno tkivo lokalizirano je supraklavikularno i paraspinalno. Njegova uloga još nije poznata, no gotovo je sigurno da sudjeluje u regulaciji energetske ravnoteže, pretpostavlja se da bi moglo imati ulogu u nastanku raznih metaboličkih poremećaja, a ima naznaka da bi moglo sudjelovati i u nastanku ateroskleroze (65,66).

2.2.2. Masno tkivo kao spremnik energije i endokrini organ

U prošlom poglavlju izložena je građa masnog tkiva i poseban osvrt na smeđe i bež masno tkivo, a u sljedeća dva poglavlja bit će izložene najvažnije funkcije bijelog masnog tkiva – čuvanje energije u adipocitima u obliku zaliha triglicerida (2.2.2.1.) i uloga masnog tkiva u endokrinoj regulaciji brojnih funkcija organizma u zdravlju i bolesti (2.2.2.2.).

2.2.2.1. Adipociti: akumulacija i iskorištavanje lipida

Osnovna funkcija masnog tkiva jest pohrana viška energije u obliku lipida u adipocitima. Adipocit je jedinstvena stanica, jer oko 95 % njegovog volumena čini lipidna kapljica, a tek vrlo mali dio stanične organele. Zbog takve „nejednake“ raspodjele grubo rečeno aktivnih i neaktivnih dijelova stanice može se lako razumijeti dugogodišnje zapostavljanje metaboličkih funkcija adipocita i njegove klasifikacije kao „inertne“ ili „pasivne“ stanice, tj. pukog spremišta viška energije. Adipocit je također specifičan među stanicama tijela zbog toga što mu promjer može varirati gotovo 10 puta, od 25 do 200 μm ovisno o tome koliko lipida u sebi

pohranjuje, a ta sposobnost se oslikava i u masnom tkivu koje je jedino tkivo koje tijekom života može teorijski neograničeno rasti (4). Osim veličine adipocita, broj adipocita je također važna odrednica veličine masnog tkiva koja je kontrolirana ravnotežom između dva procesa – gubitkom stanica apopotozom i nekrozom i proliferacijom koja ovisi o diferencijaciji preadipocita u adipocite (67). Ovi procesi nalaze se pod kontrolom citokina koji su diferentno eksprimirani u različito razmještenom masnom tkivu (prije je spomenuto da je to dijelom i razlog grubih morfoloških razlika u spolno ovisnoj distribuciji masnog tkiva) (68).

Prema Scherreru, uloga masnog tkiva kao skladišta energije može se podijeliti na tri glavna procesa: 1. odlaganje lipida, 2. adipogeneza i 3. mobilizacija i iskorištavanje lipida (4). Svaki od ta tri procesa vrlo je kompleksan i sastoji se od velikog broja kemijskih reakcija koje nadilaze opseg ovog rada pa je u nastavku dat vrlo sažet prikaz kojemu je cilj izložiti sveopći smisao cjelokupnog procesa.

Odlaganje lipida je proces u koji su uključeni hidroliza lipoproteina, unos i sinteza masnih kiselina u adipocitu i esterifikacija masnih kiselina.

Adipogeneza je proces širenja masnog tkiva koji se odvija u dva koraka: 1. povećanje veličine adipocita i 2. diferencijacija preadipocita u adipocite. Još se ne znaju ključni signalni putovi i citokini u ovom procesu.

Mobilizacija lipida je proces u kojem se iz adipocita otpuštaju slobodne masne kiseline u krv koje tada tkiva mogu koristiti kao izvore energije. Iskorištavanje lipida je proces u kojem se slobodne masne kiseline unose u stanice i oksidiraju u mitohondriju u procesu znanom kao beta-oksidacija masnih kiselina i na taj način povećavaju energijski potencijal stanice (4).

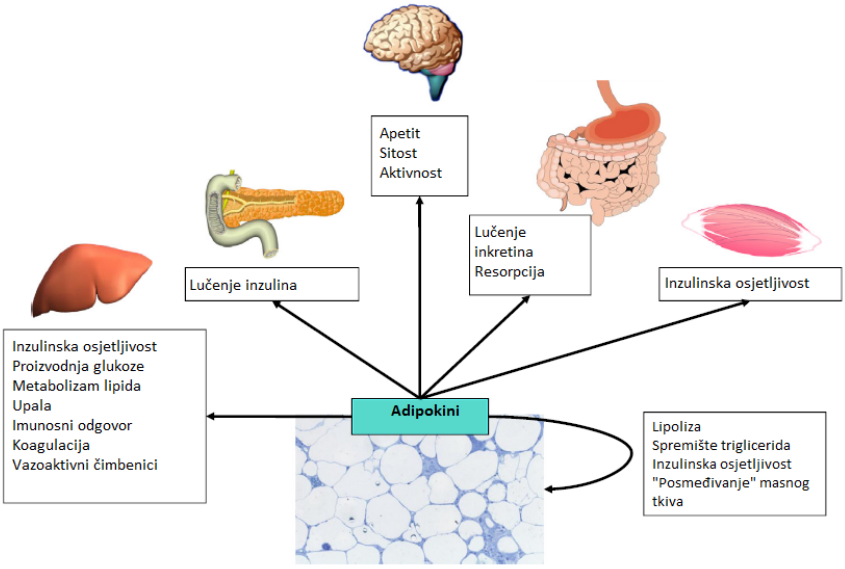
Skupom svih ovih reakcija masno tkivo izvršava tri osnovne uloge: 1. pohranu energije u adipocite, 2. čuvanje viška energije u obliku lipida i 3. oslobađanje lipida u obliku masnih kiselina kada se pokaže potreba za energijom. Ove reakcije su pod nadzorom vrlo složene mreže citokina, hormona i enzima i obuhvaćaju potrebu za koordiniranim odgovorom velikog broja organa. Neki od najvažnijih citokina, adipokini, koji čine medijatore između adipocita i ostalih stanica bit će prikazani detaljno u sljedećem poglavlju.

2.2.2.2. Adipokini

Ideja o masnom tkivu kao isključivo inertnom spremniku triglicerida dokazana je pogrešnom kada su Cook i sur. 1987. god. prvi dokazali da ono luči i aktivni protein čija je

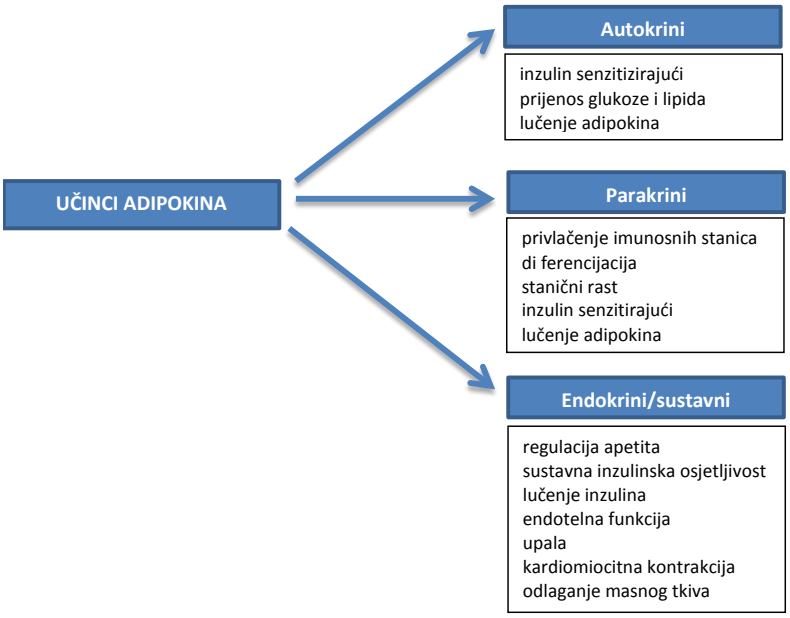
ekspresija smanjena u pretilih miševa, točnije homolog cisteinske proteaze koji su nešto kasnije nazvali adipsin, a danas je poznat pod nazivom faktor D te je razlučena njegova uloga u alternativnom putu sustava komplementa (69). Hipoteza o masnom tivu kao endokrinom organu konačno je potvrđena 1994. god. kada su Friedman i sur. otkrili produkt gena *ob/ob* - leptin (70). Danas se zna da osim različitih metabolita, masnih kiselina, estrogena i androgena, masno tkivo luči i mnoštvo signalnih proteina (citokina) koji se nazivaju adipokini ili adipocitokini (71). Postoje dvojbe o tome je li termin adipokini adekvatan naziv ove porodice spojeva. Neki autori smatraju da taj naziv nije odgovarajući, jer nisu svi adipokini citokini, tj. ne sudjeluju svi u moduliranju imunosnog sustava što je *conditio sine qua non* za citokine i predlažu precizniji naziv: hormoni proizvedeni u masnom tkivu (engl. *adipose-derived hormones)* (72). Također, neki napominju da bi se termin adipokini morao koristiti u užem smislu samo za spojeve koji se isključivo ili najvećim dijelom sintetiziraju u masnom tkivu (npr. adiponektin i leptin), a ne i za one koji se luče u visokim koncentracijama i iz drugih tkiva (npr. visfatin) (73). U svakom slučaju, termin adipokini je općeprihvaćen i najčešće korišten pa tako i u ovom radu, dok ostali termini nisu ušli u široku uporabu u literaturi.

Do danas je izolirano više od 600 različitih adipokina koji imaju širok spektar učinaka u organizmu (**Slika 2.2.**). Adipokini sudjeluju u regulaciji apetita, raspodjele masnog tkiva, osjetljivosti na inzulin, metabolizmu glukoze, regulaciji upale, arterijskog tlaka, hemostaze i endotelne funkcije (**Tablica 2.2.** (72)). Masno tkivo prima razne signale nakon kojih adipokini svoje učinke izvršavaju vezanjem za receptore, putem signalnih putova i interakcije različitih medijatora koji tada postižu učinak na ciljni organ (48). U ovakvom modelu adipocit ima ulogu primanja ulaznog signala (poticaj na lučenje adipokina, npr. promjene tjelesne temperature ili mase, promjene u koncentraciji aminokiselina, glukoze ili inzulina u plazmi i sl.) i odašiljanja izlaznog signala (a to je sam adipokin) koji je onda podložan sustavu povratne sprege (tj. povišena koncentracija adipokina u plazmi sprječava daljnje lučenje tog adipokina) (67) . U takvom modelu najbolje se razumijeva koliko je teorija o masnom tkivu kao pasivnom spremištu energije zastarjela, a koliko je moderno shvaćanje adipocita kao centralne integratorske stanice u čitavoj plejadi mehanizama i endokrine regulacije točno i bitno. Iz ove teorije izniknula je i ideja o adipokinima kao „karikama koje nedostaju“ u vezi pretilosti i raznih sustavnih i metaboličkih poremećaja – dislipidemije, inzulinske rezistencije i hipertenzije.



Slika 2.2. Opći učinci adipokina. Na slici su prikazani najvažniji učinci adipokina na središnji živčani sustav, endokrini sustav i poprečnoprugaste mišiće. Preuzeto i prilagođeno prema (72).

Kako bi razumijevanje mnogih učinaka adipokina bilo jednostavnije, oni se mogu u ovisnosti o načinu lučenja i mjestu djelovanja podijeliti na autokrine, parakrine i endokrine, odnosno sustavne (**Slika 2.3.**).



Slika 2.3. Podjela učinaka adiponektina po načinu lučenja i djelovanja. Prema mjestu djelovanja adipokina učinci mogu biti autokrini (učinak na samu stanicu koja luči adipokin), parakrini (učinak na neposrednu okolinu, tj. na okolne stanice) i endokrini ili sustavni (lučenje adipokina u krv i djelovanje na udaljene organe). Preuzeto i prilagođeno prema (72).

Masno tkivo ovisno o svojoj lokalizaciji luči različite profile adipokina (74). Visceralno masno tkivo, koje oblaže organe u abdominalnoj šupljini, smatra se općenito

sekretorno aktivnijim od supkutanog, a luči veće količine interleukina (IL) 6, inhibitora aktivacije plazminogena 1 (engl. *plasminogen activator inhibitor 1*, PAI-1) i komponente C3 komplementa, dok supkutano masno tkivo pojačano luči protein koji se veže za retinol 4 (engl. *retinol-binding protein 4*, RBP4), adiponektin i leptin (75,76). Samaras i sur. su pokazali da je profil lučenja adipokina ovisan ne samo o lokalizaciji, već i određenim metaboličkim poremećajima. Visceralno masno tkivo pacijenata sa šećernom bolešću pojačano je eksprimiralo medijatore upale - čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor-α*, TNFα), upalni protein makrofaga (engl. *macrophage inflammatory protein*, MIP) i IL-8 u odnosu na isto tkivo zdravih kontrola (76).

Obzirom na plejadu funkcija koju adipokini imaju vrlo je zanimljiva teorija o njima kao regulatorima homeostaze u organizmu (77). Ova teorija temelji se na činjenici da neki adipokini imaju dijelom suprotne učinke u regulaciji tjelesnih procesa. Možda najpoznatiji primjer je onaj adiponektina s jedne i većine drugih adipokina, najznačajnije leptina, s druge strane u pretilosti i sustavnoj upali. Do otkrića adiponektina smatralo se kako su adipokini isključivo pojačano eksprimirani u pretilosti i upali, ali su rezultati za adiponektin govorili suprotno (78–80). Posljedično, danas se smatra kako su neki metabolički poremećaji barem dijelom rezultat neravnoteže protuupalnih i proupalnih adipokina (77).

Kratko valja spomenuti da su adipokini osim najviše istraživanih učinaka na metabolizam, vjerojatno uključeni u patogenezu nekih karcinoma. Još su 1979. god. Lew i sur. u velikoj studiji na 750 000 ispitanika pokazali da je prekomjerna tjelesna masa povezana s gotovo dvostruko višim općim mortalitetom, a mortalitet od karcinoma bio je povišen u onih koji su imali ≥ 40% prekomjerne tjelesne mase i to najviše na račun kolona i rektuma kod muškaraca i žučnog mjehura, žučnih vodova i dojke kod žena (81). Kasnije je i Studija milijun žena (engl. *Million Women Study*) pokazala da je visok ITM povezan s povišenim rizikom za neke karcinome, a metaanaliza Bergstroma i sur. procjenila je da dodatno opterećenje karcinomom zbog prekomjerne tjelesne mase i pretilosti u Europi iznosi 72 000 novih slučajeva godišnje (82,83). Susljedna istraživanja pokazala su da su dijelom u povezanosti pretilosti i karcinoma implicirani adipokini. No, kao i kod metaboličkih poremećaja, utjecaj adipokina nije jednoznačan, već kompleksan i vjerojatno sličan teoriji homeostaze. Neki adipokini imaju vjerojatno protektivan učinak u razvoju karcinoma (adiponektin, hemerin, RBP4, SFRP5), dok su drugi, kao leptin, lipokalin 2, rezistin, visfatin i apelin povišeno eksprimirani u plazmi pacijenata s nekim vrstama karcinoma (84).

Već je neko vrijeme poznato da među adipokinima postoji komunikacija (tzv. *crosstalk*). Zbog toga su suvremena istraživanja adipokina orijentirana na interaktom, tj. skup

svih interakcija adipokina međusobno i s drugim molekulama kojim pokušavaju objasniti diferentne učinke adipokina na ista ciljna tkiva pod različitim uvjetima. Cilj ovih studija je razjasniti kako adipokini postižu svoje učinke i kako signalni putovi djeluju na njih, tj. izrada kompleksne mreže interakcija koja je posebno zanimljiva u vidu teorije homeostaze, a pokušava objasniti ulogu adipokina u zdravlju i bolesti (84).

Tablica 2.2. Neki najvažniji adipokini, njihovi receptori i vezni proteini i najznačajnije funkcije.

Adipokin	Receptor	Funkcije
Adiponektin	AdipoR1, AdipoR2, T-kadherin?, kalretikulin-CD91	↑inzulinsku osjetljivost, ↓upalu, ↑oks. MK, ↓glukoneogenezu, ↑adipogenezu, antiaterogen
Leptin	leptin-R	kontrola apetita u SŽS, ↑upalu, modulira imunitet, proaterogen
Rezistin	CAP1	↑inzulinsku rezistenciju, ↑sekr. protupalnih citokina
Omentin	nepoznat	biljeg visceralnog masnog tkiva, promotor endotel-ovisne dilatacije
Visfatin	inzulin-R?	↑upalu, kardioprotektivan?, inzulinski mimetik, ↓apoptozu
RBP4	retinol, transtiretin	↑inzulinsku rezistenciju
IL-6	IL-6-R	↑otpuštanje SMK iz masnog tkiva, učinci ovisni o organu
TNF	TNF-R	↑upalu, ↑lipolizu
Lipokalin 2	nepoznat	↑otpuštanje TNF→↑upalu i ↑inzulinsku rezistenciju
IL-18	IL-18-R, IL-18 vežući protein	upalna reakcija širokog spektra
CCL2	CCR2	↑infiltraciju monocita, ↑upalu
SFRP5	WNT5a	supresija proupalnog Wnt signaliziranja

(S)MK- (slobodna) masna kiselina, R-receptor, SŽS – središnji živčani sustav, CAP1 - Adenylate Cyclase-Associated Protein 1, RBP4 – retinol binding protein 4, IL – interleukin, TNF – tumor necrosis factor, CCL2 - chemokine (C-C motif) ligand 2, SFRP5 - Secreted frizzled-related protein 5, WNT – wingless int signalni put. Prilagođeno i dopunjeno prema (77).

2.2.3. Povišena tjelesna masa i pretilost

2.2.3.1. Klasifikacije povišene tjelesne mase

Iako je tjelesna masa najčešće korištena mjera debljine, ona ne daje dovoljno informacija, jer ne uzima u obzir tjelesnu visinu, građu i raspodjelu masnog tkiva. Dvije danas najčešće korištene varijable za procjenu stanja uhranjenosti su indeks tjelesne mase (ITM) i opseg struka. ITM je prepoznat kao nezavisni prediktor kardiovaskulanog i ukupnog mortaliteta i morbiditeta od mnogih kroničnih bolesti (šećerna bolest tipa 2, koronarna bolest, cerebrovaskularna bolest) (85). Računa se kao omjer tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine izražene u metrima. Također, opseg struka dokazan je kao pouzdan biljeg abdominalne pretilosti i nezavisan čimbenik rizika za mortalitet i kronični morbiditet (85,86). Zhu i sur. pokazali su kako je opseg struka jače povezan s raznim čimbenicima kardiovaskulanog rizika (nizak HDL kolesterol, visoki LDL kolesterol, arterijski tlak i glukoza u plazmi) nego ITM (87). Ardern i sur. pokazali su da u žena s povišenim ITM opseg struka daje dodatne informacije o njihovom kardiovaskularnom riziku, a Janssen i sur. zapazili su da je abdominalna pretilost nezavisan čimbenik rizika u osoba s normalnom i prekomjernom masom te u pretilih kategorije I prema ITM (88,89). Ti dokazi idu u prilog tezi da je prediktivna vrijednost kombinacije ITM i opsega struka bolja nego svaka od tih komponenti uzeta zasebno, a ta činjenica oslikava se i u klasifikaciji američkog Nacionalnog instituta za srce, pluća i krv (engl. *National Heart, Lung and Blood Institute*) koja uzima u obzir obje varijable. Ipak, postoje i autori koji smatraju kako ITM, za razliku od opsega struka, nije nezavisan čimbenik rizika (85).

Kod nas je najpopularnija i najviše korištena klasifikacija stanja uhranjenosti po ITM Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) prikazana u **Tablici 2.3.** (88). Ta klasifikacija daje pouzdane informacije o zdravstvenom riziku koji proizlazi iz povećane tjelesne mase i pretilosti, a uz dodatak opsega struka kao biljega raspodjele masnog tkiva, odnosno abdominalne pretilosti, moćan je alat za identifikaciju populacije pod rizikom.

Tablica 2.3. Klasifikacija stanja uhranjenosti prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji

Kategorija	Raspon ITM (kg/m^2)
Pothranjenost	<18,5
Normalna uhranjenost	18,5-24,9
Prekomjerna tjelesna masa	25,0-29,9
Pretilost	>30,0

ITM – indeks tjelesne mase.

2.2.3.2. Metabolički sindrom

Već je otprije primijećeno kako se neki čimbenici kardiovaskularnog rizika češće pojavljuju skupa, odnosno da se agregiraju u klastere. Reaven je prvi koji je sustavno istražio o kojim čimbenicima se radi i 1988. godine nazvao to grupiranje čimbenika rizika sindrom X (90). Kasnije su neki autori implicirali da je podležeći problem inzulinska rezistencija i predložili naziv sindrom inzulinske rezistencije, no danas je ipak najpopularniji naziv metabolički sindrom, jer se radi o klasteriranju metaboličkih čimbenika rizika (91). Neki od korištenih opisnih naziva koji opisuju ovaj sindrom su smrtonosni kvartet i dislipidemijska hipertenzija (91,92).

Prema trećem izvješću Panela za liječenje odraslih Nacionalnog programa edukacije o kolesterolu (engl. *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* za, NCEP-ATP III), jedna od dvije najčešće korištene definicije metaboličkog sindroma, identificira 6 čimbenika rizika koji su sastavni dijelovi ovog sindroma: 1. abdominalna pretilost, 2. aterogena dislipidemija, 3. povišeni arterijski tlak, 4. inzulinska rezistencije s ili bez intolerancije glukoze, 5. protuupalno stanje i 6. protrombotsko stanje (93). Većina autora slaže se s navedenim čimbenicima rizika, ali postoji više definicija koje precizno kvantitativno određuju odsječne vrijednosti i broj potrebnih čimbenika rizika za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma (**Tablica 2.4.**). Iako neki autori smatraju kako metabolički sindrom ne treba biti zaseban klinički entitet, odnosno da on ne daje više informacija nego njegove komponente uzete zasebno, čini se da to ipak nije tako (94). Velika prospektivna studija na finskim muškarcima starim od 42 do 60 godina pokazala je da je nakon 11-godišnjeg praćenja metabolički sindrom bio povezan s gotovo tri puta višim rizikom za koronarnu srčanu bolest, 2,6 do 3,0 puta višim rizikom za kardiovaskularnu i oko dva puta

višim rizikom za opću smrtnost čak i nakon prilagodbe za tradicionalne čimbenike kardiovaskularnog rizika (95). Metaanaliza Motilla i sur. koja je obuhvatila 87 studija i 951 083 pacijenata pokazala je da osobe s metaboličkim sindromom imaju 2,35 puta veći rizik za kardiovaskularnu bolest, 1,99 puta veći rizik za infarkt miokarda, 2,27 puta veći rizik za moždani udar, 2,40 puta veći rizik kardiovaskularnog i 1,58 puta veći rizik smrtnosti bilog kojeg uzroka (96).

Metabolički sindrom upozorava na visokorizični fenotip koji je, skupa s višom incidencijom pretilosti i hipertenzije, u stalnom porastu, a smatra se i dijagnozom s bitno potcijenjenom prevalencijom (97). Prevalencija metaboličkog sindroma u porastu je u cijelom svijetu, a osobito u visoko razvijenim zemljama. Najeklatantniji primjer su Sjedinjene Američke Države u kojima je u razdoblju od 1988-1994. godine do 1999.-2000. godine prevalencija metaboličkog sindroma porasla za 3 postotna boda s 24,1% na 27,1% (98). U zadnje vrijeme bilježi se znatniji porast pretilosti među ženskom populacijom, a taj je trend prisutan i u Hrvatskoj (99). Hrvatska, na žalost, ne zaostaje za svijetom ni u prevalenciji metaboličkog sindroma. U našem istraživanju koje je trenutno u pripremi za publikaciju, prevalencija metaboličkog sindroma u populaciji od 1118 ispitanika u Posavini regrutiranoj u prije opisanim perlustracijama u sklopu projekta „Endemska nefropatija – epidemiologija, dijagnostika i etiopatogeneza“ bila je vrlo visokih 44,0%. Također, žene su značajno češće imale metabolički sindrom u usporedbi s muškarcima (47,7% naspram 37,5%). Više stvari je posebno zanimljivo, a to je da smo pronašli veću incidenciju u starijih od 65 godina, različitu učestalost komponenti, tj. razliku u klasteriranju pojedinih komponenti među spolovima kao i različitu prevalenciju kada su se koristile različite definicije (Pećin, Ivković, Jelaković, neobjavljeni rezultati).

Sve ove činjenice govore da metabolički sindrom nije samo puki „zbroj svojih komponenti“, već značajan nezavisni čimbenik kardiovaskularnog rizika i smrtnosti, da mu je prevalencija vrlo visoka i u porastu i da je potrebno imedijatno djelovanje u vidu javnozdravstvenih akcija usmjereno na različite grupacije društva.

Tablica 2.4. Dvije često korištene definicije metaboličkog sindroma prema *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) i International Diabetes Federation (IDF).

Definicija	Obvezni kriterij/broj kriterija	Kriteriji
NCEP-ATP III	**≥ 3 kriterija**	**Opseg struka** Muškarci ≥ 102 cm Žene ≥ 88 cm
		Trigliceridi ≥ 1,7 mmol/L
		HDL-kolesterol Muškarci < 1,03 mmol/L Žene < 1,29 mmol/L
		Arterijski tlak ≥ 130/85 mm Hg
		GUK na tašte ≥ 5,6 mmol/L
IDF	**Patološki opseg struka + ≥ 2 kriterija**	**Trigliceridi** ≥ 1,7 mmol/L
		HDL-kolesterol Muškarci < 1,03 mmol/L Žene < 1,29 mmol/L
		Arterijski tlak ≥ 130/85 mm Hg
		GUK na tašte ≥ 5,6 mmol/L
		Patološki opseg struka definiran prema odsječnim vrijednostima specifične populacije

NCEP-ATP III - National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III, IDF – International Diabetes Federation, HDL – lipoprotein visoke gustoće, GUK – glukoza u krvi. Preuzeto i prilagođeno prema (97).

2.2.3.3. Pretilost, metabolički sindrom i hipertenzija

Pretilost i arterijska hipertenzija često se agregiraju i sastavnice su metaboličkog sindroma. Prevalencija pretilosti u Europi procjenjuje se na 10 do 20% u muškaraca i na 10 do 25% u žena, a u većini europskih zemalja je u porastu i u proteklih deset godina povećana je za 10 do 40%. Smatra se da je danas u svijetu otprilike pola milijarde ljudi pretilo ili ima prekomjernu tjelesnu masu (99). Fišter i sur. su pokazali da je 2009. godine u Hrvatskoj ukupno 38,11% ljudi imalo prekomjernu tjelesnu masu, 20,34% je bilo pretilo, a 43,52% imalo je povišen opseg struka. Prevalencija pretilosti bila je najniža u Lici i Gorskom Kotaru, a najviša u Sjevernoj Hrvatskoj (100). Prevalencija prekomjerne tjelesne mase bila je za gotovo 10% viša

u muškaraca, dok nije bilo razlike u prevalenciji pretilosti obzirom na spol (100). Musić-Milanović i sur. pratili su veću kohortu i utvrdili da je petogodišnja incidencija pretilosti u muškaraca 8,72%, a u žena 20,49%, no što je još više zabrinjavajuće jest viša incidencija u mlađih dobnih skupina, posebice u muškaraca (99). Ovi podaci posebice su zabrinjavajući, jer je povišena tjelesna masa važan nezavisni čimbenik kardiovaskularnog rizika i povezana je s višim kardiovaskularnim morbiditetom i mortalitetom (101,102). U studiji EH-UH Jelakovića i sur. čak 70% pretilih ispitanika (ITM>30 kg/m^2) imalo je i arterijsku hipertenziju, a Pećin i sur. upozoravaju da je kod djece rane školske dobi pretilost najznačajniji čimbenik za razvoj hipertenzije (34,103). Znatna agregacija arterijske hipertenzije i pretilosti dovela je i do uspostave novog patofiziološkog entiteta – tzv. hipertenzije inducirane pretilošću (engl. *obesity-induced hypertension*) (104). Wolf i sur. otkrili su da ITM opisuje čak 14% varijance u sistoličkom tlaku kod muškaraca i 32% u žena, porast ITM od 1 kg/m^2 odgovara porastu sistoličkog tlaka od 0,4 do 1,7 mm Hg u muškaraca i 0,33 do 0,77 mm Hg u žena (105). Metabolički sindrom također je usko vezan s hipertenzijom, a naši neobjavljeni podaci govore da je sistolički tlak ≥ 135/85 mm Hg najčešća komponenta u metaboličkom sindromu te da je prisutna u 87% osoba s metaboličkim sindromom.

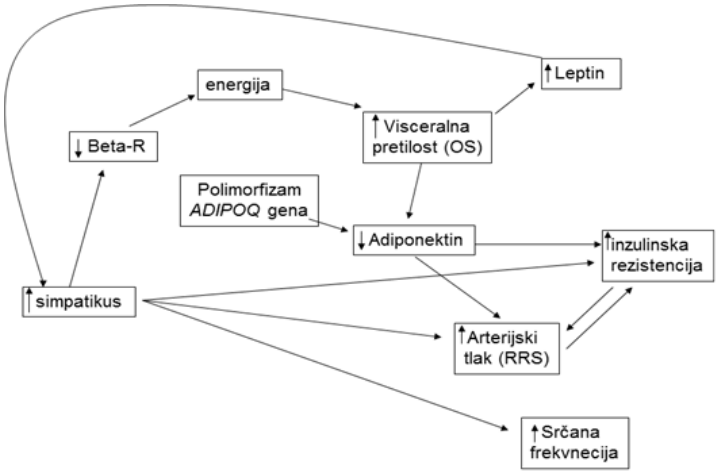
2.2.4. Inzulinska rezistencija

Inzulinska rezistencija je stanje kod kojega je odgovor tkiva na inzulin manji od očekivanoga što posljedično dovodi do hiperglikemije i sekundarno povišenoga lučenja inzulina (3). Inzulinska rezistencija smatra se "kompenziranim predstadijem" šećerne bolesti tipa 2 koja u konačnici postaje klinički vidljiva kada gušterača više nije u mogućnosti djelovati kompenzatorno zbog smanjene sposobnosti lučenja inzulina (3). Česta je u osoba koje su visceralno pretile, imaju slabu toleranciju glukoze, povišen arterijski tlak i dislipidemiju, a osobito je izražena u nekim tkivima, primjerice skeletnim mišićima, visceralnom masnom tkivu i jetri (4, 5).

Prema nekim studijama inzulinska rezistencija i hiperinzulinemija glavni su čimbenici rizika za razvoj koronarne srčane bolesti i hipertenzije (6), 7). Procjenjuje se da je oko 40% osoba s esencijalnom hipertenzijom inzulin rezistentno (8). Osim što hipertenzija zbog periferne vaskularne rezistencije i smanjenja broja arteriola u skeletnoj muskulaturi može uzrokovati inzulinsku rezistenciju i *vice versa*, hiperinzulinemija može dovesti do porasta arterijskog tlaka i hipertenzije (**Slika 2.4.**). Do sada je opisano nekoliko mehanizama kojima

hiperinzulinemija, kao posljedica inzulinske rezistencije može utjecati na povišenje arterijskoga tlaka: 1) stimulacija simpatikusa i sustava renin-angiotenzin, 2) retencija natrija u renalnim tubulima, 3) poticanje proliferacije stanica zbog povećanog unutarstaničnog pH i slobodnih kalcijskih iona, i 4) aterogeni efekt koji je posljedica djelovanja inzulina na receptore za inzulinu nalik čimbenik rasta (engl. *insulin-like growth factor)* (9).

Usprkos relativnom napretku u razjašnjenu mehanizama za nastanak hiperinzulinemije, mehanizam nastanka inzulinske rezistencije još uvijek nije razjašnjen.



Slika 2.4. Pretpostavljeni mehanizam inzulinske rezistencije, povezanost s polimorfizmima gena za adiponektin i arterijskim tlakom. Na slici je opisana povezanost hipoadiponektinemije s povišenjem arterijskog tlaka, simpatičkog tonusa i pojavom inzulinske rezistencije koji dijelom mogu biti povezan s različitom ekspresijom polimorfizama gena za adiponektin.

Inzulinska je rezistencija znanstvenoistraživački vrlo zanimljiva, jer se, slično arterijskom tlaku, može izraziti nekom od predloženih kontinuiranih varijabli kao što je indeks inzulinske rezistencije modela procjene homeostaze (engl. *homeostatic model assessment*, HOMA) što omogućava procjenu i praćenje zdravlja i bolesti ne kao dihotomne varijable, već kao metaboličkog kontinuuma a potencijalno je važno u prevenciji, ranoj detekciji i liječenju šećerne bolesti tipa 2 (REF HOMA).

Jednadžba kojom se izračunava HOMA-IR indeks inzulinske rezistencije glasi:

$$HOMA - IR = \frac{\text{Inzulin}\left[\mu\frac{\text{IU}}{\text{mL}}\right] \times \text{Glukoza}\left[\frac{\text{mmol}}{\text{L}}\right]}{22{,}5}$$

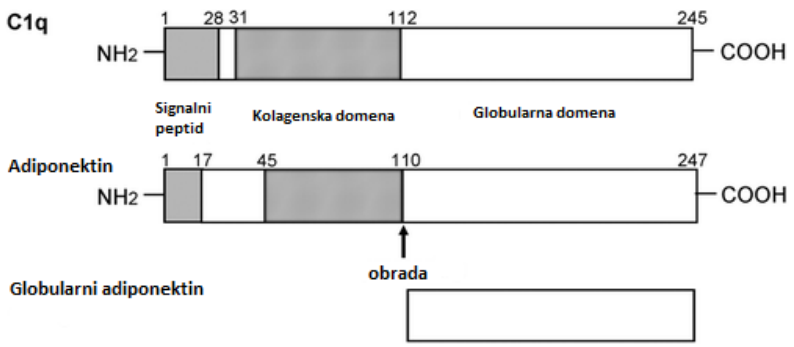
U literaturi se navode različite odsječne vrijednosti HOMA-IR kao kriterij inzulinske rezistencije, a najčešće korištene su 2, 2,5 i 3.

2. 3. ADIPONEKTIN

2.3.1. Otkriće, struktura i oblici

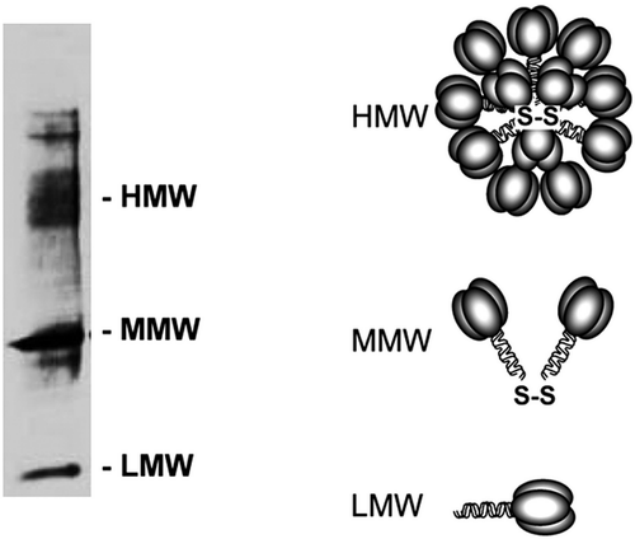
Adiponektin je protein kojeg oslobađa gotovo isključivo masno tkivo, a u plazmi se nalazi u prosječnoj koncentraciji od 5 do 30 mg/L, a s udjelom od 0,01% u ukupnim proteinima najzastupljeniji je adipokin u plazmi (6). Otkriven je i izoliran iz adipocita miša 1995. god. u u grupi Scherera i sur. koji su ga nazvali Acrp30 (engl. *adipocyte complement-related protein of 30 kDa*, adipocitni protein od 30 kDa povezan s komplementom) zbog homologije s faktorom komplementa C1 (78). U otprilike isto vrijeme, nezavisno jedna od druge, identificirale su ga još tri grupe: Hu i sur. također u mišjim adipocitima i nazvali ga AdipoQ, Maeda i sur. skeniranjem biblioteke komplementarne deoksiribonukleinske kiseline (cDNK) humanih adipocita i nazvali ga Apm1 (engl. *adipose most abundant gene transcript 1*, najzastupljeniji genski transkript masnog tkiva 1), a Nakano i sur. ekstrahirali su ga i purificirali iz ljudske plazme i nazvali GBP28 (engl. *gelatin-binding protein 28*, protein koji veže želatinu 28) (79,80,106). Prema Heikeru i sur., pojam adiponektin se danas odnosi na humani protein, a Acrp30 za isti protein u miševa s međusobnom homologijom od 85% (5).

Adiponektin pripada porodici komplementa 1q (C1q) i građom nalikuje njenim ostalim predstavnicama, tj. ima globularnu domenu na kolagenskom dršku (107). Po građi je protein s 244 aminokiseline i četiri domene: 1. amino-terminalna signalna sekvenca, 2. varijabilna regija, 3. kolagenska domena i 4. karboksi-terminalna globularna domena (**Slika 2.5.**). Ovaj oblik naziva se puni oblik ili oblik pune dužine (engl. *full-length form*, fAd). (5,108). Osim punog oblika, postoji i manji oblik adiponektina mase oko 18 kDa koji nastaje cijepanjem kolagenske domene punog oblika leukocitnom esterazom (najvjerojatnije na barem 4 različite lokacije), a naziva se globularni adiponektin ili gAd (engl. *globular form*) (109,110). Globularni adiponektin nalazi se u plazmi u niskoj koncentraciji, otprilike oko 1% ukupne koncentracije adiponektina, a njegovi učinci još nisu u potpunosti poznati, iako je već Lodisheva grupa zapazila kako u miševa potiče oksidaciju slobodnih masnih kiselina i gubitak tjelesne mase (109). Almer i sur. pokazali su da se gAd veže za aterosklerotske plakove miša jače nego fAd te bi on mogao biti potencijalni biljeg za plakove u budućem specifičnom oslikavanju (*imaging*) takvih lezija (111).



Slika 2.5. Prikaz strukture i domena C1q porodice, cjelovitog i globularnog adiponektina. Na slici je prikazana strukturna sličnost adiponektina s općom građom C1q porodice, kao i mjesto cijepanja kojim od pune forme nastaje globularni adiponektin. Preuzeto i prilagođeno prema (112).

Adiponektin u svom monomernom obliku nije nađen u plazmi, već se nalazi samo u adipocitu. On tvori homo-oligomere čija je osnovna građevna jedinica trimer adiponektina koji se naziva i adiponektin niske molekulske mase (engl. *low molecular weight*, LMW). Osim LMW forme, nalazimo još i heksamere (engl. *medium molecular weight*, srednje molekulske mase, MMW) te oligomere s 12, 18 i više podjedinica (tri potonje varijante se skupno nazivaju adiponektin visoke molekulske mase (engl. *high molecular weight*, HMW) (**Slika 2.6.**) (5,112). Prema nekim autorima najzastupljenija HMW forma je oktadekamer (113). Povezivanje adiponektina u više forme posredovano je disulfidnim mostom između kolagenskih domena. Za stabilizaciju povezivanja dijelom je zaslužan cisteinski ostatak u kolagenskoj domeni koji se u humanom adiponektinu nalazi na poziciji 36 brojeći od N-terminalnog signalnog peptida, a evolucijski je očuvan u molekuli adiponektina svih do sada proučavanih životinjskih vrsta (Cys^{36}, ovisno o vrsti, nalazi se brojčano na različitom mjestu, npr. Cys^{39}, odnosno Cys^{22} ne brojeći aminokiseline u signalnom peptidu u miša) (5,114,115). U modelima gdje je cistein na toj poziciji zamijenjen alaninom bila je moguća trimerizacija, ali ne i spajanje u više forme (MMW i HMW) (116). Taj primjer ocrtava stabilizacijsku ulogu koju taj cisteinski ostatak ima u tvorbi viših homo-oligomera adiponektina.



Slika 2.6. Prikaz građe multimera adiponektina na elektroforezi (SDS-PAGE) (*lijevo)* i shematske građe (*desno*). Elektroforezom su separirani multimeri prema različitoj molekulskoj masi i naboju, a na desnoj strani pojednostavljeno je prikazana njihova struktura. Vide se disulfidne (S-S) veze koje su nužne u nastanku multimera višeg reda. Preuzeto i prilagođeno prema (5).

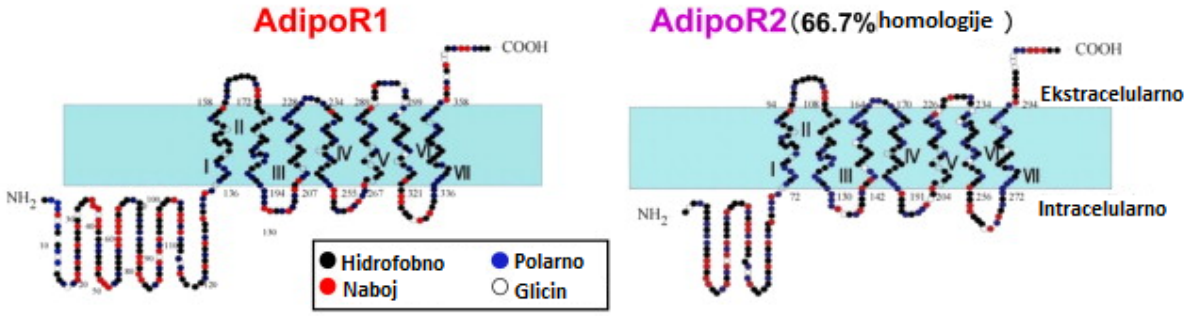
Zanimljivo je da su Shapiro i Scherer otkrili da kristalna struktura homotrimera adiponektina vrlo sliči građi proteina iz porodice TNF iako nemaju toliko slične sekvence proteina. Na temelju toga Shapiro i Scherer postuliraju postojanje evolucijske veze između porodica C1q i TNF, čime objašnjavaju njihove povezane funkcije u organizmu (107).

Detaljno poznavanje strukture adiponektina važno je ne samo zbog razumijevanja njegovog učinka nakon vezanja za receptore, već i zbog diferentnih učinaka različitih formi koje on tvori, o čemu će biti govora u kasnijim poglavljima.

2.3.2. Receptori i mehanizam djelovanja

Kadowaki i sur. su 2003. god. izolirali cDNK prvog receptora za adiponektin, AdipoR1 (kromosomska lokacija gena: 1p36.13-q4), metodom traženja (engl. *screening*, probir) potencijalnih veznih mjesta za gAd (117). Kako bi istražili postoji li više receptora, pretragom za homologne gene pronađen je još samo jedan gen koji je imao homologiju u slijedu aminokiselina veću od 66% i njegov produkt nazvan je AdipoR2 (kromosomska lokacija gena: 12p13.31) (117). AdipoR1 i AdipoR2 sadrže sedam transmembranskih domena i topologijom su integralni membranski proteini s unutarstaničnim N-terminusom i vanstaničnim C-terminusom (**Slika 2.7.)** što je suprotno topologiji svih ostalih receptora

vezanih za G-proteine te pripadaju superporodici progesteronskih i AdipoQ receptora (PAQR) (5). Osim heptaheliksne transmembranske domene ova dva receptora dijele i tri kratka aminokiselinska motiva karakteristična za superporodicu: 1. $Ex_{2-3}Nx_3N/H$, 2. Sx_3Hx_nD i 3. Hx_3H. Iako su prvotne Scathchardove analize vezanja liganda za receptor pokazale kako je AdipoR1 isključivo receptor za gAd, a AdipoR2 za adiponektin pune duljine (tj. trimer i multimere), danas je poznato da se vjerojatno oba oblika adiponektina vežu za oba receptora iako različitim afinitetima pa se tako zna da gAd ima velik afinitet za AdipoR1, dok i gAd i oblik pune duljine imaju intermedijarni afinitet za AdipoR2 (5,117,118).



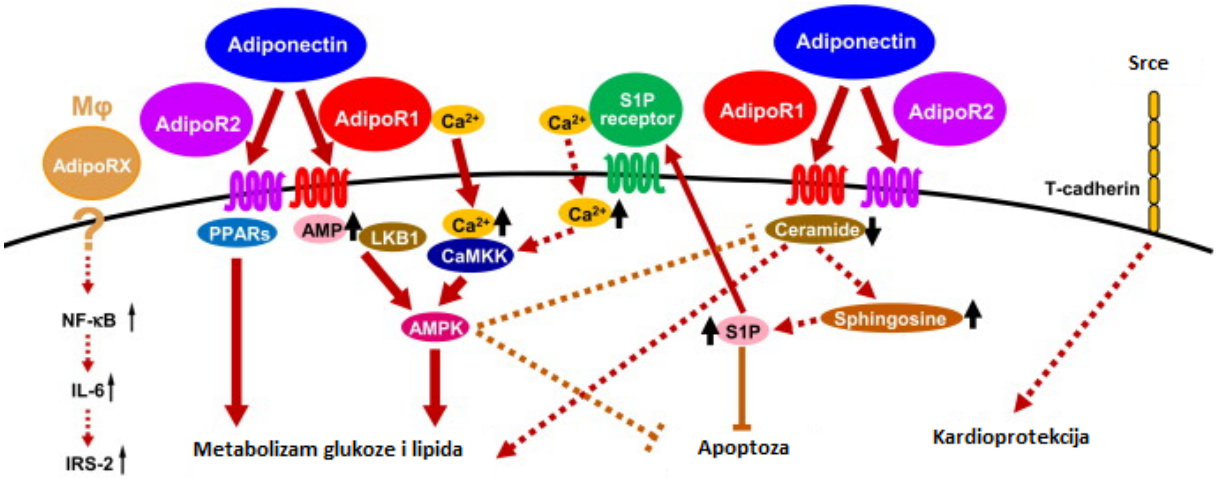
Slika 2.7. Prikaz građe receptora za adiponektin. Lijevo je prikazana struktura AdipoR1 koji se sastoji od izvanstaničnog COOH kraja, unutarstaničnog NH_2 kraja i heptaheliksne transmembranske domene. Slična je i građa AdipoR2 koji s AdipoR1 dijeli 2/3 homologije u strukturi. Preuzeto i prilagođeno prema (5).

Iako je gotovo sigurno da su oba receptora zastupljena u mnogim ili čak svim tkivima, oni imaju ponešto različitu tkivnu ekspresiju tako da je AdipoR1 pretežito eksprimiran u skeletnom mišićju, a AdipoR2 u tkivu jetre (5). Mehanicistički, adiponektin svoj učinak postiže kroz najmanje tri do sada poznata signalna puta: 1. aktivacijom adenozin monofosfat kinaze (AMPK), 2. aktivacijom peroksisomskim proliferatorom aktiviranog receptora α (engl. *peroxysome proliferator activated receptor α*, PPARα) i 3. stimulacijom aktivnosti ceramidaze (**Slika 2.8.**).

Oblici pune dužine vežu se za AdipoR1 i time stimuliraju fosforilaciju AMPK u skeletnom mišićju i jetri, dok gAd samo u skeletnom mišićju, a za taj put potrebni su kalcij i kalmodulin-ovisna protein kinaza kinaza (Ca^{2+}/CaMKKβ) te adenozin monofosfat i jetrena kinaza B1, poznata i kao serin/treonin kinaza 11 (AMP/LKB1). Pokretanjem ovog signalnog puta u jetri smanjuje se ekspresija enzima potrebnih za glukoneogenezu (npr. fosfoenolpiruvat karboksilaze i glukoza-6-fosfataze) (118,119).

Vezanjem za AdipoR2 pokreće se kaskada PPARα. Ovaj signalni put posreduje promjenu ekspresije gena koji reguliraju β-oksidaciju masnih kiselina i enzime glukoneogeneze. Oba puta posreduju antidijabetski, antiaterogeni i protuupalni učinak u različitim tkivima (5).

Naknadno je upoznat put ceramidaze. Adiponektin aktivira ceramidazu i smanjuje koncentraciju ceramida u stanici što rezultira povećanjem koncentracije sfingozina i smanjenom koncentracijom ceramida u jetri te posljedičnim povećanjem osjetljivosti na inzulin. Bitna značajka koja pokazuje važnost ovog puta i daje potvrdu uzročne povezanosti adiponektina i ceramidaze jest njegova ovisnost o aktivaciji AdipoR1 ili AdipoR2 (119–121).



Slika 2.8. Signalni putovi adiponektina. Adiponektin postiže svoje djelovanje kroz najmanje tri do sada poznata signalna puta: 1. aktivacijom adenozin monofosfat kinaze (AMPK), 2. aktivacijom peroksisomskim proliferatorom aktiviranog receptora α (engl. *peroxysome proliferator activated receptor α*, PPARα) i 3. stimulacijom aktivnosti ceramidaze. Prikazan je i potencijalni još uvijek nedovoljno razjašnjeni put preko NF-kappa B sustava (AdipoRX). AdipoR1/2/X – receptori za adiponektin, Ca^{2+}-kalcijev ion, NF-kappa B-nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, IL-interleukin, IRS-Insulin receptor substrate, S1P – sfingozin-1-fosfat. Preuzeto i prilagođeno prema (112).

Prilično je izvjesno da uz ova tri signalna puta postoji još najmanje jedan, vjerojatno posredovan i zasebnim receptorom, a u prilog toj tvrdnji govori to da adiponektin povećava ekspresiju IL-6 u makrofaga aktivacijom NF-kappaB neovisnim o AdipoR1 i AdipoR2 (122).

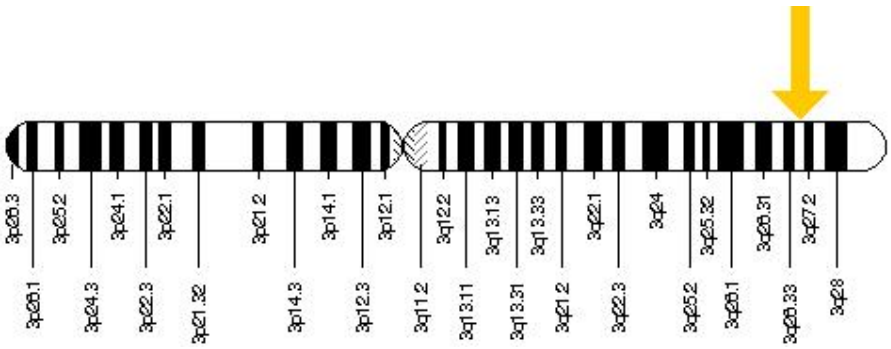
Hug i sur. identificirali su 2004. godine i treći receptor – T-kadherin, kojeg kodira *CDH13* (123). Ipak, kako je T-kadherin ekstracelularni protein usidren za glikozilfosfatidilinozitol i nema intracelularnu domenu, vjerojatno je da je on samo vezni protein, odnosno koreceptor za adiponektin. Zanimljivo je da se samo eukariotski adiponektin veže za T-kadherin što implicira nužnost posttranslacijskih modifikacija, a također Hug i sur. su pokazali da se za T-kadherin vežu isključivo heksamer i HMW-oblici adiponektina, a ne i trimer i globularni oblik (123). Adiponektin se ne veže u srčanom tkivu miševa koji ne

eksprimiraju T-kadherin te su Denzel i sur. pokazali da je njegova ekspresija nužna za kardioprotektivne učinke adiponektina (124).

2.3.3. Gen za adiponektin (*ADIPOQ*)

Već dugo vremena smatra se kako je patofiziološka osnova debljine, inzulinske rezistencije i nekih drugih metaboličkih promjena barem dijelom genetska. Jedan od kandidata za djelomični uzročni čimbenik je svakako i gen za adiponektin, jer se zna da je plazmatska razina adiponektina u brojnim studijama značajno povezana s raznim metaboličkim poremećajima. Uzevši to u obzir, kao i činjenicu da je otprilike 30 do 70% varijablinosti u plazmatskoj koncentraciji adiponektina određenom genetskim čimbenicima, jasna je važnost upoznavanja strukture ovog gena (125).

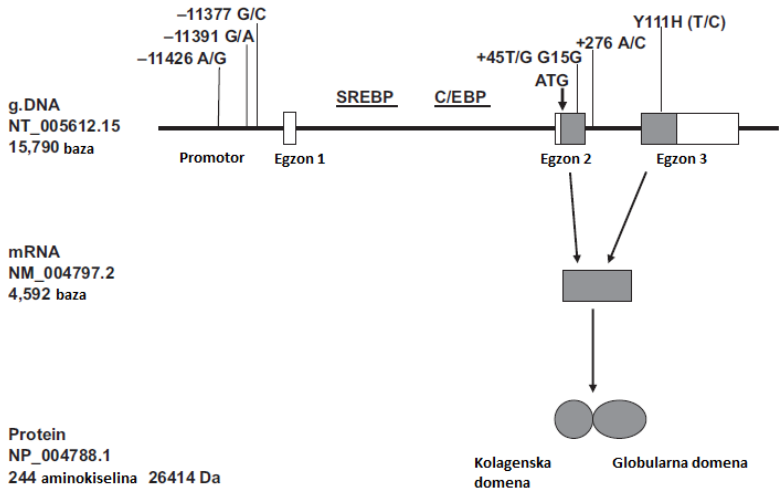
Gen za adiponektin smješten je na dugom kraku trećeg kromosoma, točnije na lokalizaciji 3q27 od 186 842 667 bp do 186 858 462 bp (engl. *base pair*, par baza) (**Slika 2.9.** .).



Slika 2.9. Kromosomska lokacija gena za adiponektin. Gen za adiponektin se nalazi na dugom kraku 3. kromosoma na lokaciji 3q27 (označeno žutom strelicom). Preuzeto i prilagođeno prema www.1000genomes.org.

Službeno ime mu je "adiponectin, C1Q and collagen domain containing", a poznat je pod plejadom drugih naziva – *ACDC*, *ACRP30*, *ADIPQTL1*, *ADPN*, *APM1*, *APM-1*, *GBP28* te najčešće rabljenim *ADIPOQ*. Gen *ADIPOQ* je isključivo eksprimiran u masnom tkivu. Gen je dug 16 kb (engl. *kilobase*, kilobaza) i sadrži tri egzona, dva introna i promotor bez TATA kutije (126,127). Saito i sur. mapirali su ga na kromosomskoj regiji, za koju je otprije poznato da je povezana s inzulinskom rezistencijom, koristeći metodu fluorescentne *in situ* hibridizacije (engl. *fluorescent in situ hybridization*, FISH) što je kasnije potvrđeno i metodom radijacijske hibridne analize (126,128). Veličine triju egzona su redom 18 bp, 222 bp i 4277 bp, a regija koja kodira peptid počinje na početku 2. egzona i završava na početku

3. egzona (**Slika 2.10**). Dužine introna su 0,8 kb i 12 kb (127). Promotorska regija ima dva elementa – CCAAT pojačivač i DNK-vezne elemente sterol regulatornog veznog proteina (129). Heid i sur. su otkrili da je gen organiziran u dva bloka s visokom neravnotežom povezanosti (engl. *linkage disequilibrium*, LD) (D′ >0,8 za parove susljednih polimorfizama jednog nukleotida) između kojih se nalazi regija s nižom LD smještena u prvom intronu (130). Zanimljivo je da je organizacija *ADIPOQ* gena vrlo slična onoj *ob* gena koji kodira leptin oba imaju tri egzona i dug prvi intron, iako su aminokiselinske slijedovi ta dva proteina vrlo različiti. Stupanj homologije mRNK *ADIPOQ* gena čovjeka i miša je oko 84% (131).



Slika 2.10. DNK, glasnička RNK i protein adiponektina. Na slici je prikazana struktura DNK gena za adiponektin, pozicije ispitivanih polimorfizama i okolnih polimorfizama, glasnička RNK i građa samog proteina podijeljena u dvije domene, kolagensku i globularnu. Preuzeto i prilagođeno prema www.1000genomes.org

2.3.4. Polimorfizmi gena za adiponektin i njihova uloga u zdravlju i bolesti

Polimorfizmi jednog nukleotida su varijacije u slijedu DNK u kojima se jedan nukletotid razlikuje između članova neke populacije. Na svakih 1000 baza unutar kromosoma u prosjeku se jedan nukleotid razlikuje od bilo kojih drugih kopija istog kromosoma. Da bi se određeni položaj nukleotida smatrao polimorfnim on mora postojati u najmanje dvije inačice. Smatra se da polimorfizmi jednog nukleotida čine oko 90% svih polimorfizama, a do danas ih je otkriveno oko 1,8 milijuna. Neki od polimorfizama jednog nukleotida mijenjaju funkciju ili izražaj gena, a samim time ponekada i fenotipsko svojstvo. Smatra se da tih polimorfizama u

genomu čovjeka ima oko 50 000-250 000. U nastavku su izložene povezanosti ispitivanih polimorfizama gena za adiponektin s nekim fenotipskim obilježjima.

2.3.4.1. -11377 C>G

Polimorfizam -11377 C>G ispočetka je u asocijacijskim studijama bio povezivan s rizikom za inzulinsku rezistenciju i šećernu bolest tipa 2. U metaanalizi Gonga i sur. koja je na 10 267 dijabetičara i 12 837 kontrola, G alel je nosio 8% viši rizik za šećernu bolest tipa 2 u usporedbi s alelom C (132). Ovaj učinak, za razliku od učinka polimorfizma -11391 G>A, nije bio ovisan o etnicitetu. Chu i sur. pronašli su također povezanost ovog polimorfizma sa šećernom bolesti tipa 2 i u europskoj i u azijskoj populaciji (133). Slične zaključke donijela je i metaanliza Hana i sur. gdje je G alel bio povezan s 9% višim rizikom za šećernu bolest tipa 2 (134). U velikoj finskoj studiji prevencije šećerne bolesti, polimorfizam -11377 C>G bio je povezan s tjelesnom masom na način da su nositelji G alela bili teži, no dodatnom analizom u podskupinama utvrđeno je da ta razlika postoji samo u žena. Za razliku od većine studija, ovdje su nositelji G alela imali manji rizik za razvoj šećerne bolesti tipa 2 u usporedbi s dominantnim homozigotima, ali je viša koncentracija adiponektina granično značajno predisponirala manjim šansama za razvoj šećerne bolesti tipa 2 (135). Iako su lokusi oko polimorfizma -11377 C>G još rano bili označeni kao lokusi implicirani u razvoj pretilosti, recentna metaanaliza Lu i sur. tu povezanost nije našla (136). Od 8 studija s preko 4500 ispitanika uključenih u metaanalizu, neke su pokazivale značajnu povezanost, a neke nisu što je rezultiralo značajnom heterogenosti među studijama ($p<0,001$). Ovakav nalaz potaknuo je daljnje analize kojima je otkriveno da alel C nosi 23% manji rizik za pretilost u azijskoj populaciji, dok u drugim populacijama nije bilo ove povezanosti (136).

U velikoj Framingham Offspring studiji nije nađena povezanost ovog polimorfizma s koncentracijom adiponektina, a ta povezanost nije nađena ni u finskoj studiji (135,137). Ipak, u maloj tajlandskoj studiji, nositelji G alela imali su nižu plazmatsku koncentraciju adiponektina (138).

U metaanalizi Yanga i sur. koja je uključila gotovo 12 500 ispitanika nositelji minor alela G imali su 15% viši rizik za koronarnu bolest u usporedbi s dominantnim homozigotima (139). No, zanimljivo je da je u analizi podskupina otkriveno kako je taj rizik prisutan samo u azijskoj populaciji. U velikoj talijanskoj studiji, ovaj polimorfizam nije bio povezan s povišenim rizikom za infarkt miokarda, a povezanost nije nađena ni u kineskoj populaciji (140,141). Zanimljivo, G alel bio je značajan alel rizika za ishemijski moždani udar u azijskoj

populaciji (141). Dvije kineske studije pronašle su povezanost ovog polimorfizma i s hipertenzijom (11,12). Patogenetski razlog nekih ovih pojava mogao bi se naći i u povezanosti s oksidativnim stresom koja je također pronađena za ovaj polimorfizam (142).

Polimorfizam -11377 C>G povezan je i s nastankom nekih karcinoma. Neke studije pokazale su da je alel G povezan s manjim rizikom za razvoj kolorektalnog karcinoma, no druge studije i barem jedna metaanaliza nisu pronašli tu povezanost (143–145). Karcinom prostate također je bio povezan s ovim polimorfizmom u dvije studije, ali ne i u trećoj provedenoj na azijskoj populaciji (146–148). Nije pronađena povezanost ovog polimorfizma i karcinoma dojke niti nesitnostačnog karcinoma pluća (143,149). Ipak, čini se da ovaj polimorfizam nije povezan s višim ukupnim rizikom za rak (150,151).

2.3.4.2. -11391 G>A

Polimorfizam -11391 G>A povezan je s rizikom za razvoj šećerne bolesti tipa 2. U metaanalizi Hana i sur. minor alel A bio je povezan sa 7% višim rizikom za razvoj šećerne bolesti, ali ta povezanost nije nađena u ostalim statističkim modelima (134). Slična povezanost bila je prisutna i u metaanalizi Chu i sur., a i u nekim drugim radovima (133). Minor alel A ovog polimorfizma povezan je s višim rizikom od pretilosti (136).

Henneman i sur. pronašli su da je alel A povezan s višom razinom adiponektina, a to je sukladno i s nekim drugim studijama, dok su drugi pronašli hipoadiponektinemiju u recesivnih homozigota (152–157). Alel A također je bio povezan i s nižom tjelesnom masom, opsegom bokova i ITM (158). Zanimljivo je da su Morandi i sur. pronašli da je A alel povezan s gorim metaboličkim profilom i ishodima usprkos višoj adiponektinemiji (159). Polimorfizam -11391 G>A nije bio povezan s rizikom za kolorektalni karcinom (143).

Nije pronađena povezanost između ovog polimorfizma i koronarne bolesti niti infarkta miokarda (140,160). Također nije pronađena povezanost s ishodom kroničnog srčanog zatajenja (161). Alel A povezan je s većim rizikom za razvoj dijabetičke nefropatije (162,163).

2.3.5. Uloga adiponektina u zdravlju i nekim poremećajima i bolestima

Lokus na kojemu se nalazi gen za adiponektin u ranim je istraživanjima identificiran kao mjesto povezano s rizikom za pretilost, inzulinsku rezistenciju i šećernu bolest tipa 2. Adiponektin je, kako je spomenuto, protein povezan s plejadom učinaka nužnih za održavanje homeostaze u zdravom organizmu, ali i povezan s nekim metaboličkim poremećajima i uključen u patogenezu nekih bolesti. U sljedećim potpoglavljima sažeto je izložena uloga adiponektina u zdravlju i nekim bolestima i to na način da su prvo predstavljena temeljna istraživanja, a potom najvažnije kliničke studije.

2.3.5.1. Pretilost i metabolički sindrom

Već po samom otkriću, prva stvar koja je zaintrigirala istraživače jest to da je koncentracija adiponektina za razliku od ostalih adipokina snižena u pretilih osoba (6). Taj paradoks nastojao se objasniti hipotezom da je transkripcija gena za adiponektin snižena zbog povećane koncentracije upalnih i angiogenih čimbenika koje luče hipertrofični adipociti (164). Također, taj inverzan odnos adiponektina i tjelesne mase potvrđen je studijama koje su pokazale da se koncentracija adiponektina povisuje nakon gubitka na težini, iako postoje studije koje tvrde suprotno (165,166). *In vitro* studije pokazale su da oksidativni stres, pojačana aktivnost simpatičkog živčanog sustava i povećana koncentracija proupalnih citokina smanjuju ekspresiju adiponektina (167,168). Sniženje koncentracije adiponektina u pretilosti prethodilo je smanjenju inzulinske rezistencije (169). Svi ovi čimbenici mogu utjecati na vezu između adiponektina i pretilosti.

Klinički je vrlo važna povezanost adiponektina i metaboličkog sindroma. Metabolički sindrom koji predstavlja klasteriranje različitih čimbenika rizika i neovisno utječe na rizik za smrtnost i kardiovaskularni morbiditet rastući je problem u suvremenom društvu. Ryo i sur. pokazali su da je u skupini Japanaca s metaboličkim sindromom adiponektin značajno niži nego u kontrolama bez metaboličkog sindroma. Također, koncentracija adiponektina bila je negativno korelirana s brojem sastavnica metaboličkog sindroma (170). Velik broj drugih studija pronašao je sličnu povezanost hipoadiponektinemije i pretilosti i metaboličkog sindroma, ali i dislipidemije koja prati ova stanja (6,171,172). U prilog tome idu i nutricionističke kliničke studije koje su pokazale da određene dijete i prehrambeni sastojci kao što su sojini proteini i nezasićene masne kiseline u uljima mogu dovesti do porasta koncentracije adiponektina (173–175).

Adiponektin se već duže vrijeme izdvaja kao potencijalna molekula u liječenju pretilosti, a ovi dokazi govore u prilog snažnoj inverznoj povezanosti adiponektina i pretilosti, ali i metaboličkog poremećaja uopće, koji kasnije mogu dovesti do različitih bolesti kao što su ateroskleroza, koronarna i cerebrovaskularna bolest.

2.3.5.2. Inzulinska rezistencija i šećerna bolest tipa 2

Povezanost adiponektina i šećerne bolesti tipa 2 bila je od samog početka zanimljiva istraživačima, ali i kliničarima kao potencijalna terapijska lokacija (118,176). Jedna od prvih eksperimentalnih naznaka o ovoj povezanosti bilo je istraživanje Hotte i sur. u kojem su pokazali kako se koncentracija adiponektina u rezus majmuna smanjuje paralelno s razvojem inzulinske rezistencije, a prije razvoja šećerne bolesti (169). Ekspresija gena za adiponektin pozitivno je korelirana s inzulinskom osjetljivosti u zdravih kontrola, ali ne i u rođaka prvog koljena pacijenata sa šećernom bolesti tipa 2 što implicira da je disregulacija ekspresije gena za adiponektin prisutna prije razvoja same šećerne bolesti tipa 2 (177). Yamauchi i sur. pokazali su da se u lipodistrofičnih miševa javljaju hiperinzulinemija i hiperglikemija koje se javljaju istovremeno kad i teška plazmatska hipoadiponektinemija. Dodatni dokaz bilo je metaboličko poboljšanje nakon fiziološke doze rekombinatnog adiponektina (178). U drugom istraživanju ista skupina pokazala je da je u miševa koji pojačano eksprimiraju adiponektin, a ne eksprimiraju leptin poboljšana inzulinska rezistencija (117). Osim ovih učinaka na metabolizam gukoze, adiponektin smanjuje i plazmatsku koncentraciju slobodnih masnih kiselina (109). Također, adiponektin je u jetri miševa smanjio i udio masnog tkiva (179). Pretpostavlja se da je taj učinak rezultat pojačane oksidacije i smanjene sinteze masnih kiselina. Sumarno se mehanizmi adiponektina na amelioraciju šećerne bolesti mogu opisati kao supresija glukoneogeneze u jetri, stimulacija oksidacije masnih kiselina i unosa glukoze u skeletne mišiće i stimulacija lučenja inzulina (118,180). Vjerojatno je da su ovi učinci posredovani prije opisanim signalnim putevima adiponektina. Čini se da su unos glukoze u skeletne mišiće i oksidacija masnih kiselina posljedica aktivacije AMPK nakon vezanja za AdipoR1, a jetreni učinci posljedica vezanja za AdipoR2 (117). Osim ovih receptorima posredovanih učinaka, Awazawa i sur. pronašli su da adiponektin povećava ekspresiju IRS-2 (engl. *insulin receptor substrate*, supstrat inzuinskog receptora) preko aktivacije signalnog provodnika i aktivatora transkripcije-3 (STAT3), što je povezano s produkcijom IL-6 u makrofagima induciranom aktivacijom NFκB koja je neovisna o AdipoR1 i AdipoR2 (181).

Najvažnije kliničke dokaze gornjih tvrdnji daje nam metaanaliza Li i sur. provedena na 15 studija sa 14 598 ispitanika (2623 incidentna dijabetičara) (182). Viša plazmatska koncentracija adiponektina bila je povezana s nižim rizikom za razvoj šećerne bolesti tipa 2. Za svaki 1 log mg/L povećanja adiponektina rizik je pao za 28%. Ovaj odnos bio je konzistentan i u različitim podskupinama uključenima u metaanalizu: bijelcima, istočnoazijskoj i indijskoj populaciji, američkoj crnačkoj populaciji i Indijancima. Procjenjena razlika u apsolutnom riziku bila je 30,8/1000 osoba-godina za populaciju Amerikanaca s intolerancijom glukoze (182).

Ove studije pokazuju molekularnu osnovu i kliničku važnost plazmatske koncentracije adiponektina kao zaštitnog čimbenika za razvoj inzulinske rezistencije i posljedične šećerne bolesti tipa 2 i potenciraju adiponektin ne samo kao biljeg inzulinske rezistencije, već kao buduće terapijsko sredstvo protiv ove bolesti.

2.3.5.3. Kronična bubrežna bolest

Povezanost adiponektina, bubrežne funkcije i kronične bubrežne bolesti je vrlo kompleksna. Prema većini istraživanja, kronična bubrežna bolest je naizgled paradoksalno povezana s višom koncentracijom adiponektina (8,9). U mišjem modelu bubrežnog zatajenja zabilježene su više koncentracije adiponektina, a većina studija koje su ispitivale odnos koncentracije adiponektina i bubrežne funkcije odražene glomerularnom filtracijom zabilježile su inverzan odnos (183–185). Zanimljivo je da porast adiponektina prati progresiju kronične bubrežne bolesti te su u pacijenata na dijalizi vrijednosti plazmatskog adiponektina tri puta više nego u kontrola (186–188). Čini se ipak kako odlučujuća uloga u etipatogenezi hiperadiponektinemije u bubrežnoj bolesti nije ona glomerularne filtracije, već proteinurije i uremičnog okoliša, jer su i u pacijenata s nefrotičkim sindromom i normalnom glomerularnom filtracijom vrijednosti adiponektina u plazmi također povišene (189,190). Sharma i sur. su u svom epohalnom istraživanju otkrili kako bi adiponektin mogao biti poveznica između pretilosti i proteinurije (191,192). Naime, oni su u miševa bez gena za adiponektin pronašli patološku albuminuriju koja se normalizirala nakon davanja adiponektina. Otkrili su da je razlog pojavi albuminurije disfunkcija nožica podocita koji obavijaju glomerularne kapilare, a smatra se da je mehanizam posredovan djelovanjem adiponektina preko signalnog puta AMPK (191). Razlozi visokog adiponektina u uremičnom okolišu vjerojatno su gubitak ravnoteže između reaktivnosti liganda i receptora, reducirani

klirens adiponektina i metabolički poremećaj u uremiji, a možda se radi i o kompenzatornoj protektivnoj uozi adiponektina (9).

Iako je prva razmjerno mala studija, pa čak i neke nakon nje, pokazala da u kroničnoj bubrežnoj bolesti niže razine adiponektina povećavaju rizik za kardiovaskularne bolesti i smrtnost, kasnije velike studije gotovo jednoglasno su pronašle kako je stvarnost obratna – hiperadiponektinemija je povezana s višim rizikom (193–199). Također, otkriveno je da se adiponektin nakon transplantacije bubrega povisi, ali ne i normalizira (200). Objašnjenje za povišeni mortalitet u kroničnoj bubrežnoj bolesti i hiperadiponektinemiji se možda nalazi u povećanom potrošku energije koji stanje visoke adiponektinemije uzrokuje. Zanimljivo je istraživanje Ohashija i sur. koji nakon isključenja pacijenata na hemodijalizi s visokom adiponektinemijom više nisu našli poveznicu između adiponektina i mortaliteta, a također treba napomenuti da je poveznica hiperadiponektinemije i mortaliteta nađena i u nekim bolestima u kojima bubrezi nisu zahvaćeni kao npr. u kroničnom srčanom zatajenju (198,201).

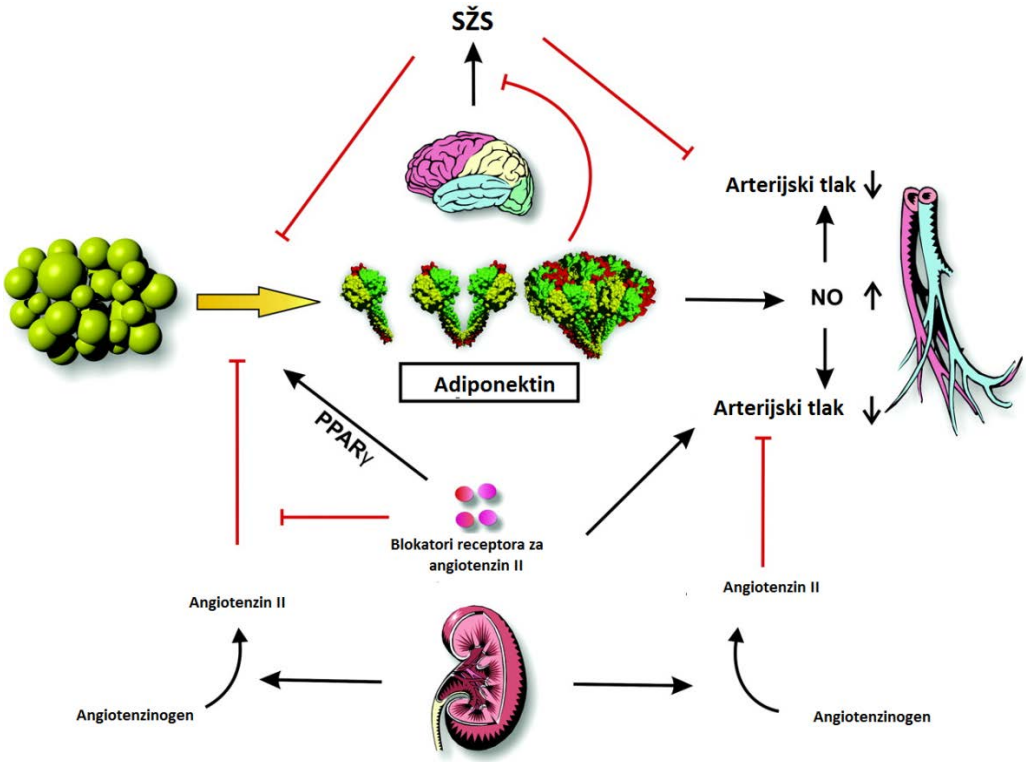
Zaključno, odnos adiponektina i bubrežne funkcije je vrlo kompleksan i potreban je velik oprez u budućim studijama kako promatrani ishodi ne bi bili zasjenjeni ovim na prvi pogled paradoksalnim odnosom.

2.3.6. Adiponektin i arterijski tlak

2.3.6.1. Adiponektin i mehanizmi utjecaja na arterijski tlak

Mnoge studije proučavale su odnos adiponektina i arterijskog tlaka u cilju otkrivanja fiziologije i patofiziologije toga odnosa. Danas se zna da su adiponektin i arterijski tlak povezani preko najmanje tri mehanizma: 1. sustava dušičnog (II) oksida (NO) i endotelne disfunkcije, 2. sustava renin-angiotenzin i 3. centralnog djelovanja posredovanog simpatičkim živčanim sustavom (**Slika 2.11.**) (202).

Pokusi u kojima se mjerio protok krvi kroz podlakticu nakon reaktivne hiperemije pokazali su da je plazmatska koncentracija adiponektina korelirana s odgovorom endotela (203). Eksperimentalno je potvrđeno da miševi koji su deficijentni za adiponektin imaju poremećen odgovor endotela, tj. smanjenu vazodilataciju i koncentraciju nitrata i nitrita, a Tan i sur. pokazali su da je hipoadiponektinemija u pacijenata sa šećernom bolesti povezana s endotelnom disfunkcijom koja se nakon davanja adiponektina poboljšala (203–206).



Slika 2.11. Mehanizmi djelovanja adiponektina na arterijski tlak. Adiponektin djeluje na arterijski tlak preko tri mehanizma: 1. povećanjem ekspresije NO sintaze, 2. djelovanjem na sustav renin-angiotenzin-aldosteron i 3. djelovanjem na simpatički živčani sustav (SŽS). Preuzeto i prilagođeno prema (202).

Adiponektin stimulira endotelnu NO sintetazu (eNOS). I adiponektin pune duljine i globularni adiponektin povećavaju koncentraciju NO, a adiponektin pune duljine stimulira fosforilaciju na lokaciji Ser1179 i time povećava aktivnost eNOS (207,208). Oba receptora za adiponektin prisutna su u stanicama endotela, a smanjenje ekspresije ijednog od njih smanjuje proizvodnju NO (206,209). Iako se radi o području koje još nije potpuno istraženo, smatra se da u signalnim putovima utjecaja adiponektina na koncentraciju NO sudjeluju fosfatidilinozitol 3-kinaza, AMPK, APPL1 (molekula povezana sa signalizacijom na AdipoR1) i Hsp90 (210).

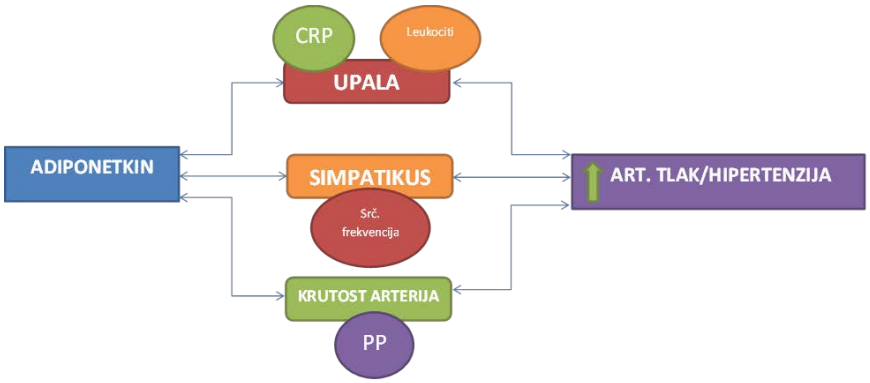
Povećana koncentracija angiotenzina II u krvi povisuje tlak, a sveukupna disregulacija renin-angiotenzin-aldosteron sustava (RAAS), jednog od fizioloških sustava kontrole tlaka, dovodi do hipertenzije (211,212). Ta činjenica, zajedno sa spoznajom da i blokatori receptora za angiotenzin II i adiponektin dovode do povećanja osjetljivosti na inzulin, potaknula je istraživanje veze adiponektina i angiotenzina. Kontinuirana kronična infuzija angiotenzina II u štakora dovodi do smanjenja koncentracije adiponektina i povećanja koncentracije slobodnih radikala (213,214). Zanimljivo je da to smanjenje nije ovisno o blokadi receptora za

angiotenzin II (barem ne podtipa 2 na koji utječu blokatori angiotenzinskih receptora) te da se događa prije samog sniženja tlaka tim lijekovima. Povećanje koncentracije slobodnih radikala moglo bi biti uzrok smanjenja koncentracije adiponektina, jer se otprije zna da vodikov peroksid inhibira ekspresiju adiponektina (215). Mehanizam kojim se to događa je gotovo sigurno posttranslacijski, jer se koncentracija glasničke RNK za adiponektin ne mijenja (216). Postoje naznake da bi poveznica adiponektina i angiotenzina II mogao biti PPARγ. Razlog za te naznake jest povećanje aktivnosti PPARγ nakon davanja blokatora receptora za angiotenzin II telmisartana, a druga istraživanja su pokazala da još jedan blokator receptora za angiotenzin II, irbesartan, povećava koncentraciju adiponektina te da je taj učinak spriječen ako se da selektivni antagonist PPARγ (217,218). Ovi dokazi razjašnjavaju ovaj krak mehanizma djelovanja adiponektina, ali i impliciraju da su blokatori receptora za angiotenzin II još potentniji nego se prije mislilo i da bi uz antihipertenzivne i inzulin-senzitizirajuće učinke neovisno pridonijeli i povećanju koncentracije adiponektina.

Simpatički živčani sustav skup je neurona koji reguliraju plejadu tjelesnih funkcija i zadužen je za odgovor organizma u situacijama stresa (219). U različitim patološkim stanjima kao što su pretilost i metabolički sindrom dolazi do pretjerane aktivnosti, tj. prelijevanja aktivnosti simpatikusa (220). U tim slučajevima pojačani rad simpatikusa povećava srčanu frekvenciju i ukupni periferni otpor te nastaje hipertenzija. Otkriveno je da je u mišjem modelu stimulacije hladnoće, čiji uvjeti simuliraju i potiču simpatikus, smanjena transkripcija i lučenje adiponektina, ali i da je taj proces reverzibilan te da davanje inhibitora norepinefrina smanjuje tu supresiju (221). Također, u 3T3-L1 adipocita davanje agonista β3 receptora (receptora prisutnog u masnom tkivu) smanjuje sintezu glasničke RNK za adiponektin, a taj učinak izostaje ako se prije daju blokatori tog receptora (222). Slično kao i za leptin, nađena je i centralna regulacija simpatičkog živčanog sustava adiponektinom (223). Davanjem adiponektina štakorima intravenski zapaženo je o dozi ovisno smanjenje arterijskog tlaka i simpatičke aktivnosti, a sličan učinak postignut je davanjem adiponektina intraventrikularno u deset puta manjim dozama (223). Ove studije čvrsto govore u prilog povezanosti adiponektina i simpatičkog živčanog sustava koje je i centralno i periferno.

Kako bismo proučili mehanizam djelovanja adiponektina, koristili smo model u kojemu smo promatrali povezanost adiponektina s kliničkim korelatima nekih tjelesnih funkcija (**Slika 2.12.**). Kao klinički korelat simpatičke aktivnosti koja je povezana koristili smo srčanu frekvenciju kako je to opisano u nekim ranijim studijama (224,225). Zbog postojanja povezanosti upale i adiponektina, kao i upale i hipertenzije koristili smo C-reaktivni protein i leukocite kao biljege upale (226–228). Treće, zbog sve više dokaza kako su

adipokini povezani i s krutosti arterija, ali i otprije poznate veze krutosti arterija i hipertenzije koristili smo tlak pulsa kao biljeg krutosti (229–231).



Slika 2.12. Prikaz predloženog mehanizma utjecaja na arterijski tlak i razvoj hipertenzije ispitanog u ovom radu: 1. medijacija u patofiziologiji upale, 2. djelovanje na simpatički živčani sustav, 3. povećanje krutosti arterija.

2.3.6.2. Adiponektin i hipertenzija

Povezanost pretilosti i hipertenzije dala je povoda za daljnja istraživanja o utjecaju pojedinih adipokina na arterijski tlak. Veliki broj kliničkih studija analizirao je odnos između plazmatske koncentracije adiponektina i hipertenzije. U nastavku je dat pregled najvažnijih studija.

U 2003. godini Adamczak i sur. su dokazali po prvi puta da je plazmatska koncentracija adiponektina značajno snižena u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom u usporedbi s normotoničarima sličnog indeksa tjelesne mase (232). Iwashima i sur. su pokazali kako je hipoadiponektinemija čimbenik rizika za hipertenziju neovisno o inzulinskoj rezistenciji i šećernoj bolesti (233). Druga istraživanja uočila su kako postoji inverzna korelacija između koncentracije adiponektina u plazmi i sistoličkoga, odnosno dijastoličkoga tlaka, kao i to da postoji inverzna korelacija između plazmatske koncentracije adiponektina i rizika za budući razvoj hipertenzije u prospektivnoj petogodišnjoj studiji (234).

No, čini se kako međuovisnost koncentracije adiponektina i razina sistoličkoga i dijastoličkog arterijskoga tlaka nije jednoznačna i jednostavna. Suprotno ovim saznanjima o utjecaju adiponektinemije na hipertenziju, Murakami i sur. su istraživali vrijednosti plazmatske koncentracije adiponektina u tri subpopulacije Japanaca iz ruralnih krajeva gdje su pokazali kako ne postoji značajna razlika u adiponektinemiji između normotenzivnih osoba i bolesnika s esencijalnom hipertenzijom bez inzulinske rezistencije, nego samo u onih s esencijalnom hipertenzijom i inzulinskom rezistencijom (235). Također je jasno utvrđeno

kako ne postoji korelacija razine adiponektina u krvi i sistoličkoga, odnosno dijastoličkoga tlaka u istraživanju koje je obuhvatilo preko 1300 djece u dobi od 9 do 16 godina (236). U drugom istraživanju u koje je bilo uključeno 196 djece u dobi od 12 do 18 godina nije utvrđena korelacija niti s inzulinskom rezistencijom niti s arterijskim tlakom (237). Istraživanje provedeno u Kini na preko 2000 odraslih osoba utvrdilo je inverznu povezanost adiponektina s dijastoličkim, ali ne i sistoličkim arterijskim tlakom (238). Kao antiteza kineskom prospektivnom istraživanju koje je utvrdilo pozitivnu ulogu adiponektina u predviđanju razvoja hipertenzije kroz pet godina nameće se dansko istraživanje Copenhagen City Heart Study koji takvu pozitivnu prediktivnu ulogu adiponektina nije našlo, ali ju je utvrdilo za leptin (234,239). U British Women's Heart and Health Study, istraživanju na skupini od 500 starijih žena, nije utvrđena korelacija između adiponektina i sistoličkoga, ali niti dijastoličkog arterijskoga tlaka. Ono što je naročito zanimljivo jest da takva korelacija nije postojala niti kada se promatrao samo HMW multimer koji se danas smatra biološki najaktivnijim multimerom adiponektina (240). Zanimljiva je i studija Imatoha i sur. koja je bila među prvim prospektivnim studijama o povezanosti adiponektina i hipertenzije (241). U toj studiji postojao je trend smanjivanja sistoličkog i dijastoličkog tlaka među kvartilima koncentracije adiponektina, a logističkom regresijom je nakon prilagođavanja za glavne čimbenike rizika pokazao da osobe s najnižom koncentracijom adiponektina imaju 3 do 4 puta veći rizik za razvoj hipertenzije.

Vjerojatno najvažnija studija na ovu temu je metaanaliza Kima i sur. koja je uključila 48 studija (5 prospektivnih) s ukupno 17 598 ispitanika (8220 hipertoničara) (7). Sumarni zaključak metaanalize bio je da hipertoničari imaju nižu koncentraciju adiponektina od normotoničara. Također, svako povećanje adiponektina za 1 mg/L povisilo je šanse za hipertenziju za 6%. Godinu dana nakon objave te studije mi smo objavili rezultate u kojima nismo našli razliku u koncentraciji adiponektina između normotoničara i hipertoničara nakon uključivanja samo osoba s normalnom bubrežnom funkcijom (10). Kada se uzme u obzir heterogenost studija uključenih u metaanalizu i činjenica da preko četvrtine studija nije pronašlo povezanost adiponektina i hipertenzije postavlja se pitanje je li ta povezanost ista u svim populacijama i stadijima hipertenzije pa i cijelog kardiometaboličkog kontinuuma. Zbog očito velike biološke važnosti koja se između ostaloga naslućuje i velikom koncentracijom u plazmi, te povezanosti s arterijskim tlakom, ali i kontroverzama, pa i oprečnim podacima iz literature temeljenim na brojnim studijama provedenim na različitim populacijama bit će važno detaljnije ispitati ovu vezu.

3. MATERIJALI I I METODE

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Ispitanici

Ispitanici koji su sudjelovali u ovom istraživanju dio su skupine od 2487 ispitanika iz kontinentalnog ruralnog dijela Hrvatske koji su bili uključeni u epidemiološko istraživanje u sklopu projekta „Endemska nefropatija u Hrvatskoj – epidemiologija, etiologija i patofiziologija“, voditelja prof.dr.sc. Bojana Jelakovića. Cilj studije bio je obuhvatiti stanovništvo sela u kojima se pojavljuje endemska nefropatija (bubrežna bolest specifična za neke dijelove Posavine, ali i druga žarišta u Europi) i okolnih sela čije bi stanovništvo služilo kao kontrolna skupina, a strategija “door-to-door” (engl. za “od vrata do vrata”) prikupljanje epidemioloških podataka i uzoraka krvi i urina za daljnju laboratorijsku analizu. Prikupljeni tijekom tri perlustracije (2005., 2008. i 2010. godine) podaci pokrivaju 60 do 75% populacije tog područja (ovisno o selu).

U ovo presječno istraživanje uključen je slučajan uzorak 192 odrasle osobe (124 žene i 68 muškaraca) koji zadovoljavaju kriterije. Kriteriji uključenja bili su: 1. dob viša od 18 godina i 2. da nisu bili liječeni zbog arterijske hipertenzije, šećerne bolesti tipa 2, drugih kardioloških poremećaja ili bolesti i da nisu uzimali drugu kroničnu terapiju. Kriteriji isključenja bili su: 1. liječena arterijska hipertenzija ili šećerna bolest, 2. preboljeli moždani udar ili infarkt miokarda, 3. srčano zatajenje, 4. kronična bubrežna bolest, 5. trudnoća, 6. terminalna bolest, teški invaliditet, jedan ili više amputiranih udova, nepokretnost te 7. demencija ili psihička bolest. Zbog utjecaja bubrežnog oštećenja na vrijednosti adiponektina isključene su sve osobe s procijenjenom glomerularnom filtracijom manjom od 60 mL/min/1.73 m^2. Također, isključeni su svi ispitanici klasificirani kao “oboljeli od endemske nefropatije”, “pod sumnjom na endemsku nefropatiju” ili “pod rizikom za endemsku nefropatiju”.

Istraživanje su odobrila etičkih povjerenstava Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo. Prije uključivanja u istraživanje svi ispitanici bili su upoznati s ciljevima istraživanja i svaki ispitanik je potpisao informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju.

3.2. METODE

3.2.1. Antropometrijski i klinički podaci

Tjelesna visina ispitanicima je izmjerena u stojećem položaju bez obuće, a tjelesna masa bez teških odjevnih predmeta. Indeks tjelesne mase (ITM) izračunat je kao masa ispitanika u kilogramima, podijeljena s kvadratom visine u metrima. Ispitanici su po ITM podijeljeni po dva kriterija: 1. u kategorije: <21, 21-25 i >25 kg/m^2 i 2. prema odsječnoj vrijednosti za

pretilost (>30 kg/m^2). Opseg struka mjeren je mjernom vrpcom u tri navrata pri čemu je za daljnje analize primjenjena aritmetička sredina tih mjerenja. Kao mjerilo centralne (visceralne) pretilosti uzet je opseg struka veći od 102 cm za muškarce i veći od 88 cm za žene.

Podaci o dosadašnjim bolestima i terapiji prikupljeni su standardiziranim epidemiološkim upitnikom i pregledom medicinske dokumentacije liječnika obiteljske medicine.

Arterijski tlak mjeren je tijekom dviju posjeta, a svaki put je mjeren po tri puta na desnoj ruci u sjedećem položaju nakon barem 5 minuta odmora, što je sukladno preporukama ESH/ECS pomoću digitalnog tlakomjera *Omron M-6* koji mjeri arterijski tlak i srčanu frekvenciju (14). Ovisno o potrebi, tj. obujmu nadlaktice korištene su dvije vrste orukvica, standardna i velika. Za ovo istraživanje koristili smo srednju vrijednost drugih dvaju mjerenja. Kao kriterij za hipertenziju korištene su vrijednosti arterijskoga tlaka ≥ 140/90 mm Hg (14).

3.2.2. Laboratorijski podaci

Svi uzorci krvi i urina su nakon uzorkovanja bili centrifugirani i pohranjeni na +4°C. Analiza svih uzoraka je obavljena u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Za određivanje kreatinina u serumu korišten je uređaj *Olympus AU 2700,* kontinuiranom fotometrijskom metodom s alkalnim pikratom (*Olympus*, Tokyo, Japan). Albumin u urinu određen je s uređajem *Siemens Dade Behring BN II Nephelometer* (*Siemens*, SR Njemačka).

Glomerularna filtracija je izračunata tzv. skraćenom MDRD formulom: eGFR = 32 788 x [kreatinin u serumu]$^{-1,154}$ x dob$^{-0,203}$ (x 0,742 za žene). Kao pokazatelj inzulinske rezistencije korišten je indeks HOMA koji se računa prema formuli: HOMA-IR = [Inzulin (µIU/mL)] x [Glukoza] (mmol/L) / 22,5. Kriterij inzulinske rezistencije bio je HOMA-IR veći od 2,5.

Koncentracija adiponektina i leptina određene su enzimimunokemijskom metodom (*Behring Gmbh*, Njemačka). C-reaktivni protein (CRP) određen je imunoturbidimetrijskom metodom na česticama lateksa, koncentracije inzulina imunokemijskom detekcijom uz pomoć elektrokemiluminiscencije, a koncentracije glukoze mjerene su na tašte i određene su fotometrijom s heksokinazom ili glukoza oksidazom (*Olympus System Reagent Kit* na *Olympus AU2700,* Tokyo, Japan). Lipoprotein velike gustoće (HDL) određen je homogenom enzimimunoinhibicijskom metodom, lipoprotein male gustoće (LDL) računskom metodom prema Friedwaldu koristeći jednadžbu c(LDL-kolesterol) = c(ukupni kolesterol) – [c(trigliceridi)/2,2] – c(HDL-kolesterol), a koncentracije triacilglicerola (triglicerida) i

kolesterola fotometrijskom metodom s glicerofosfat-oksidazom (GPO-PAP), odnosno kolesterol-oksidazom (sve na *Olympus AU2700*, Tokyo, Japan).

3.2.3. Genotipizacija polimorfizama jednoga nukleotida C-11377G i G-11391A gena *ADIPOQ*

Za izdvajanje DNK korištena je puna krv s antikoagulansom (EDTA) (epruveta za 9 mL svježe krvi). Izdvajanje genomske DNK provedeno je prema metodi Millera i sur. (242). Metoda se temelji na izdvajanju limfocita iz uzoraka periferne krvi, lizi stanica te enzimskoj i kemijskoj ekstrakciji sa svrhom uklanjanja staničnih proteina, RNK i drugih makromolekula, nakon čega slijedi taloženje DNK u apsolutnom etanolu. Genotipizacija se provodi umnažanjem DNK fragmenata od interesa lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu (engl. *real-time PCR*), te njezinom detekcijom po principu prijenosa energije fluorescentnom rezonancijom (FRET) (engl. *fluorescence resonance energy transfer*). PCR reakcija izodi se u LightCycler kapilarama u ukupnom volumenu od 20 µL. Reakcijska smjesa sadrži: 1) Master miks koji sadrži LightCycler Fast-Start enzim, 10x konc. i LightCycler Fast-Start reakcijsku smjesu 10x konc.; 2) $MgCl_2$ (Roche®); 3) sterilnu destiliranu vodu; 4) početnice: uzvodna 5'- ACT TGC CCT GCC TCT GTC TG -3' (*ADIPOQ* F, engl. *forward*); nizvodna 5'- GCC TGG AGA ACT GGA AGC TG -3' (*ADIPOQ* R, engl *reverse*); 5) hibridizacijske probe: A) za polimorfizam -11377 G>C: ADIPOQ-FL 5'- GCA GGA TCT GAG CCG GTT CT –FL-3' (FL: fluorescein); ADIPOQ-LC 5'-LC Red640- GCA AGC CAC ACA TTC TGA TGA ATT AAA TTA CGA CCC –PH-3' (LC: LightCycler Red 640; PH: -3'- fosfat); B) za polimorfizam -11391G>A: ADIPOQ-FL 5'- CTC AGA TCC TGC CCT TCA AAA AC –FL (FL: fluorescein); ADIPOQ-LC 5'-LC Red640- ACA TGA GCG TGC CAA GAA AGT CCA AGG TGT TG –PH-3' (LC: LightCycler Red 640; PH: -3'- fosfat). Sastojci su prikazani u **Tablici 3.1.**

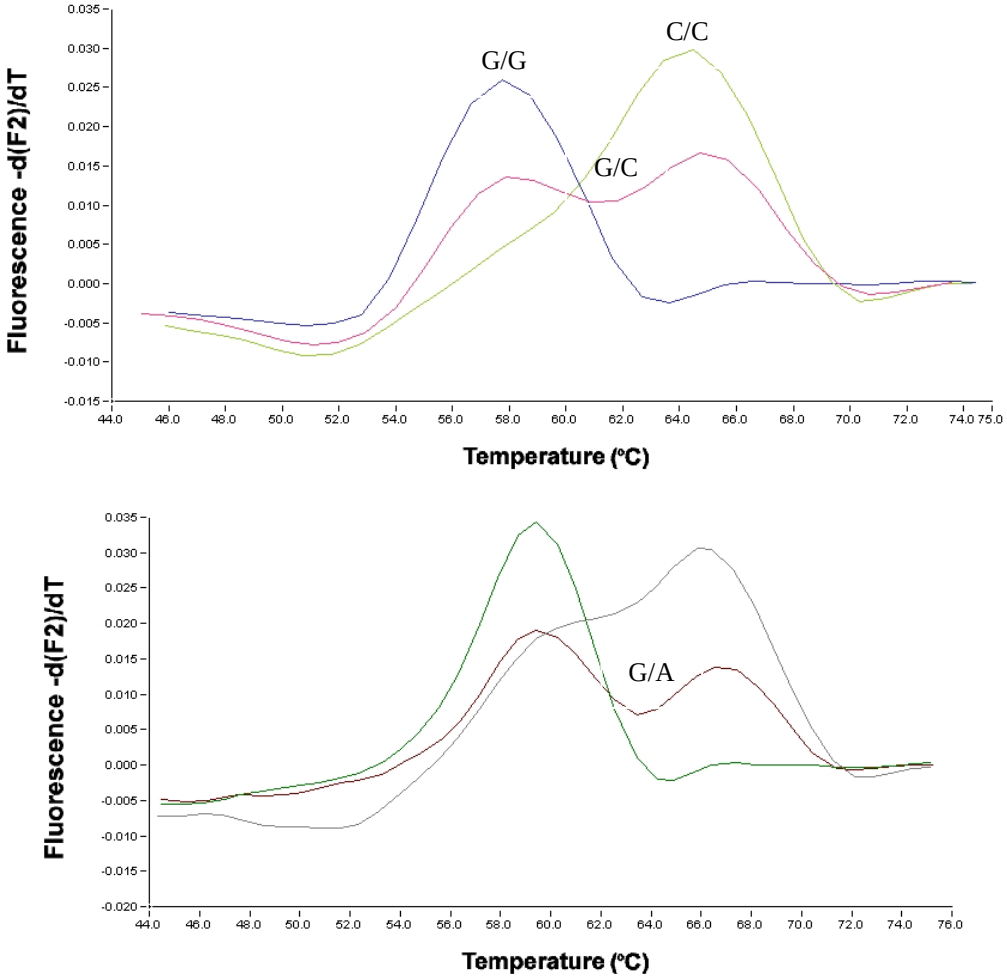
Tablica 3.1. Sastojci reakcijske smjese PCR.

LC-kapilara	Volumen (µL)	Koncentracija u reakcijskoj smjesi
Sterilna destilirana voda	11,2	
$MgCl_2$ (25 mM)	3,0	3,75 mM
Master miks	2,0	
ADIPOQ1/10*-LC (2 µM)	0,4	0,04 µM
ADIPOQ1/10*-FL (2 µM)	0,4	0,04 µM
ACR1 F (5 µM)	0,5	0,125 µM
ACR1 R (5 µM)	0,5	0,125 µM
DNK	2,0	100 ng

* Za SNP 11377C>G korišten je ADIPOQ1, a za SNP 11971G>A ADIPOQ10

PCR je učinjen pod sljedećim uvjetima: 1) denaturacija - 1 ciklus, 60 sec, 95°C; 2) amplifikacija - 25 ciklusa; 1 sekundi na 95°C, 14 sekundi na 58°C, 10 sekundi na 72°C; 3) analiza krivulje taljenja - 1 ciklus; 30 sekundi na 95°C, 30 sekundi na 40°C i 0 sekundi na 80°C ; 4) hlađenje - 1 ciklus, 30 sekundi na 40°C.

Na temelju temperature taljenja moguće je ciljano otkrivanje promjena u slijedu nukleotida u DNA, uključujući i promjene u samo jednom nukleotidu - SNP. Genotipizacija se provodi tako da rezultati analize u obliku krivulja temperature taljenja, u kompjutorskom programu preračunavaju u prve negativne derivacije promjene florescencije s temperaturom iz čijih se vršnih vrijednosti zatim analizira genotip analiziranog uzorka. (**Slika 3.1.**, **Tablica 3.2.**)



Slika 3.1. Krivulje taljenja: a) kod polimorfizma -11377C>G, b) kod polimorfizma -11391G>A. Temperature – temperatura u °C, Fluorescence – fluorescencija.

Tablica 3.2. Genotipizacija na temelju temperature taljenja (T_m)

Polimorfizam	Genotip	T_m	Polimorfizam	Genotip	T_m
-11377C>G	C/C	65°C	11391G>A	G/G	67°C
	C/G	59°C/65°C		G/A	60°C/67°C
	G/G	59°C		A/A	60°C

3.2.4. Statistička analiza

3.2.4.1. Kvantitativne analize

U statističkoj analizi korištene su deskriptivne i analitičke statističke metode. Prikazani su postoci za kategorijske varijable, srednja vrijednost i standardna devijacija i medijan i interkvartilni raspon (25. i 75. percentil). Pravilnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je D'Agostino-Pearsonovim testom, te su naknadno primjenjeni paramatrijski i neparametrijski statistički testovi. Razlike u razdiobi kategoričkih varijabli i proporcija između skupina testirane su $\chi 2$-testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Za testiranje razlika između dviju nezavisnih skupina primjenjen je Studentov t-test ili Mann-Whitney U-test. U usporedbi više od dvije skupine pravilno raspodjeljenih varijabli korištena je analiza varijance (ANOVA) i Turkey ili Hochberg test za post hoc analizu, a za usporedbu više od dvije skupine nepravilno raspodjeljenih varijabli Kruskal-Wallis test te post hoc Mann-Whitney U-test. Bonferronijeva korekcija korištena je pri korekciji za *family-wise error*. Primjenjene su multivarijatne metode analize, multipla linearna regresija i logistička regresija. Za analizu korelacije korišteni su Pearsonov test i Spearmanov test rang-korelacije.

U svim testovima p-vrijednost<0,05 (dvostrani test) predstavljala je razinu statističke značajnosti.

Statistička obrada podataka učinjena je u programu SPSS verzija 22 (IBM Inc., SAD).

Kako je ovo prvenstveno asocijacijska i korelacijska studija, veličina uzorka ovisila je o očekivanom koeficijentu korelacije arterijskog tlaka i adiponektina. Procjenu očekivane veličine koeficijenta korelacije učinili smo prema studijama iz metaanalize Kima i sur., kao i prema drugim studijama pretraživanjem PubMed-a. Studije u metaanalizi Kima i sur. dobile su koeficijent korelacije koncentracije adiponektina i sistoličkog ili srednjeg arterijskog tlaka od 0,017 (statistički neznačajno) do 0,479, a studije koje su dobile značajnu korelaciju imale su donju granicu 0,19 (7). Prema tim podacima, a i drugim studijama, korelacija adiponektina i arterijskog tlaka spadala bi u kategoriju skromne (0,1-0,3) ili umjerene (0,3-0,5) korelacije. Za konačnu procjenu broja ispitanika koristili smo koeficijent korelacije 0,3, statističku snagu od 0,8 i mogunost pogreške tipa I od 0,05. Tim izračunom, ukupan potreban broj ispitanika je 67. Koristeći nešto konzervativnije pristupe s r=0,25 i r=0,2 dobivamo potreban broj ispitanika od 97, odnosno 153 ispitanika.

3.2.4.2. Kvalitativne i kvantitativno-kvalitativne analize asocijacija

Hardy-Weinbergov princip tvrdi da će učestalosti genotipova i alela u populaciji ostati konstantne u susljednim generacijama ukoliko nije došlo do utjecaja evolucijskih čimbenika

(npr. selekcija, mutacija, drift). Hardy-Weinbergova ravnoteža računata je jednadžbom $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, gdje su p i q učestalosti alela pojedinog polimorfizma.

Neravnoteža povezanosti (engl. *linkage disequilibrium*, LD) je neslučajna povezanost alela dvaju ili više lokusa. Izražena je veličinama D', normaliziranim koeficijentom neravnoteže povezanosti, koji označava devijaciju dobivene od očekivane učestalosti haplotipa i r^2 koji je kvadrat Pearsonovog koeficijenta korelacije.

Procjena učestalosti haplotipova rađena je maximum-likelihood metodom EM algoritmom po Excoffieru i Slatkinu u programu Arlequin (243,244).

Analize asocijacije (povezanosti) genotipova i haplotipova s fenotipskim obilježjima kroz više modela učinjene su u programima SNPstats i Unphased 3.1.7. (za procjenu modifikatora).

3.2.5. Modeli korišteni u procjeni povezanosti fenotipskih obilježja s genotipima i alelima

U logističkoj regresiji korišteno je više modela kako bi se ispitale asocijacije pojedinih genotipova i alela s fenotipskim obilježjima (hipertenzija i inzulinska rezistencija) (245,246).

1. opći ili kodominatni model – ovo je standardni model u kojem su ispitanici podijeljeni u tri grupe po genotipovima – AA, AB, BB (B je minor alel).

2. dominantni model – u ovom modelu ispitanici su podijeljeni u dvije grupe: AA i AB+BB. Kao i recesivni model, ovaj model se koristi zbog povećane statističke snage (u slučajevima kada pretpostavljamo da je učinak dominantan, tj. recesivan, ako se radi o recesivnom modelu). Ovaj model pretpostalja kako je za promjenu u riziku od X puta potreban samo jedan recesivni alel.

3. recesivni model - u ovom modelu ispitanici su podijeljeni u dvije grupe: AA+AB i BB. Ovaj model pretpostavlja kako su za promjenu u riziku od X puta potrebna oba recesivna alela.

4. overdominantni ili superdominantni model – u ovom modelu ispitanici su podijeljeni u dvije grupe: AA+BB i AB. Model prvenstveno služi za ispitivanje moguće heterozigotne prednosti (engl. *heterozygote advantage*) kada se pretpostavlja da bi heterozigot mogao imati neka pozitivna svojstva koja nemaju homozigoti (npr. u srpastoj anemiji recesivni homozigoti imaju kraće očekivano vrijeme života, ali i zaštitu od malarije zbog defektnih eritrocita, dok dominantni homozigoti imaju normalno očekivano vrijeme života, ali nemaju prednost zaštite od malarije. Heterozigoti, pak, imaju normalan životni vijek i djelomičnu zaštitu od malarije).

5. log-aditivni model – ovaj model implicira da je rizik heterozigota X, a recesivnog homozigota 2X puta drukčiji (veći ili manji) od dominantnog homozigota na logaritamskoj skali.

3.2.6. Međupopulacijska usporedba

Ispitivanje varijacija među različitim populacijama učinjeno je u program Arlequin Fst i exact-testovima za populacijsku diferencijaciju na način da su za svaki pojedini lokus učinjene tablice kontingencije svih mogućih populacijskih parova i dana je procjena vjerojatnosti odbacivanja H_0 (tj. hipoteze da nema varijacije u alelima). Izrađen je dendrogram Fst vrijednosti koji prikazuje metriku udaljenosti izraženu Euklidskim udaljenostima među populacijama.

Gradijenti i prostorna raspodjela učestalosti alela u različitim geografskim regijama testirane su Mantelovim testom koji ispituje značajnost korelacije matrica geografskih (izraženo u kilometrima) i genetičkih udaljenosti (izraženih u Fst vrijednostima) (247). Mantelov test učinjen je u programu Isolation By Distance 3.23 (248). Geografska raspodjela prikazana je pomoću programa Surfer 11 (Golden Software Inc., SAD).

4. REZULTATI

Kako bismo jasnije ispitali hipotezu, odgovorili na istraživačko pitanje i ispunili ciljeve rada podijelili smo poglavlje u više logički povezanih cjelina. Ovo poglavlje započinje rezultatima genotipizacije u našoj populaciji, zatim slijedi analiza učestalosti genotipova i alela istraživanih polimorfizama u podacima dobivenim iz literature i usporedba tih rezultata s našima, nakon toga predstavljene su osnovne antropometrijske, kliničke i laboratorijske karakteristike svih ispitanika, a zatim i nakon podjele po određenim karakteristikama (spol, visina arterijskog tlaka, ITM, opseg struka itd.). Nakon tih rezultata slijedi poglavlje u kojem predstavljamo rezultate povezanosti polimorfizama s arterijskim tlakom i hipertenzijom koje prati poglavlje o povezanosti samog proteina adiponektina s arterijskim tlakom i hipertenzijom. U konačnici, u posljednjem poglavlju predstavljeni su rezultati o povezanosti polimorfizama s inzulinskom rezistencijom.

4.1. Genotipizacija polimorfizama

Od ukupno 192 ispitanika, uspješnost genotipizacije bila je 97,9% (N=188) za polimorfizam -11377 C>G i 96,9% (N=186) za polimorfizam -11391 G>A. Ukupno je 96,9% (N=186) ispitanika imalo uspješno genotipizirana oba polimorfizma te su za njih mogle biti učinjene analize haplotipova. Sedam ispitanika (3,6%) imalo je uspješno genotipiziran barem jedan polimorfizam, ali nije imalo uspješno određenu koncentraciju adiponektina, a četiri ispitanika (2,1%) imalo je određenu koncentraciju adiponektina, ali nije imalo određene genotipove. Ti ispitanici uključeni su u separatne i univarijatne analize, ali su sve multivarijatne analize koje su uključivale genotipove i koncentraciju adiponektina, uključujući testove genetičkih asocijacija, učinjeni samo na ispitanicima koji su imali i koncentraciju adiponektina i genotip za barem jedan polimorfizam (N=181; 94,3%).

Kada se gleda samo polimorfizam -11377 C>G, 93 (49,5%) ispitanika imalo je genotip C/C, 77 (41,0%) bili su heterozigoti, a 18 (9,5%) homozigoti G/G; učestalost minor alela G bila je 29,3%. Ukupno je 164 (88,2%) ispitanika imalo genotip G/G polimorfizma -11391 G>A, dok su 22 (11,8%) ispitanika bili heterozigoti. Nije bilo recesivnih homozigota te je učestalost minor alela A bila 11,8%. Od ukupno 186 ispitanika kojima su mogli biti analizirani haplotipovi, 119 (64,0%) je imalo haplotip C-G, 56 (30,1%) G-G i 11 (5,9%) C-A.

4.2. Međupopulacijska usporedba učestalosti genotipova i alela istraživanih polimorfizama

Kako bismo dobili uvid u učestalosti genotipova i alela istraživanih polimorfizama u različitim populacijama i usporedili ih s našim podacima napravili smo pregled literature. Nakon pretrage dostupno nam je bilo 76 radova za polimorfizam -11377 C>G i 42 rada za polimorfizam -11391 G>A. Velik broj radova bili su asocijacijske studije u kojima se proučavala pojedina bolest ili kompleksno svojstvo te su, kako bi se izbjegao otklon zbog neodgovarajućeg odabira (engl. *selection bias*), u daljnju obradu uzete samo kontrolne skupine zdravih ispitanika. Naknadnim čitanjem neke reference su isključene (nisu istraživale navedene polimorfizme, bile su metaanalize ili pregledni radovi, nisu davale podatke o učestalosti genotipova i/ili alela i sl.), a dostupni podaci agregirani su po državama, s izuzetkom Indije za koju su zbog njene veličine i kompleksne populacijske strukture izdvojene dvije populacije: miješana (pretežito ruralna) i urbana. Također, ispitanici iz ove studije agregirani su s onima iz rada Karmelić i sur. (249).

Ukupno je za polimorfizam -11377 C>G izdvojeno 20 populacija (25 583 ispitanika), a za polimorfizam -11391 G>A 13 populacija (18 543 ispitanika) (**Tablice 4.1.** i **4.4.**). Za svaku populaciju prikazane su učestalosti genotipova i minor alela. U tablicama su prikazane i genetičke udaljenosti populacija izražene kao fiksacijski indeksi (Fst vrijednosti) koji su mjerilo populacijske diferencijacije proizašle iz genetičke strukture; ti odnosi prikazani su u dendrogramima (**Tablice 4.2.** i **4.5.**, **Slike 4.2.** i **4.5.**) Također je za parove populacija učinjen i Mantelov test koji utvrđuje postoji li značajna korelacija između prostorne udaljenosti (matrica geografskih udaljenosti) i genetičke udaljenosti (matrica Fst vrijednosti), tj. ovsi li genetička varijabilnost o prostornoj raspodjeli populacija (**Tablica 4.3.**). U Mantelovom testu korištena su četiri modela: 1. geografska udaljenost – genetička udaljenost, 2. log(geografska udaljenost) - genetička udaljenost, 3. geografska udaljenost - log(genetička udaljenost) i 4. log(geografska udaljenost) - log(genetička udaljenost). U konačnici, geografska raspodjela učestalosti minor alela (manje učestalog alela) prikazana je na kartama svijeta (**Slike 4.1.** i **4.4.**)

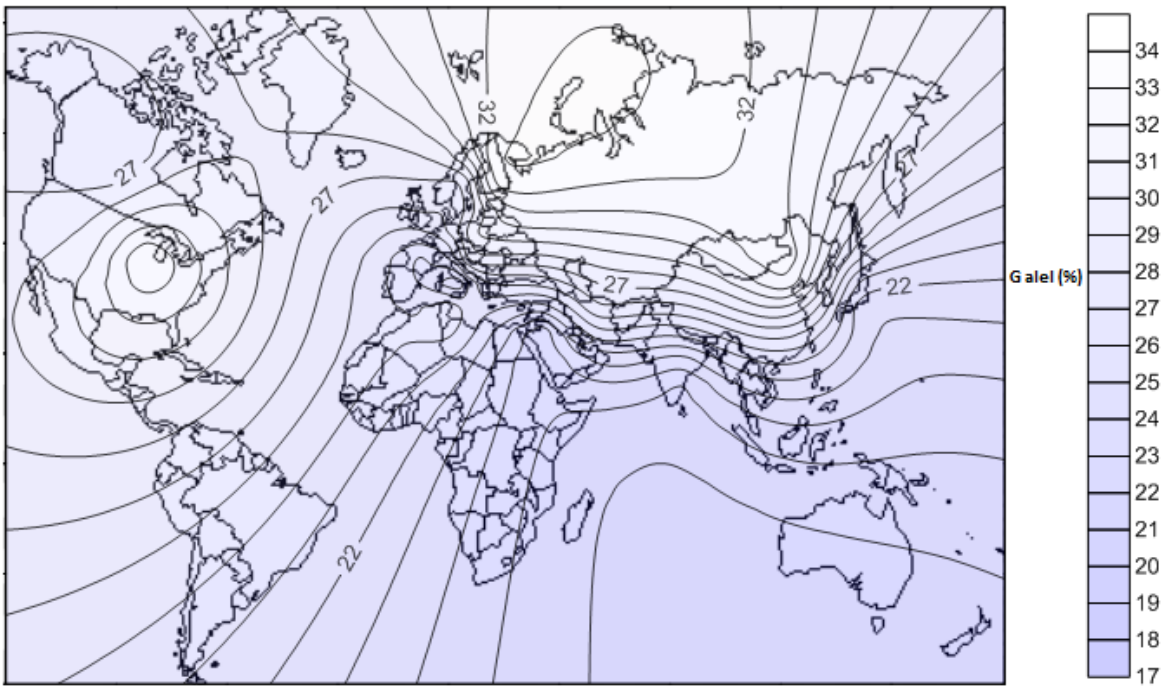
U **Tablici 4.1.** prikazani su podaci o broju ispitanika i učestalosti minor alela polimorfizma -11377 C>G agregirani po državama. Učestalost minor alela G bila je najmanja u Talijana (20,28%), a najveća u Finaca (33,14%), što govori u prilog gradijenta sjever-jug koji nakon daljnjeg testiranja ipak nije bio značajan. Također, nije bilo značajne razlike u učestalosti minor alela između europske i populacija ostalih kontinenata. Medijan europskih

populacija bio je 26,02% što je vrlo blizu hrvatskoj populaciji iz studije Karmelić i sur. (26,50%), a nešto manje od populacije ove studije (30,00%) Prikazana je geografska raspodjela učestalosti alela na konturnoj karti svijeta (**Slika 4.1.).** U **Tablici 4.2.** prikazane su Fst vrijednosti za ovaj polimorfizam, a dodatno su grafički prikazane na dendrogramu na **Slici 4.2.**. Mantelovim testom nije nađena značajna korelacija genetičke i geografske raspodjele genotipova ovog polimorfizma, a koeficijenti korelacija kretali su se od -0.0189 do -0.0069 ovisno o modelu (**Tablica 4.3.** i **Slika 4.3.**).

U **Tablici 4.4.** prikazani su podaci o populacijama i učestalosti minor alela polimorfizma -11391 G>A. Minor alel A bio je najmanje učestalo zastupljen u sub-saharskoj afričkoj populaciji Južnoafričke Republike (2,66%), a najviše u Indijaca (37,20%). Populacija uključena u ovu studiju imala je učestalost minor alela od 5,26% i bila je bliža medijanu učestalosti europskih populacija (8,08%) nego populacija Hrvatske iz studije Karmelić i sur. (17,40%). Na **Slici 4.4.** prikazana je geografska raspodjela na karti svijeta. Hrvatska populacija opet se je najmanje razlikovala od europskih populacija, ali su vrijednosti gentičkih udaljenosti bile, kao i u slučaju prvog polimorfizma, niske što ukazuje na homogenu distribuciju alela općenito (**Tablica 4.5.** i **Slika 4.5.**). Mantelovim testom nije nađena značajna korelacija u genetičke i geografske raspodjele genotipova ovog polimorfizma, iako su koeficijenti korelacija u modelima 3 i 4 bili viši od prva dva modela (**Tablica 4.3.** i **Slika 4.6.**).

Tablica 4.1. Učestalost genotipova i minor alela polimorfizma -11377 C>G u 21 populaciji uključenoj u međupopulacijsku usporedbu. U daljnjim analizama dvije hrvatske populacije su agregirane.

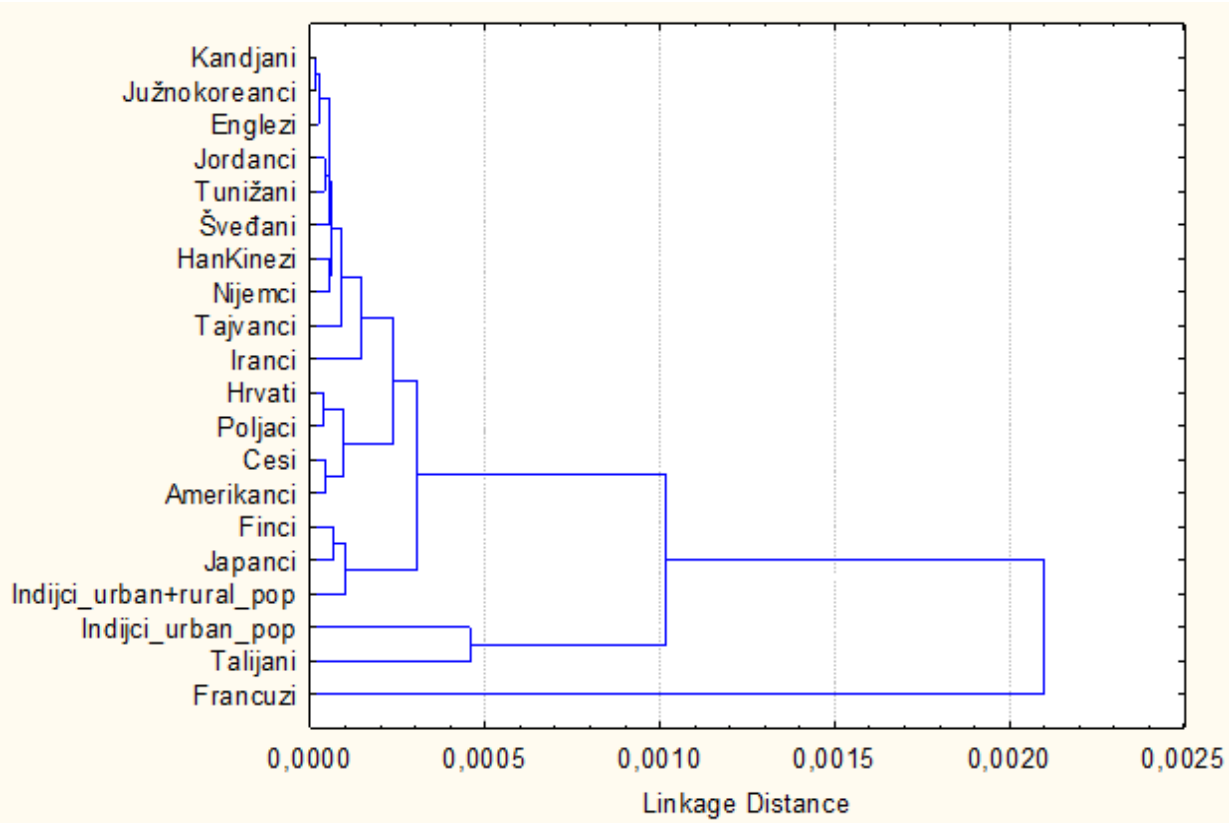
Populacija	N	CC (%)	CG (%)	GG (%)	G (%)
Kanađani (miješ. podrijetla)	1157	53,67	40,80	5,53	25,93
Han Kinezi	3475	52,52	38,25	9,23	27,14
Hrvati (Karmelić i sur.)	86	50,60	46,70	2,70	26,50
Hrvati (ova studija)	115	49,57	40,87	9,57	30,00
Česi	752	52,00	39,00	9,00	28,50
Finci	507	43,20	47,34	9,46	33,14
Francuzi	837	58,90	36,20	4,90	23,00
Nijemci	2896	55,55	37,36	7,10	25,77
Indijci (urbana)	250	62,40	36,80	0,80	19,20
Indijci (urbana + ruralna)	1053	59,00	34,40	6,60	22,80
Iranci	93	52,70	44,10	3,20	25,30
Talijani	503	63,82	31,81	4,37	20,28
Japanci	2288	58,27	36,36	5,36	23,54
Jordan (Arapi)	519	63,97	30,02	6,01	24,93
Poljaci	562	50,89	40,04	9,07	29,09
Južnokorejci	2758	55,40	37,42	7,18	25,89
Švođani	244	53,28	41,39	5,33	26,02
Tajvanci	110	58,20	36,40	5,40	23,60
Tunižani	748	56,02	37,30	6,68	25,33
Britanci	3059	54,39	38,85	6,76	26,18
Amerikanci	3571	54,75	39,03	6,22	28,75



Slika 4.1. Učestalost minor alela G polimorfizma -11377 C>G u svijetu. Učestalost minor alela prikazana je gradijentom boje na karti Svijeta i linijama jednake učestalosti.

Tablica 4.2. Fst vrijednosti za polimorfizam -11377 C>G. Značajne Fst vrijednosti ispisane su masnim slovima.

	Hrvati	Česi	Francuzi	Finci	Nijemci	Indijci (urb.)	Indijci (mij.)	Iranci	Talijani	Japanci	Jordanci	Poljaci	Južnokor.	Šveđani	Tajvanci
Hrvati	0,000														
Česi	-0,003	0,000													
Francuzi	0,001	0,004	0,000												
Finci	**0,007**	**0,006**	**0,024**	0,000											
Nijemci	-0,001	0,000	**0,009**	**0,003**	0,000										
Indijci (urb)	**0,023**	**0,019**	**0,044**	0,002	**0,012**	0,000									
Indijci (mij)	**0,008**	**0,007**	**0,026**	-0,001	**0,003**	0,001	0,000								
Iranci	-0,005	-0,004	0,006	-0,004	-0,005	0,006	-0,003	0,000							
Talijani	**0,019**	**0,016**	**0,039**	0,001	**0,010**	-0,003	0,000	0,003	0,000						
Japanci	0,006	**0,006**	**0,023**	-0,001	**0,002**	0,003	-0,001	-0,004	0,002	0,000					
Jordanci	0,002	0,002	**0,015**	-0,001	0,000	0,006	0,000	-0,006	0,004	-0,001	0,000				
Poljaci	-0,003	-0,001	0,002	**0,008**	0,000	**0,022**	**0,009**	-0,004	**0,018**	**0,007**	0,003	0,000			
Južnokorejci	0,000	0,001	**0,012**	0,001	0,000	**0,010**	**0,002**	-0,006	**0,007**	**0,001**	-0,001	0,001	0,000		
Šveđani	-0,001	-0,001	0,009	-0,001	-0,002	0,008	0,000	-0,007	0,006	-0,001	-0,003	0,000	-0,002	0,000	
Tajvanci	0,001	0,001	0,015	-0,005	-0,002	-0,001	-0,005	-0,009	-0,002	-0,005	-0,005	0,002	-0,003	-0,005	0,000

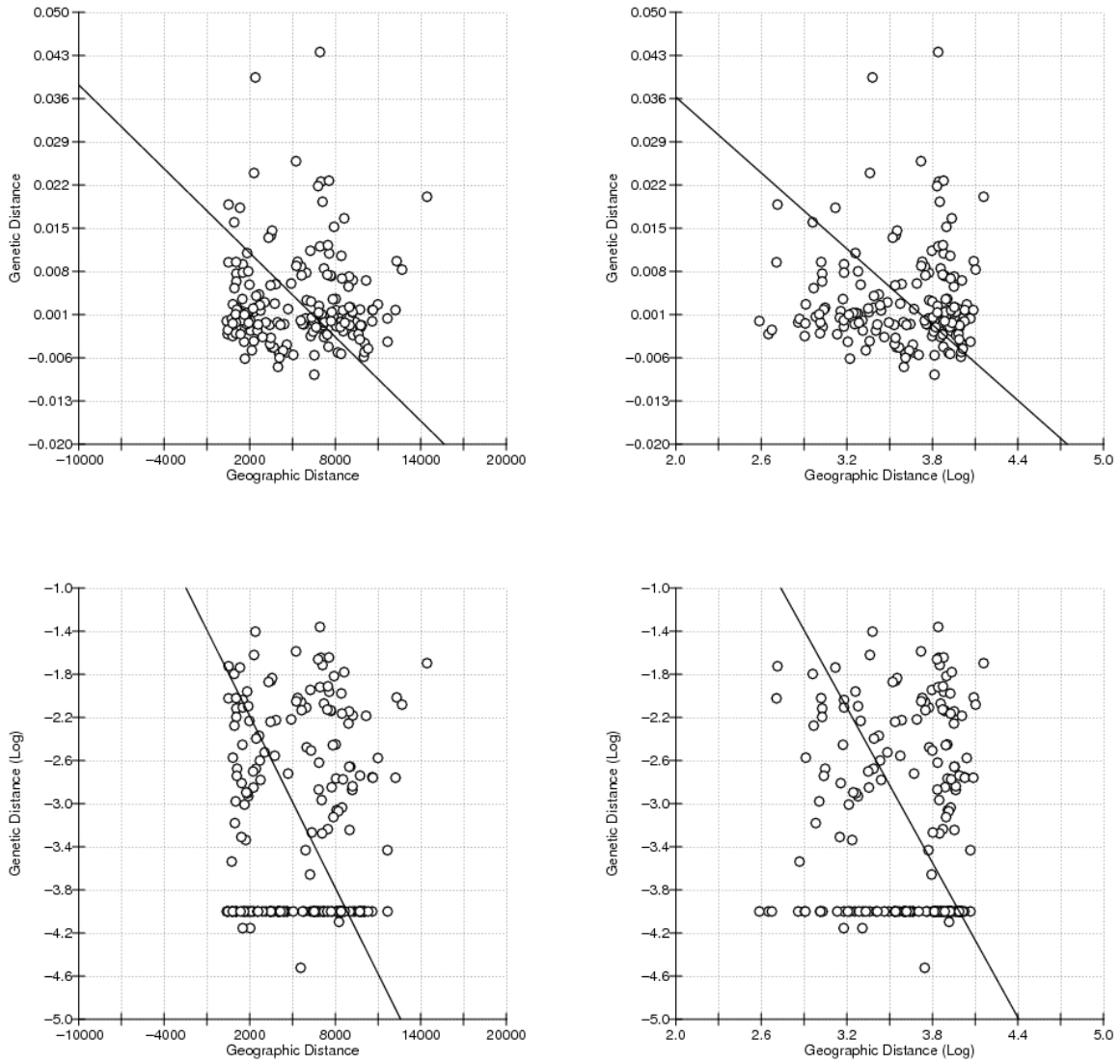


Slika 4.2. Grafički prikaz Fst vrijednosti. Prikazan je dendrogram Fst vrijednosti izračunatih iz genetičkih podataka za polimorfizam -11377 C>G.

Tablica 4.3. Rezultati Mantelovog testa korelacije između genetičke i geografske udaljenosti. Prikazani su rezultati za sva četiri modela.

Model	SNP -11377 C>G		SNP -11391 G>A	
	r	p	r	p
1 geo-gen	-0,0147	0,546	0,1369	0,286
2 log(geo)-gen	-0,0189	0,571	0,1566	0,269
3 geo-log(gen)	-0,0069	0,457	0,2230	0,150
4 log(geo)-log(gen)	-0,0129	0,512	0,2197	0,136

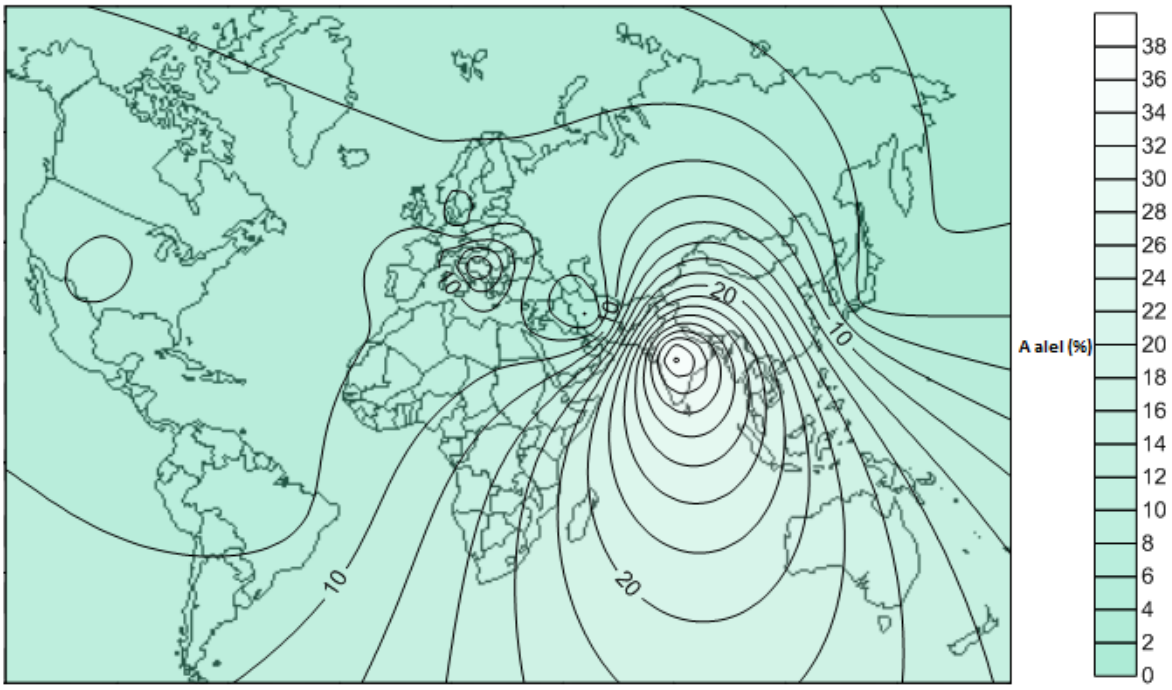
geo – geografska udaljenost (km), gen – genetička udaljenost (Fst).



Slika 4.3. Grafovi Mantelovog testa za polimorfizam -11377 C>G. Modeli su u smjeru kazaljke na satu: linearni, log geografska udaljenost – genetička udaljenost, geografska udaljenost-log genetička udaljenost i log geografska udaljenost-log genetička udaljenost.

Tablica 4.4. Učestalost genotipova i minor alela polimorfizma -11391 G>A u 16 populacija uključenih u međupopulacijsku usporedbu. U daljnjim analizama dvije hrvatske populacije su agregirane.

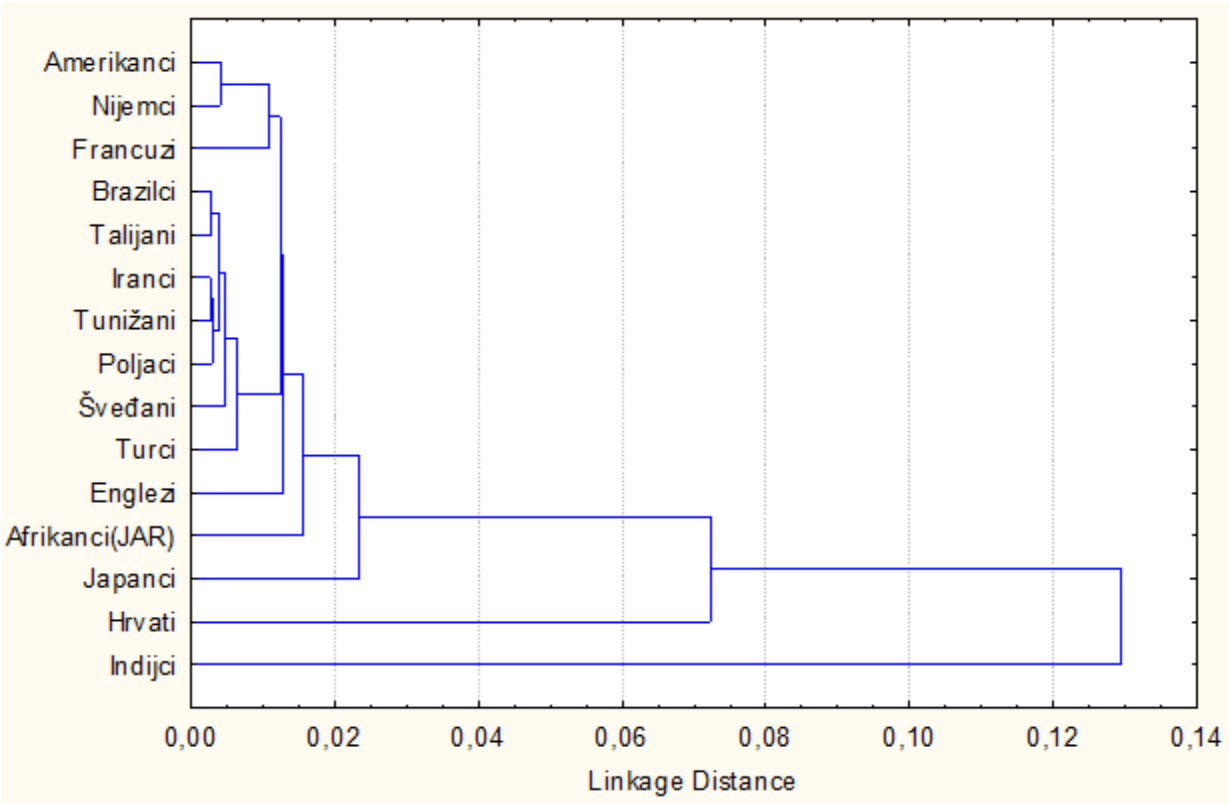
Populacija	N	GG (%)	GA (%)	AA (%)	A (%)
Amerikanci (bijelci)	1713	84,67	14,32	1,01	8,17
Brazilci	545	83,39	15,87	0,73	8,62
Englezi	3039	85,43	13,99	0,59	7,59
Francuzi (bijelci)	5191	82,35	16,68	0,97	9,28
Hrvati (Karmelić i sur.)	115	66,10	33,00	0,90	17,40
Hrvati (ova studija)	114	89,47	10,53	0,00	5,26
Indijci	1083	40,30	45,20	14,60	37,20
Iranci	99	92,93	7,07	0,00	3,54
Japanci	480	95,48	4,52	0,00	2,71
Nijemci	2887	82,40	16,84	0,75	9,18
Poljaci	563	84,55	14,74	0,71	8,08
Subsaharski crnci	226	94,69	5,31	0,00	2,66
Švođani	497	87,93	11,67	0,40	6,43
Talijani	1124	80,97	18,33	0,71	9,88
Tunižani (Arapi)	748	84,42	15,24	0,34	8,16
Turci	119	84,90	15,10	0,00	7,56



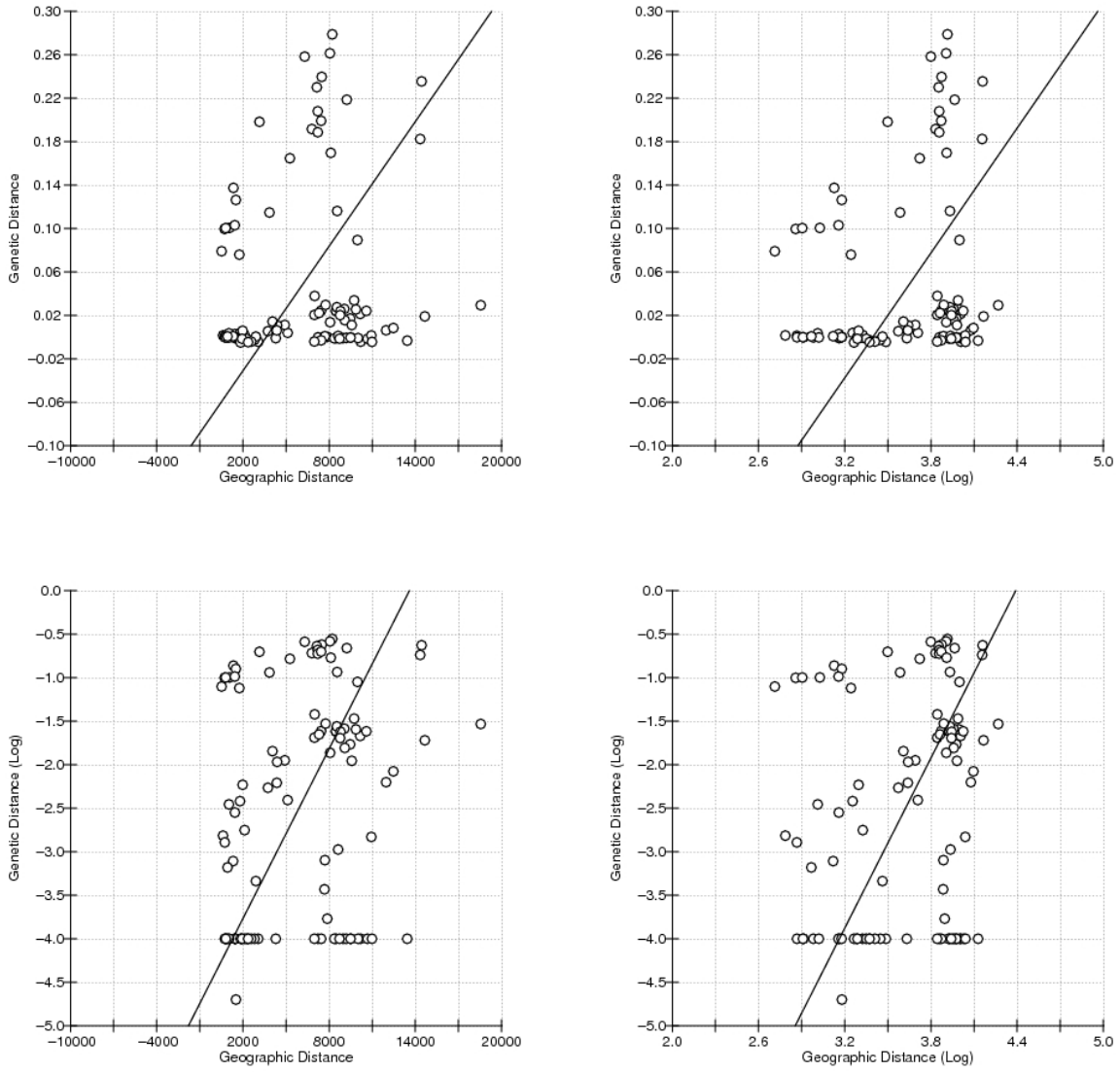
Slika 4.4 Učestalost minor alela A polimorfizma -11391 G>A u svijetu. Učestalost minor alela prikazana je gradijentom boje na karti Svijeta i linijama jednake učestalosti.

Tablica 4.5. Fst vrijednosti za polimorfizam -11391 G>A. Značajne Fst vrijednosti ispisane su masnim slovima.

	Amerikanci	Brazilci	Hrvati	Englezi	Francuzi	Indijci	Iranci	Japanci	Nijemci	Poljaci	Afrikanci (JAR)	Švođani	Talijani	Tunižani	Turci
Amerikanci	0,00000														
Brazilci	-0,00108	0,00000													
Hrvati	0,00398	0,00126	0,00000												
Englezi	-0,00023	-0,00035	**0,00732**	0,00000											
Francuzi	0,00037	-0,00075	0,00024	**0,00153**	0,00000										
Indijci	**0,23545**	**0,18241**	**0,13493**	**0,27879**	**0,26131**	0,00000									
Iranci	0,00629	0,00838	**0,02457**	0,00392	0,01122	**0,19821**	0,00000								
Japanci	**0,02137**	**0,02935**	**0,06611**	**0,01712**	**0,02545**	**0,25828**	-0,00300	0,00000							
Nijemci	0,00017	-0,00091	0,00044	**0,00128**	-0,00026	**0,23963**	0,01077	**0,02591**	0,00000						
Poljaci	-0,00116	-0,00155	0,00384	-0,00095	0,00002	**0,19158**	0,00543	**0,02435**	-0,00020	0,00000					
Afrikanci (JAR)	**0,01907**	**0,02434**	**0,05207**	**0,01558**	**0,02397**	**0,23004**	-0,00408	-0,00326	**0,02389**	**0,02022**	0,00000				
Švođani	0,00080	0,00148	**0,01314**	-0,00019	**0,00381**	**0,20796**	-0,00100	**0,01369**	**0,00350**	-0,00010	0,01108	0,00000			
Talijani	0,00106	-0,00045	-0,00143	**0,00282**	-0,00034	**0,18859**	0,01431	**0,03384**	-0,00033	0,00078	**0,02963**	**0,00587**	0,00000		
Tunižani	-0,00096	-0,00144	0,00344	-0,00062	0,00000	**0,19916**	0,00619	**0,02417**	-0,00020	-0,00154	0,02046	0,00046	0,00066	0,00000	
Turci	-0,00426	-0,00441	0,00154	-0,00438	-0,00254	**0,16467**	0,00177	**0,02753**	-0,00281	-0,00499	0,02226	-0,00421	-0,00159	-0,00466	0,00000



Slika 4.5. Grafički prikaz Fst vrijednosti. Prikazan je dendrogram Fst vrijednosti izračunatih iz genetičkih podataka za polimorfizam -11391 G>A.



Slika 4.6. Grafovi Mantelovog testa za polimorfizam -11391 G>A. Modeli su u smjeru kazaljke na satu: linearni, log geografska udaljenost – genetička udaljenost, geografska udaljenost-log genetička udaljenost i log geografska udaljenost-log genetička udaljenost.

4. 3. Opće antropometrijske, kliničke i laboratorijske značajke ispitanika

U istraživanje su bile uključene 192 osobe, od toga 124 žene i 68 muškaraca (**Slika 4.7.**). Osnovne antropometrijske i kliničke značajke prikazane su u **Tablici 4.6.**, a laboratorijske u **Tablici 4.7.** Medijan dobi ispitanika bio je 44 godine, 26% ispitanika imalo je ITM veći od 30 kg/m^2, prevalencija hipertenzije u cijeloj skupini je 38,0%, a inzulinske rezistencije 37,2%. Medijan koncentracije adiponektina u cijeloj skupini bio je 9,39 mg/L, a leptina 8,95 μg/L.

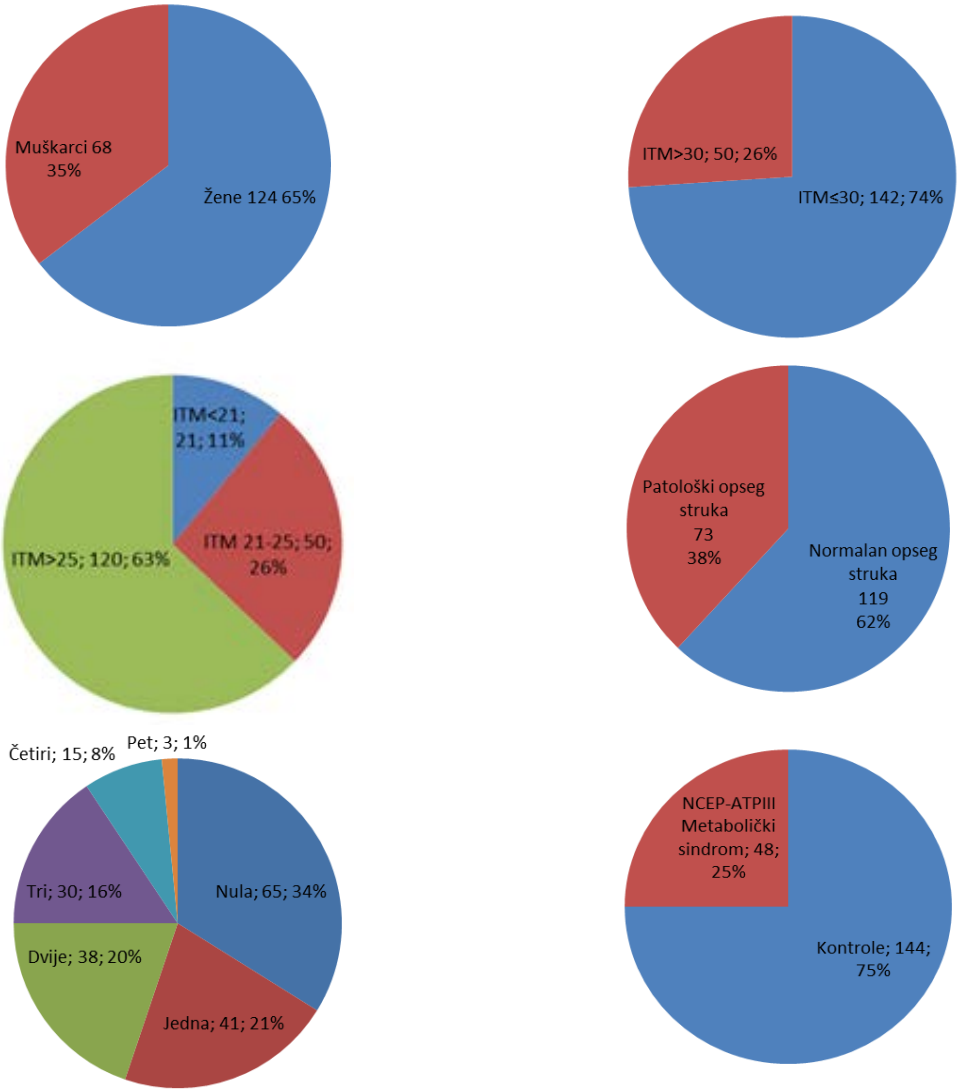
U **Tablicama 4.8.** i **4.9.** prikazana je usporedba antropometrijskih, kliničkih i laboratorijskih značajki ispitanika razvrstanih po spolu. Žene su bile mlađe od muškaraca, imale su manji opseg struka, sistolički tlak i tlak pulsa dok nije bilo značajne razlike u dijastoličkom tlaku i prevalenciji hipertenzije (34,7% naspram 44,1%). Muškarci su imale nešto više vrijednosti glukoze u krvi, ali nije bilo razlike u indeksu inzulinske rezistencije između žena i muškaraca (2,07 naspram 1,87) kao ni u prevalenciji inzulinske rezistencije (35,5% naspram 40,3%). Žene su imale više vrijednosti HDL kolesterola i niže vrijednosti triglicerida, bez razlike u ukupnom i LDL kolesterolu. Također, žene su imale više koncentracije adiponektina (10,55 naspram 9,22 mg/L) i leptina (11,94 naspram 6,10 μg/L) (**Slika 4.8.,** napomena: p-vrijednosti u tablicama i na slikama mogu se razlikovati, jer je na slikama prikazana dodatna analiza u kojoj su isključene netipične vrijednosti adiponektina, engl. *outliers*, koje mogu utjecati na rezultat).

Antropometrijske, kliničke i laboratorijske značajke ispitanika podijeljenih po ITM-u, na način da je odsječna vrijednost bila 30 kg/m2 (kriterij pretilosti) prikazane su u **Tablicama 4.10.** i **4.11.** Nije bilo razlike u spolnoj distribuciji pretilosti, ali su pretili ispitanici bili stariji, imali su veći opseg struka, sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg tlaka, bez razlike u srčanoj frekvenciji i tlaku pulsa.

Prevalencija hipertenzije bila je gotovo dva puta viša u pretilih ispitanika (58% naspram 31%). Pretili su imali značajno slabiju funkciju bubrega (medijani procjenjene glomerularne filtracije: 75 naspram 79 mL/min/1,73 m2). Pretili ispitanici imali su više vrijednosti glukoze u krvi, inzulina i gotovo dvostruko viši medijan indeksa inzulinske rezistencije (3,12 nasprama 1,62 mmol/L × μU/mL) te dvostruko višu prevalenciju inzulinske rezistencije (62,0% nasprama 28,4%). Također, imali su viši kolesterol, LDL kolesterol i trigliceride te niže vrijednosti HDL kolesterola. Uz više biljege upale i leptin (11,90 naspram 7,90 μg/L), pretili su imali značajno niže plazmatske vrijednosti adiponektina (7,35 naspram 9,88 mg/L) (**Slika 4.9.**)

Kada smo podijelili ispitanike po opsegu struka koristeći spolno i regionalno specifične odsječne vrijednosti za abdominalnu pretilost (**Tablice 4.12.** i **4.13.**), nije bilo razlike u spolnoj distribuciji, ali su abdominalno pretili bili stariji, imali su više vrijednosti sistoličkog, dijastoličkog i tlaka pulsa kao i višu prevalenciju hipertenzije (56,2% naspram 26,9%) bez razlike u srčanoj frekvenciji. Također, abdominalno pretili imali su slabiju funkciju bubrega, višu glukozu, inzulin, indeks inzulinske rezistencije i tri puta višu prevalenciju inzulinske rezistencije u usporedbi s ispitanicima s normalnim opsegom struka. Vrijednosti ukupnog kolesterola, LDL frakcije i triglicerida bile su također više u abdominalno pretilih, dok je HDL kolesterol bio niži. Abdominalno pretili imali su više vrijednosti C reaktivnog proteina i leptina, bez razlike u plazmatskoj koncentraciji adiponektina (**Slika 4.10.**).

U **Tablicama 4.14.** i **4.15.** prikazane su usporedbe za ispitanike s metaboličkim sindromom po NCEP-ATP III definiciji i one bez metaboličkog sindroma. Ispitanici s metaboličkim sindromom bili su stariji, imali su viši ITM i opseg struka, sistolički i dijastolički tlak te tlak pulsa, višu učestalost hipertenzije i nižu procijenjenu brzinu glomerularne filtracije. Također, ispitanici s metaboličkim sindromom imali su viši HOMA-IR indeks i višu prevalenciju inzulinske rezistencije kao i niži HDL-kolesterol i više trigliceride bez razlike u ukupnom kolesterolu i LDL frakciji. Ti ispitanici imali su i višu koncentraciju C-reaktivnog proteina kao biljega ovdje prisutne supkliničke upale dok nije bilo razlike u adiponektinu i leptinu (**Slika 4.11.**).



Slika 4.7. Osnovne antropometrijske i kliničke podjele po različitim fenotipskim kategorijskim varijablama (lijevi graf u zadnjem redu prikazuje ispitanike po broju komponenti metaboličkog sindroma). ITM – indeks tjelesne mase, NCEP-ATPIII – National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol (Adult Treatment Panel III).

Tablica 4.6. Antropometrijske i kliničke značajke svih ispitanika.

Parametar	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)
Ženski spol **(N, %)**	124 (64,6)	
Dob **(godine)**	43 (15)	44 (31-53)
Težina **(kilogrami)**	76 (16)	75 (63-86)
Visina **(cm)**	168 (10)	167 (161-176)
ITM **(kg/m^2)**	27,0 (5,1)	26,9 (23,1-30,2)
Kategorije ITM-a **(N, %)**		
<21 kg/m^2	21 (11,0)	
21-25 kg/m^2	50 (26,2)	
>25 kg/m^2	120 (62,8)	
ITM > 30 kg/m^2 **(N, %)**	50 (26,0)	
Opseg struka **(cm)**	89 (16)	89 (80-99)
Sistolički tlak **(mm Hg)**	134 (23)	129 (118-146)
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	81 (13)	79 (72-89)
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	98 (15)	97 (88-107)
Tlak pulsa **(mm Hg)**	53 (17)	50 (41-61)
Srčana frekvencija **(/min)**	78 (11)	77 (70-85)
Hipertoničari **(N, %)**	73 (38,0)	
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	81 (16)	78 (71-89)

IKR – interkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije

Tablica 4.7. Osnovni laboratorijski parametri svih ispitanika.

Parametar	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)
Glukoza (mmol/L)	5,4 (1,4)	5,2 (4,8-5,7)
Inzulin	10,3 (6,9)	8,7 (5,9-12,7)
HOMA-IR	2,53 (1,85)	2,00 (1,29-3,14)
Inzulinska rezistencija (N, %)	71 (37,2)	
Kolesterol (mmol/L)	5,5 (1,2)	5,5 (4,7-6,3)
HDL kolesterol (mmol/L)	1,6 (0,4)	1,51 (1,3-1,8)
LDL kolesterol (mmol/L)	3,3 (1,0)	3,3 (2,7-4,0)
Trigliceridi (mmol/L)	1,4 (0,8)	1,2 (10,8-1,8)
CRP	3,1 (7,6)	1,6 (0,6-3,0)
Adiponektin (mg/L)	11,09 (8,14)	9,39 (5,85-13,77)
Leptin (μg/L)	10,96 (9,90)	8,95 (3,85-15,42)

IKR – interkvartilni raspon, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.

Tablica 4.8. Antropometrijske i kliničke značajke ispitanika podijeljenih po spolu.

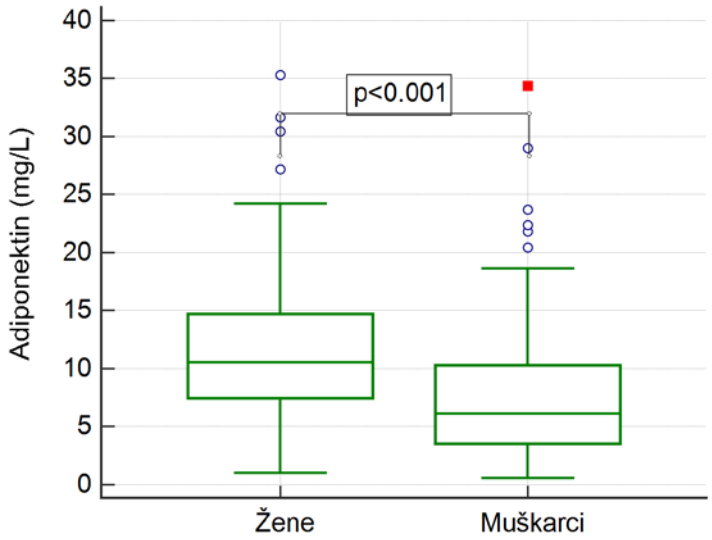
Parametar	Žene		Muškarci		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Dob **(godine)**	41 (14)	42 (30-51)	47 (17)	46 (33-61)	0,046
ITM **(kg/m^2)**	26,7 (5,4)	26,2 (22,8-30,1)	27,6 (4,6)	28,3 (24,1-30,3)	0,119
Kategorije ITM-a **(N, %)**					
<21 kg/m^2	16 (13,0)		5 (7,4)		0,329
21-25 kg/m^2	34 (27,6)		16 (23,5)		
>25 kg/m^2	73 (59,3)		47 (69,1)		
ITM > 30 kg/m^2 **(N, %)**	31 (25,0)		19 (27,9)		
Opseg struka **(cm)**	85 (17)	86 (75-94)	96 (12)	96 (85-105)	<0,001
Sistolički tlak **(mm Hg)**	131 (22)	125 (115-144)	140 (23)	137 (123-151)	0,011
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	80 (12)	79 (72-87)	82 (13)	81 (74-90)	0,589*
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	97 (14)	96 (87-105)	101 (15)	99 (91-108)	0,114
Tlak pulsa **(mm Hg)**	51 (16)	48 (40-60)	58 (18)	54 (46-68)	0,001
Srčana frekvencija **(/min)**	79 (11)	77 (71-85)	78 (12)	78 (70-84)	0,728
Hipertoničari **(N, %)**	43 (34,7)		30 (44,1)		0,197
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	80 (12)	78 (72-87)	83 (21)	78 (71-90)	0,470

IKR – interkvartilni raspon, *normalno raspodjeljena varijabla, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.9. Osnovni laboratorijski parametri ispitanika podijeljenih po spolu.

Parametar	Žene		Muškarci		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Glukoza (mmol/L)	5,2 (1,0)	5,2 (4,8-5,6)	5,7 (1,8)	5,3 (5,0-6,1)	0,010
Inzulin	10,2 (6,6)	8,7 (5,9-12,7)	10,3 (7,4)	7,7 (5,7-12,7)	0,797
HOMA-IR	2,44 (1,73)	2,07 (1,30-3,09)	2,70 (2,06)	1,85 (1,29-3,61)	0,710
Inzulinska rezistencija (N, %)	44 (35,5)		27 (40,3)		0,511
Kolesterol (mmol/L)	5,5 (1,2)	5,6 (4,7-6,2)	5,6 (1,2)	5,5 (4,8-6,5)	0,770
HDL kolesterol (mmol/L)	1,6 (0,3)	1,6 (1,4-1,8)	1,4 (0,3)	1,4 (1,2-1,6)	<0,001
LDL kolesterol (mmol/L)	3,3 (1,0)	3,3 (2,6-4,0)	3,4 (1,0)	3,3 (2,8-4,1)	0,520
Trigliceridi (mmol/L)	1,3 (0,6)	1,1 (0,8-1,5)	1,6 (0,9)	1,4 (1,0-2,1)	0,003
CRP	2,6 (4,6)	1,5 (0,6-2,8)	5,0 (11,2)	1,6 (0,6-3,2)	0,772
Adiponektin (mg/L)	12,11 (6,99)	10,55 (7,55-14,80)	9,22 (9,69)	6,14 (3,75-10,40)	<0,001
Leptin (μg/L)	13,55 (10,12)	11,94 (6,05-17,42)	6,10 (7,36)	4,01 (1,63-8,34)	<0,001

IKR – interkvartilni raspon,HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.



Slika 4.8. Usporedba plazmatske koncentracije adiponektina u žena i muškaraca.

Tablica 4.10. Antropometrijske i kliničke značajke ispitanika podijeljnih po indeksu tjelesne mase (ITM).

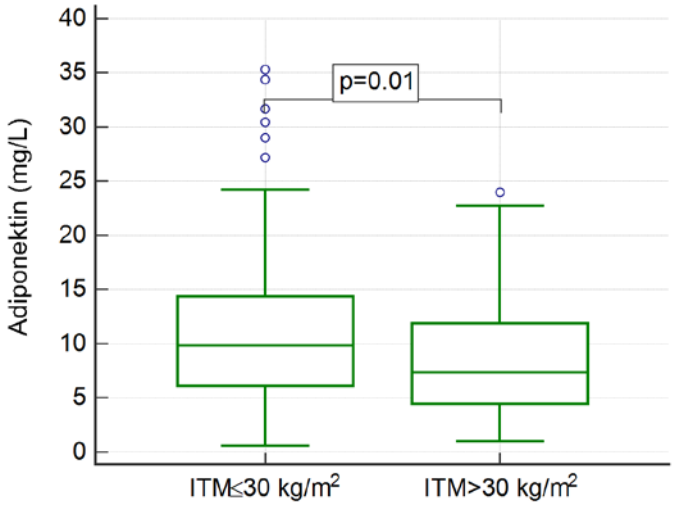
Parametar	ITM≤30		ITM>30		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Ženski spol **(N, %)**	93 (65,5)		31 (62,0)		0,657
Dob **(godine)**	42 (16)	41 (28-51)	48 (13)	48 (41-56)	0,003
ITM **(kg/m^2)**	24,7 (3,3)	25,0 (22,1-27,5)	33,4 (3,7)	32,4 (30,9-35,2)	<0,001
Opseg struka **(cm)**	84 (13)	85 (77-93)	100 (19)	103 (95-112)	<0,001
Sistolički tlak **(mm Hg)**	131 (22)	126 (117-142)	142 (24)	140 (122-156)	<0,001
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	79 (12)	78 (71-85)	87 (13)	86 (77-96)	<0,001*
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	96 (14)	95 (87-103)	105 (16)	103 (95-115)	<0,001
Tlak pulsa **(mm Hg)**	52 (18)	49 (41-60)	56 (17)	54 (45-64)	0,137
Srčana frekvencija **(/min)**	78 (12)	77 (70-85)	78 (11)	76 (72-84)	0,926
Hipertoničari **(N, %)**	44 (31,0)		29 (58,0)		0,001
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	82 (17)	79 (72-90)	78 (14)	75 (69-83)	0,027

IKR – interkvartilni raspon, *normalno raspodjeljena varijabla, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.11. Osnovni laboratorijski parametri svih ispitanika podijeljenih po indeksu tjelesne mase.

Parametar	ITM≤30		ITM>30		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Glukoza (mmol/L)	5,3 (1,3)	5,1 (4,8-5,6)	5,7 (1,6)	5,4 (5,1-6,0)	0,002
Inzulin	9,2 (6,5)	7,2 (5,4-11,0)	13,2 (7,1)	11,5 (8,8-16,5)	<0,001
HOMA-IR	2,24 (1,79)	1,62 (1,23-2,58)	3,34 (1,80)	3,12 (1,97-4,39)	<0,001
Inzulinska rezistencija (N, %)	40 (28,4)		31 (62,0)		<0,001
Kolesterol (mmol/L)	5,4 (1,2)	5,3 (4,5-6,0)	6,0 (1,1)	6,1 (5,1-6,8)	<0,001
HDL kolesterol (mmol/L)	1,6 (0,4)	1,6 (1,3-1,8)	1,4 (0,3)	1,4 (1,2-1,5)	0,001
LDL kolesterol (mmol/L)	3,2 (1,0)	3,2 (2,5-3,9)	3,7 (0,9)	3,7 (3,0-4,3)	0,001
Trigliceridi (mmol/L)	1,2 (0,7)	1,0 (0,8-1,4)	1,9 (0,8)	1,9 (1,3-2,3)	<0,001
CRP	3,3 (8,8)	1,2 (0,5-2,8)	2,6 (1,9)	2,2 (1,3-3,4)	0,001
Adiponektin (mg/L)	11,88 (8,63)	9,88 (6,14-14,38)	8,77 (5,95)	7,35 (4,45.11,95)	0,010
Leptin (ug/L)	9,42 (8,33)	7,90 (3,20-13,10)	15,45 (12,51)	11,90 (5,50-21,60)	0,001

HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.



Slika 4.9. Usporedba plazmatske koncentracije adiponektina u osoba s ITM≤30 i ITM>30 kg/m^2.

Tablica 4.12. Antropometrijske i kliničke značajke svih ispitanika podijeljenih po opsegu struka kao kriteriju abdominalne pretilosti.

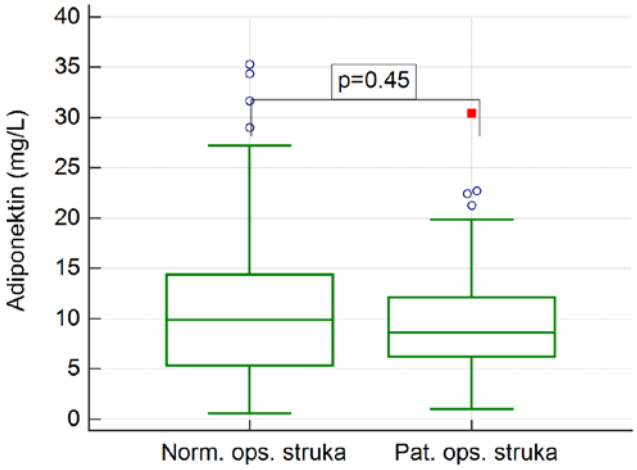
Parametar	Normalan opseg struka		Patološki opseg struka		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Ženski spol **(N, %)**	74 (62,2)		50 (68,5)		0,375
Dob **(godine)**	38 (14)	38 (26-47)	51 (13)	53 (45-61)	<0,001
ITM **(kg/m^2)**	24,7 (4,5)	24,3 (21,5-27,1)	30,6 (3,7)	30,2 (27,9-33,2)	<0,001
Kategorije ITM-a **(N, %)**					
<21 kg/m^2	21 (17,8)		0 (0)		<0,001
21-25 kg/m^2	46 (39,0)		4 (5,5)		
>25 kg/m^2	51 (43,2)		69 (94,5)		
ITM > 30 kg/m^2 **(N, %)**	12 (10,1)		38 (52,1)		<0,001
Opseg struka **(cm)**	80 (14)	82 (75-87)	102 (9)	102 (93-108)	<0,001
Sistolički tlak **(mm Hg)**	128 (19)	124 (117-139)	144 (25)	143 (122-160)	<0,001
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	77 (12)	77 (70-84)	86 (13)	85 (77-95)	<0,001*
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	94 (12)	93 (86-102)	105 (16)	105 (95-116)	<0,001
Tlak pulsa **(mm Hg)**	51 (16)	49 (40-56)	58 (18)	56 (43-67)	0,018
Srčana frekvencija **(/min)**	79 (12)	77 (70-85)	78 (11)	77 (71-85)	0,982
Hipertoničari **(N, %)**	32 (26,9)		41 (56,2)		<0,001
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	83 (11)	81 (75-90)	79 (22)	73 (69-83)	<0,001

IKR – interkvartilni raspon, *normalno raspodjeljena varijabla, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.13. Osnovni laboratorijski parametri ispitanika podijeljenih po opsegu struka kao kriteriju abdominalne pretilosti.

Parametar	Normalan opseg struka		Patološki opseg struka		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Glukoza (mmol/L)	5,1 (0,6)	5,1 (4,7-5,4)	6,0 (2,0)	5,5 (5,1-6,1)	<0,001
Inzulin	8,5 (5,6)	6,9 (5,3-10,0)	13,1 (7,8)	11,4 (8,6-14,1)	<0,001
HOMA-IR	1,98 (1,46)	1,54 (1,18-2,34)	3,41 (2,08)	2,90 (2,05-4,24)	<0,001
Inzulinska rezistencija (N, %)	25 (21,2)		46 (63,0)		<0,001
Kolesterol (mmol/L)	5,2 (1,0)	5,2 (4,5-5,8)	6,0 (1,3)	6,1 (5,2-6,9)	<0,001
HDL kolesterol (mmol/L)	1,6 (0,4)	1,6 (1,3-1,8)	1,5 (0,4)	1,4 (1,3-1,7)	0,019
LDL kolesterol (mmol/L)	3,1 (0,9)	3,1 (2,4-3,6)	3,7 (1,0)	3,7 (3,1-4,3)	<0,001*
Trigliceridi (mmol/L)	1,2 (0,7)	1,0 (0,8-1,4)	1,7 (0,7)	1,6 (1,2-2,1)	<0,001
CRP	2,7 (6,7)	1,0 (0,4-2,0)	3,9 (9,0)	2,4 (1,5-3,6)	<0,001
Adiponektin (mg/L)	11,39 (7,97)	9,90 (5,35-14,45)	10,60 (8,44)	8,74 (6,25-12,48)	0,493
Leptin (μg/L)	9, 10 (8,71)	6,83 (2,93-12,60)	14,05 (11,00)	12,10 (5,70-18,11)	<0,001

IKR – interkvartilni raspon, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.



Slika 4.10. Usporedba plazmatske koncentracije adiponektina u osoba s normalnim i patološkim opsegom struka.

Tablica 4.14. Antropometrijske i kliničke značajke ispitanika podijeljenih prema NCEP-ATPIII definiciji metaboličkog sindroma.

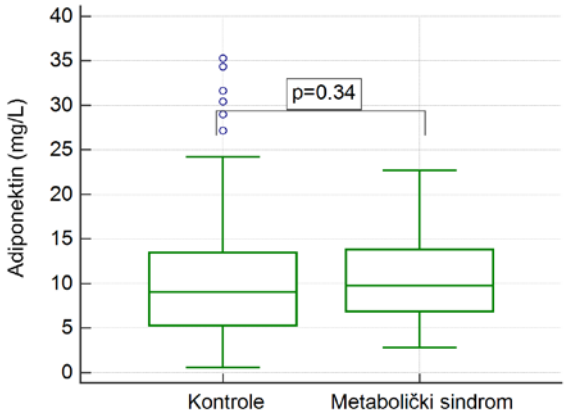
Parametar	Metabolički sindrom		Kontrole		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Ženski spol **(N, %)**	29 (60,4)		95 (66,0)		0,486
Dob **(godine)**	54 (13)	53 (46-64)	40 (14)	39 (27-50)	<0,001
ITM **(kg/m^2)**	30,7 (3,5)	29,7 (28,3-33,4)	25,7 (4,9)	25,2 (22,1-29,0)	<0,001
Kategorije ITM-a **(N, %)**					
<21 kg/m^2	0 (0)		21 (14,7)		<0,001
21-25 kg/m^2	1 (2,1)		49 (34,3)		
>25 kg/m^2	47 (97,9)		73 (51,0)		
ITM > 30 kg/m^2 **(N, %)**	23 (47,9)		27 (18,8)		<0,001
Opseg struka **(cm)**	84 (16)	85 (77-84)	101 (10)	102 (93-110)	<0,001
Sistolički tlak **(mm Hg)**	157 (25)	157 (138-172)	126 (16)	123 (116-139)	<0,001
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	91 (13)	91 (80-100)	77 (10)	77 (71-84)	<0,001*
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	113 (15)	113 (103-123)	93 (11)	93 (86-101)	<0,001
Tlak pulsa **(mm Hg)**	65 (20)	61 (51-74)	49 (15)	48 (40-56)	<0,001
Srčana frekvencija **(/min)**	78 (12)	77 (69-85)	80 (11)	77 (73-86)	0,302
Hipertoničari **(N, %)**	37 (25,7)		36 (75,0)		<0,001
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	82 (13)	79 (72-89)	80 (24)	76 (69-85)	0,051

IKR – interkvartilni raspon, *normalno raspodjeljena varijabla, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije, NCEP-ATPIII-dopisati opis skraćenice.

Tablica 4.15. Osnovni laboratorijski parametri ispitanika podijeljenih prema NCEP-ATPIII definiciji metaboličkog sindroma.

Parametar	Metabolički sindrom		Kontrole		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Glukoza (mmol/L)	6,5 (2,3)	6,0 (5,6-6,4)	5,1 (0,5)	5,1 (4,7-5,4)	<0,001
Inzulin	13,2 (7,4)	11,3 (9,0-14,8)	9,3 (6,4)	7,3 (5,4-11,2)	<0,001
HOMA-IR	3,76 (2,22)	3,23 (2,15-4,63)	2,11 (1,50)	1,62 (1,23-2,54)	<0,001
Inzulinska rezistencija (N, %)	34 (70,8)		37 (25,9)		<0,001
Kolesterol (mmol/L)	5,8 (1,2)	5,7 (4,8-6,8)	5,4 (1,2)	5,4 (4,7-6,2)	0,135
HDL kolesterol (mmol/L)	1,4 (0,4)	1,3 (1,2-1,6)	1,6 (0,3)	1,6 (1,4-1,8)	<0,001
LDL kolesterol (mmol/L)	3,5 (0,9)	3,5 (2,8-4,0)	3,3 (1,0)	3,3 (2,6-4,0)	0,245
Trigliceridi (mmol/L)	1,8 (0,7)	1,8 (1,3-2,3)	1,2 (0,7)	1,0 (0,8-1,5)	<0,001
CRP	4,5 (11,0)	2,7 (1,2-4,5)	2,7 (6,1)	1,2 (0,5-2,4)	<0,001
Adiponektin (mg/L)	11,83 (9,10)	9,83 (6,95-14,95)	10,84 (7,81)	9,22 (5,30-13,77)	0,279
Leptin (ug/L)	12,24 (9,08)	10,60 (4,30-17,10)	10,55 (10,14)	8,44 (3,60-14,60)	0,118

IKR – interkvartilni raspon, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein, NCEP-ATPIII- dopisati opis skraćenice.



Slika 4.11. Usporedba plazmatske koncentracije adiponektina u osoba s metaboličkim sindromom u odnosu na kontrolne (zdrave) osobe.

4.4. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s arterijskim tlakom i hipertenzijom

U **Tablici 4.16.** prikazana je usporedba antropometrijskih i kliničkih značajki ispitanika podijeljenih po genotipu polimorizma -11377 C>G. Nije bilo razlike u dobi, ITM, opsegu struka, sistoličkom, dijastoličkom i srednjem tlaku kao ni tlaku pulsa, srčanoj frekvenciji i procjenjenoj glomerularnoj filtraciji. Također, nije bilo razlike između genotipova u plazmatskoj koncentraciji glukoze i inzulina te HOMA-IR, ali je u ispitanika s genotipom -11377 G/G prevalencija inzulinske rezistencije bila znatno manja (16,7%) nego u heterozigota (44,7%) i dominantnih homozigota (35,5%). Među genotipovima nije bilo razlike koncentraciji kolesterola, triglicerida i C-reaktivnog proteina, kao ni u koncentracijama adiponektina i leptina (**Tablica 4.17.**, **Slika 4.12.**).

Oba ispitivana polimorfizma bila su u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži u cijeloj skupini ispitanika te u normotoničara i hipertoničara (p>0,05). Polimorizmi su bili u neravnoteži povezanosti (D'=0,996, r= -0,16, p=0,002).

Podijeljeni prema genotipu polimorfizma -11391 G>A, ispitanici s genotipom G/G i oni s genotipom G/A nisu se razlikovali u dobi, ITM, opsegu struka, arterijskom tlaku, srčanoj frekvenciji i procjenjenoj glomerularnoj filtraciji (**Tablica 4.18.**). Također, nije bilo razlike u koncentraciji plazmatske glukoze i inzulina te HOMA-IR, ali je u ispitanika s genotipom G/A prevalencija inzulinske rezistencije bila granično veća, nego u onih s genotipom G/G (54,2% naspram 35,0%). Ispitanici se nisu razlikovali po koncentracijama ukupnog kolesterola niti njegovih frakcija, trigliceridima, C-reaktivnom proteinu i adiponektinu i leptinu (**Tablica 4.19.**, **Slika 4.13.**).

Kada smo promotrili učestalost genotipova polimorfizma -11377 C>G, nije bilo razlike u raspodjeli genotipova po spolu, hipertenziji, kategorijama ITM, pretilosti, metaboličkom sindromu niti njegovim pojedinim sastavnicama i spolno specifičnim tercilima koncentracije adiponektina (**Tablica 4.20.**). Genotip -11391 G/A bio je češći kod žena (16,3% naspram 6,2%), a rjeđi kod osoba s koncentracijom triglicerida ≥ 1,7 mmol/L (5,6% naspram 15,7%) (**Tablica 4.21.**). U **Tablicama 4.22.** i **4.23.** i na **Slici 4.14.** dodatno je detaljno prikazana raspodjela diplotipova, genotipova i alela po hipertenziji za oba polimorfizma (p>0,05).

Koncentracija adiponektina (zbog nepravilne distribucije svugdje izražena kao dekadski logaritam koncentracije) nije povezana sa sistoličkim (beta= -3,6 x 10^{-4}, p>0,99) niti s dijastoličkim tlakom u cjelokupnoj skupini (beta= 0,065, p=0,38).

U podskupini ispitanika s barem jednim minor alelom SNP -11377 C>G (podskupina SNP -11377 C/G+G/G), bez obzira na genotip drugog polimorfizma, koncentracija adiponektina nije bila značajno povezana sa sistoličkim (beta= 0,103, p=0,33), ali jest s dijastoličkim tlakom (beta= 0,221, p=0,035). Suprotno tome, u skupini ispitanika s genotipom SNP -11377 C/C nije nađeno značajnih povezanosti sa sistoličkim (beta= -0,118, p=0,27) niti s dijastoličkim tlakom (beta= -0,193, p=0,29), kao ni u skupini heterozigota i recesivnih homozigota (**Slika 4.15.** i **4.16.**).

Kada smo zasebno promatrali polimorfizam 11391 G>A našli smo granično značajnu povezanost sistoličkog tlaka u skupini s genotipom G/A (tj. u ispitanika s minor alelom drugog polimorfizma) (beta= -0,378, p=0,069) bez povezanosti s dijastoličkim tlakom (beta= -0,322, p=0,12). Također, u skupini s genotipom G/G nije bilo povezanosti koncentracije adiponektina sa sistoličkim (beta= -0,066, p=0,42) niti s dijastoličkim tlakom (beta= 0,132, p=0,10) (**Slika 4.17.** i **4.18.**).

Kako bismo ispitali postoji li bivarijatna povezanost u ispitanika koji imaju barem po jedan minor alel svakog od dvaju polimorfizama u jednu smo skupinu spojili ispitanike s diplotipom C/G-GA ili G/G-G/A. U toj skupini vidio se jasan trend povezanosti sa sistoličkim tlakom koji bi u većem uzorku gotovo sigurno bio značajan (beta= -0,701, p=0,12), a s dijastoličkim tlakom zabilježena je značajna povezanost (beta= -0,818, p=0,047). Ovi rezultati su još znakovitiji kada se postave u kontrast s onima iz skupine ispitanika samo s major alelima u oba polimorfizma (tj. diplotipom C/C-G/G) u kojih nije bilo povezanosti sistoličkog (beta= -0,082, p=0,49) niti dijastoličkog tlaka s koncentracijom adiponektina (beta= -0,088, p=0,46).

Koristeći multivarijatnu linearnu regresiju ispitali smo nezavisnu povezanost koncentracije adiponektina sa sistoličkim i dijastoličkim tlakom u cijeloj skupini, pojedinim genotipovima oba polimorfizma, heterozigotu i homozigotu za minor alel polimorfizma -11377 C>G i najzastupljenijem diplotipu (C/C-G/G) u modelu prilagođenom za spol, dob, ITM, indeks inzulinske rezistencije, ukupni kolesterol i procjenjenu brzinu glomerularne filtracije (**Tablice 4.24.** i **4.25.**). Sistolički tlak je bio značajno pozitivno povezan sa ženskim spolom (u skupinama -11377 C/G+G/G i -11391 G/G), dobi (u cijeloj skupini i u skupinama -11377 C/C i C/G+G/G i -11391 G/G), ITM (u cijeloj skupini, skupinama -11377 C/C i C/G i -11391 G/A) i indeksom inzulinske rezistencije (u cijeloj skupini, u skupini -11377 C/C+G/G i -11391 G/G). U cijeloj skupini niti u nekoj od genotipskih i diplotipskih podskupina nije nađena značajna povezanost s koncentracijom adiponektina (**Tablica 4.24.**).

Dijastolički tlak bio je značajno pozitivno povezan s dobi (u cijeloj skupini i u dominantnih homozigota oba polimorfizma), ITM (u svim skupinama osim u recesivnom

homozigotu -11377 G/G), ukupnim kolesterolom (u skupini G/A) i adiponektinom (u skupini -11377 C/G i -11391 G/G). Nije bilo povezanosti dijastoličkog tlaka i spola, HOMA-IR eGFR (**Tablica 4.25.**).

Logističkom regresijom ispitali smo utjecaj pojedinih genotipova i alela na hipertenziju. U **Tablici 4.26.** navedeni su različiti modeli za polimorfizam -11377 C>G prilagođeni za dob, spol, ITM, opseg struka, HOMA indeks inzulinske rezistencije, ukupni kolesterol, trigliceride i CRP. U općem ili kodominantom modelu nije bilo povezanosti recesivnog homozigota s hipertenzijom, omjer šansi u odnosu na dominantog homozigota bio je 0,90 (95% interval pouzdanosti 0,29-2,81). Kada se promatrao domiantni model nasljeđivanja, recesivni homozigot i heterozigot nisu imali značajan omjer šansi za razvoj hipertenzije (p=0,30), kao ni recesivni homozigot u odnosu na dominantnog homozigota i heterozigota u recesivnom modelu (p=0,86). Overdominantnim ili superdominantnim modelom nije dokazana moguća heterozigotna prednost (p=0,25). U konačnici, log-aditivnim modelom nije dokazan aditivni učinak minor alela (p=0,49).

Polimorfizam -11391 G>A također nije bio povezan s hipertenzijom niti u neprilagođenom (p=0,45), niti u prilagođenom modelu (p=0,16) (**Tablica 4.27.**).

Kako bi razjasnili utjecaj ostalih važnih varijabli, tj. potencijalnih rizičnih čimbenika, za razvoj hipertenzije konstruirali smo niz modela prikazanih u **Tablicama 4.28.-31**. U ovim modelima samo su se dob i ITM pokazali kao pozitivni prediktori hipertenzije.

Učestalost pojedinih haplotipova prikazana je na **Slici 4.19.** Analiza haplotipova pokazala je da niti haplotip -11377 G - -11391 G niti haplotip -11377 C - -11391 A nemaju značajan omjer šansi za hipertenziju u odnosu na najčešći haplotip -11377 C - -11391 G niti u neprilagođenom niti u prilagođenom logističkom modelu (**Tablica 4.32.**).

Tablica 4.16. Antropometrijske i kliničke značajke ispitanika podijenih prema genotipu polimorfizma -11377 C>G.

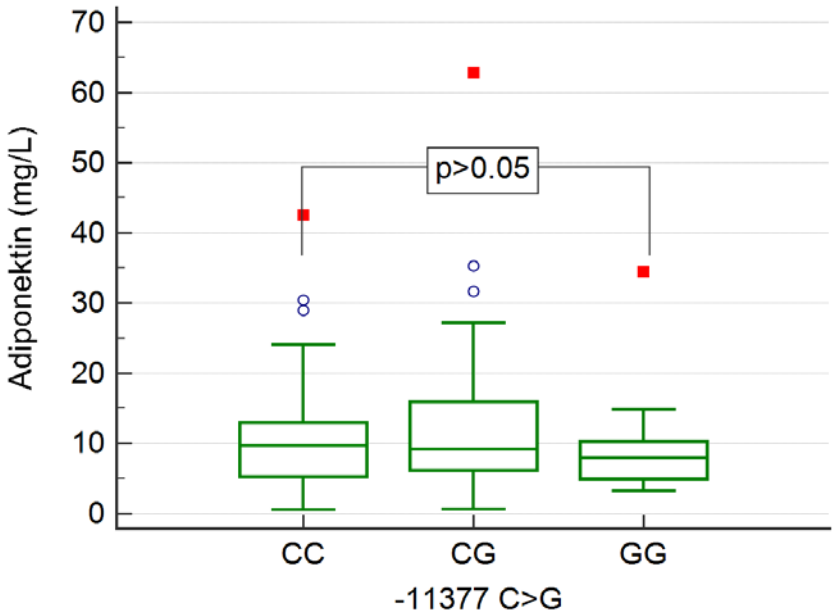
Parametar	C/C		C/G		G/G		P
Dob **(godine)**	42	27 - 50	46	36 – 56	43	33 – 51	0,067
ITM **(kg/m^2)**	26,5	23,0–30,2	27,2	23,4-30,3	26,3	24,6-28,4	0,843
Opseg struka **(cm)**	87	80 – 96	91	79 – 100	91	81 - 99	0,742
Sistolički tlak **(mm Hg)**	129	118 – 146	130	118–149	130	121–141	0,917
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	80	72 – 89	79	72 – 89	83	77 – 90	0,525
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	97	88 – 106	97	88 – 108	98	92 – 105	0,877
Tlak pulsa **(mm Hg)**	50	41 – 60	53	42 – 64	48	40 – 56	0,352
Srčana frekvencija **(/min)**	77	71 – 85	78	70 – 86	73	65 – 85	0,484
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	79	71 – 89	76	71 – 90	75	73 - 84	0,516

izraženo kao medijan i inerkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.17. Laboratorijski parametri ispitanika podijenih prema genotipu polimorfizma -11377 C>G.

Parametar	C/C		C/G		G/G		P
Glukoza (mmol/L)	5,2	4,8 – 5,6	5,2	4,9 – 5,8	5,1	4,8 – 5,4	0,431
Inzulin	8,6	4,5 – 11,8	9,1	5,9 – 13,8	7,6	6,1 – 9,4	0,354
HOMA-IR	1,93	1,27 – 2,84	2,15	1,31 - 3,55	1,73	1,30 – 2,33	0,228
Inzulinska rezistencija	33 (35,5)		34 (44,7)		3 (16,7)		0,074
Kolesterol (mmol/L)	5,3	4,5 – 6,3	5,6	5,0 – 6,3	5,8	5,0 – 6,5	0,272
HDL kolesterol (mmol/L)	1,5	1,2 – 1,8	1,5	1,3 – 1,8	1,5	1,3 – 1,9	0,871
LDL kolesterol (mmol/L)	3,2	2,4 – 4,0	3,3	2,9 – 4,0	3,5	3,1 – 4,2	0,258
Trigliceridi (mmol/L)	1,1	0,8 – 1,8	1,3	0,9 – 1,9	1,1	0,8 – 1,6	0,288
CRP	1,6	1,6 – 2,9	1,7	0,6 – 3,4	1,4	0,5 – 3,10	0,760
Adiponektin (mg/L)	9,76	5,3 – 12,95	9,23	6,25 – 15,90	7,94	4,95 – 10,25	0,456
Leptin (μg/L)	8,52	3,80 – 14,58	9,30	3,35 – 17,78	10,13	4,20 – 14,21	0,724

izraženo kao medijan i inerkvartilni raspon HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.



Slika 4.12. Usporedba plazmatske koncentracije adiponektina po genotipovima polimorfizma -11377 C>G.

Tablica 4.18. Antropometrijske i kliničke značajke ispitanika podijenih prema genotipu polimorfizma -11391 G>A.

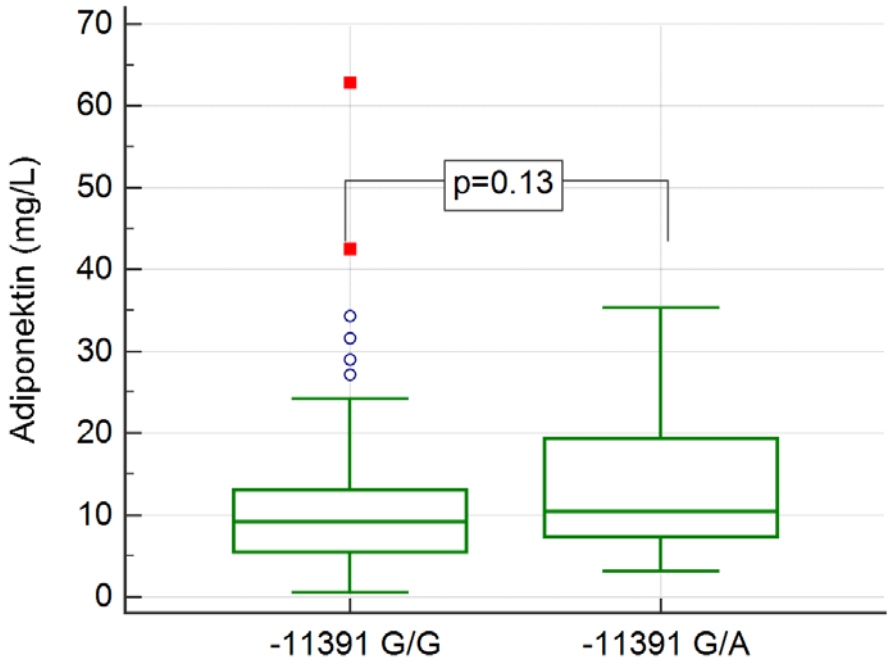
Parametar	G/G		G/A		P
Dob **(godine)**	44	32 – 53	41	24 – 55	0,282
ITM **(kg/m^2)**	26,9	23,4–30,4	26,1	22,6-29,8	0,549
Opseg struka **(cm)**	89	80 – 99	87	79 – 96	0,514
Sistolički tlak **(mm Hg)**	130	119-145	126	112-150	0,746
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	79	73 – 89	82	69 – 92	0,965
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	97	88-105	96	84-112	0,936
Tlak pulsa **(mm Hg)**	51	42 - 61	48	41 – 61	0,628
Srčana frekvencija **(/min)**	78	71 – 86	73	70 – 84	0,273
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	77	71 – 89	82	70 - 89	0,471

izraženo kao medijan i inerkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.19. Laboratorijski parametri ispitanika podijenih prema genotipu polimorfizma -11391 G>A.

Parametar	G/G		G/A		P
Glukoza (mmol/L)	5,2	4,8 – 5,7	5,2	4,5 – 5,7	0,357
Inzulin	8,3	5,9 – 11,9	11,4	7,1 – 14,7	0,107
HOMA-IR	1,94	1,30 – 3,11	2,56	1,41 – 4,26	0,233
Inzulinska rezistencija	57 (35,0)		13 (54,2)		0,070
Kolesterol (mmol/L)	5,6	4,8 – 6,3	5,2	4,2 – 6,3	0,340
HDL kolesterol (mmol/L)	1,5	1,3 – 1,8	1,6	1,3 – 1,8	0,428
LDL kolesterol (mmol/L)	3,3	2,7 – 4,1	3,1	2,4 – 3,9	0,307
Trigliceridi (mmol/L)	1,2	0,9 – 1,9	1,2	0,9 – 1,4	0,628
CRP	1,7	0,7 – 3,3	1,1	0,5 – 2,1	0,097
Adiponektin (mg/L)	9,22	5,50 – 13,00	10,40	7,33 – 19,33	0,126
Leptin (μg/L)	8,52	3,60 – 15,33	11,30	4,55 – 14,80	0,306

izraženo kao medijan i inerkvartilni raspon , HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.



Slika 4.13. Usporedba plazmatske koncentracije adiponektina po genotipovima polimorfizma -11391 G>A

Tablica 4.20. Raspodjela učestalosti genotipova polimorfizma -11377 C>G u različitim fenotipskim obilježjima.

Fenotipsko obilježje	Vrijednost	CC		CG		GG		χ^2	p
		N	%	N	%	N	%		
Spol	***Ženski***	64	52,0%	48	39,0%	11	8,9%	0,946	0,623
	Muški	29	44,6%	29	44,6%	7	10,8%		
Hipertenzija	***Ne***	57	49,6%	47	40,9%	11	9,6%	0,001	0,999
	Da	36	49,3%	30	41,1%	7	9,6%		
Kategorija ITM	***<21***	9	45,0%	10	50,0%	1	5,0%	3,071	0,546
	21-25	27	56,3%	15	31,3%	6	12,5%		
	>25	57	47,9%	51	42,9%	11	9,2%		
ITM > 30	***Ne***	69	49,6%	56	40,3%	14	10,1%	0,199	0,905
	Da	24	49,0%	21	42,9%	4	8,2%		
Inzulinska rezistencija	***Ne***	60	51,3%	42	35,9%	15	12,8%	5,196	0,074
	Da	33	47,1%	34	48,6%	3	4,3%		
Tlak veći od 130/85 mm Hg	***Ne***	64	52,5%	46	37,7%	12	9,8%	1,551	0,461
	Da	29	43,9%	31	47,0%	6	9,1%		
Patološki opseg struka	***Ne***	60	51,7%	44	37,9%	12	10,3%	1,177	0,555
	Da	33	45,8%	33	45,8%	6	8,3%		
Trigliceridi > 1,7 mmol/L	***Ne***	67	50,0%	52	38,8%	15	11,2%	1,832	0,400
	Da	26	48,1%	25	46,3%	3	5,6%		
Patološki HDL	***Ne***	76	48,1%	67	42,4%	15	9,5%	0,887	0,642
	Da	17	56,7%	10	33,3%	3	10,0%		
GUK > 5,6 mmol/L	***Ne***	68	51,1%	51	38,3%	14	10,5%	1,440	0,487
	Da	25	45,5%	26	47,3%	4	7,3%		
Metabolički sindrom	***Ne***	71	50,4%	55	39,0%	15	10,6%	1,280	0,527
	Da	22	46,8%	22	46,8%	3	6,4%		
Spolno specifični tercil adiponektina	***Prvi***	32	52,5%	23	37,7%	6	9,8%	5,967	,202
	Drugi	32	52,5%	20	32,8%	9	14,8%		
	Treći	26	44,1%	30	50,8%	3	5,1%		

HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, GUK – glukoza u krvi.

Tablica 4.21. Raspodjela učestalosti genotipova polimorfizma -11391 G>A u različitim fenotipskim obilježjima.

Fenotipsko obilježje	Vrijednost	GG		GA		χ2	p
		N	%	N	%		
Spol	***Ženski***	103	83,7%	20	16,3%	3,900	0,048
	Muški	61	93,8%	4	6,2%		
Hipertenzija	***Ne***	102	88,7%	13	11,3%	0,568	0,451
	Da	62	84,9%	11	15,1%		
Kategorija ITM	***<21***	15	75,0%	5	25,0%	3,521	0,172
	21-25	44	91,7%	4	8,3%		
	>25	104	87,4%	15	12,6%		
ITM > 30	***Ne***	120	86,3%	19	13,7%	0,391	0,532
	Da	44	89,8%	5	10,2%		
Inzulinska rezistencija	***Ne***	106	90,6%	11	9,4%	3,292	0,070
	Da	57	81,4%	13	18,6%		
Tlak veći od 130/85 mm Hg	***Ne***	105	86,1%	17	13,9%	0,426	0,514
	Da	59	89,4%	7	10,6%		
Patološki opseg struka	***Ne***	102	87,9%	14	12,1%	0,132	0,716
	Da	62	86,1%	10	13,9%		
Trigliceridi > 1,7 mmol/L	***Ne***	113	84,3%	21	15,7%	3,537	0,060
	Da	51	94,4%	3	5,6%		
Patološki HDL	***Ne***	140	88,6%	18	11,4%	1,677	0,195
	Da	24	80,0%	6	20,0%		
GUK > 5,6 mmol/L	***Ne***	116	87,2%	17	12,8%	0,000	0,992
	Da	48	87,3%	7	12,7%		
Metabolički sindrom	***Ne***	123	87,2%	18	12,8%	0,000	1,000
	Da	41	87,2%	6	12,8%		
Spolno specifični tercil adiponektina	***Prvi***	55	90,2%	6	9,8%	1,321	0,517
	Drugi	53	86,9%	8	13,1%		
	Treći	49	83,1%	10	16,9%		

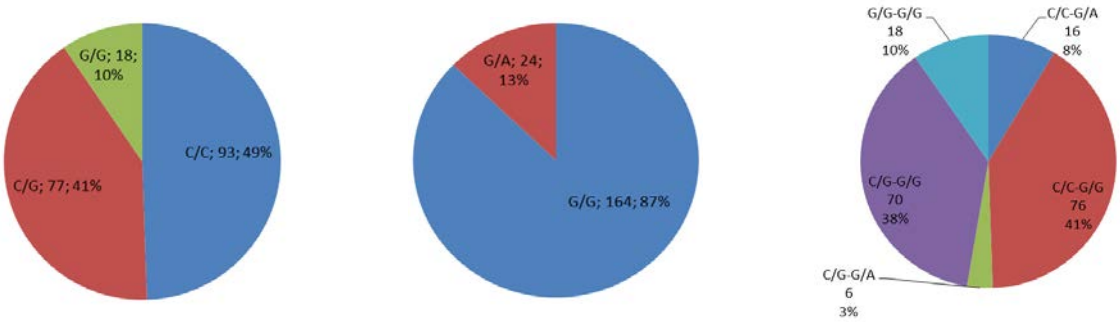
HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, GUK – glukoza u krvi.

Tablica 4.22. Raspodjela genotipova i alela poliorfizma -11377 C>G u cijeloj skupini, normotoničarima i hipertoničarima.

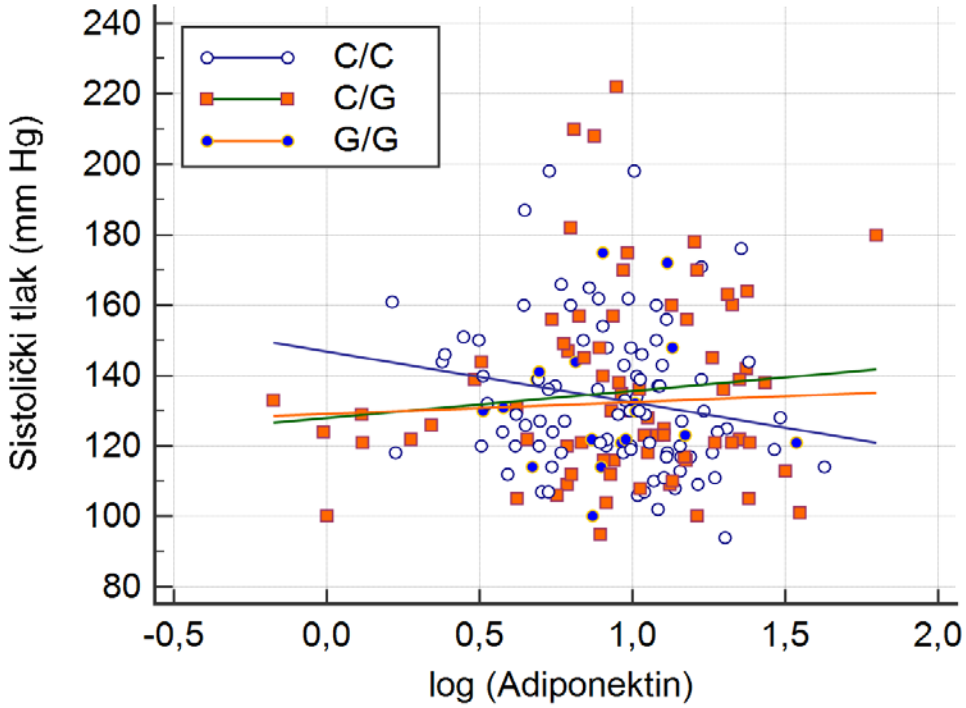
Genotip/alel	Cijela skupina		Normotoničari		Hipertoničari		P
	N	%	N	%	N	%	
C/C	93	49	57	50	36	49	>0,99
C/G	77	41	47	41	30	41	
G/G	18	10	11	9	7	10	
C	263	70	161	70	102	70	0,98
G	113	30	69	30	44	30	

Tablica 4.23. Raspodjela genotipova i alela poliorfizma -11391 G>A u cijeloj skupini, normotoničarima i hipertoničarima.

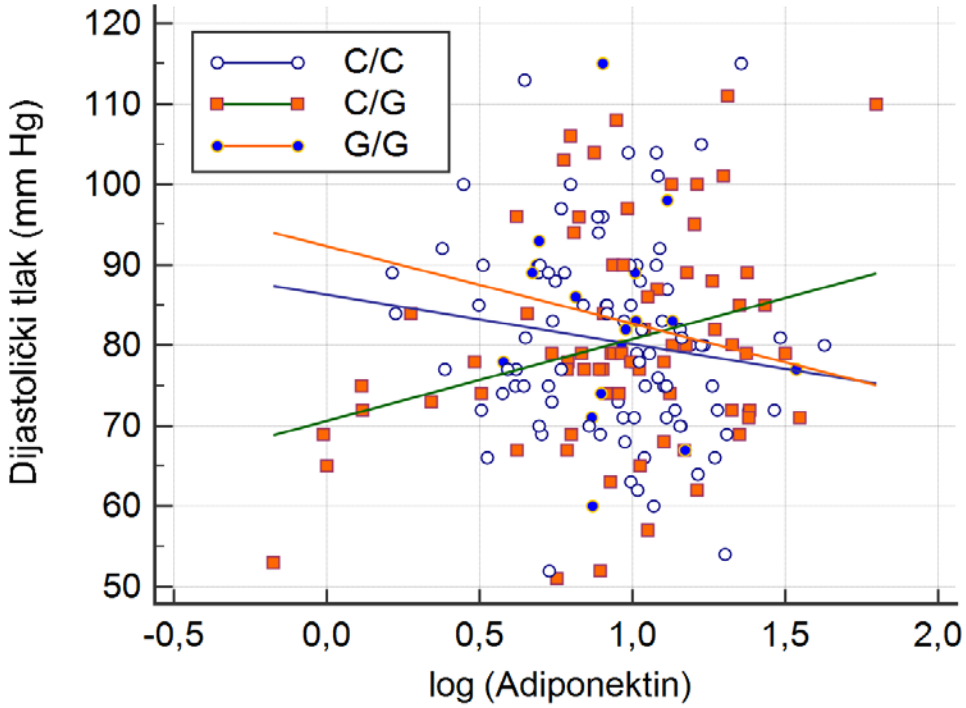
Genotip/alel	Cijela skupina		Normotoničari		Hipertoničari		P
	N	%	N	%	N	%	
G/G	164	88	102	89	62	86	0,48
G/A	22	12	12	11	10	14	
A/A	0	0	0	0	0	0	
G	350	88	216	95	134	86	0,45
A	22	12	12	5	10	14	



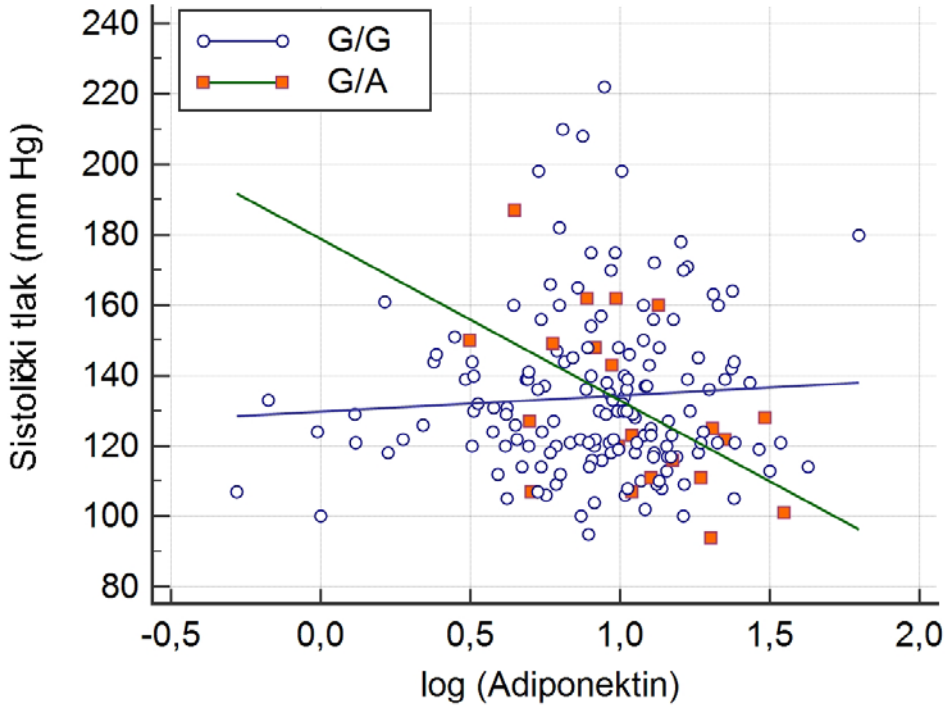
Slika 4.14. Broj i učestalost pojedinih genotipova oba polimorfizma i diplotipova.



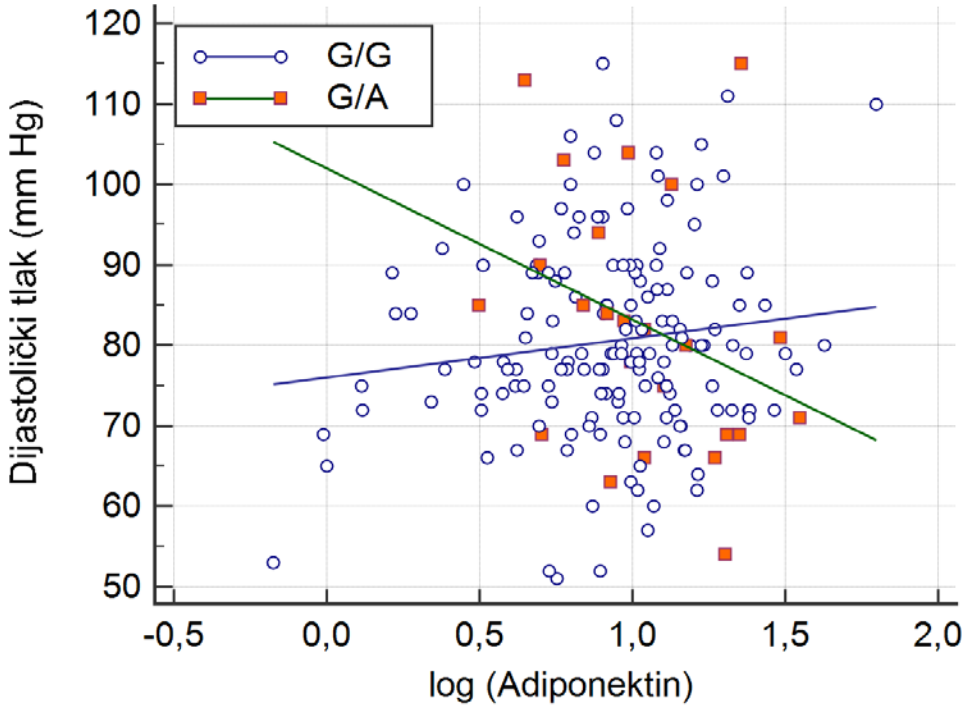
Slika 4.15. Linearna regresija logaritma plazmatske koncentracije adiponektina sa sistoličkim tlakom po genotipovima polimorfizma -11377 C>G.



Slika 4.16. Linearna regresija logaritma plazmatske koncentracije adiponektina s dijastoličkim tlakom po genotipovima polimorfizma -11377 C>G.



Slika 4.17. Linearna regresija logaritma plazmatske koncentracije adiponektina sa sistoličkim tlakom po genotipovima polimorfizma -11391 G>A.



Slika 4.18. Linearna regresija logaritma plazmatske koncentracije adiponektina s dijastoličkim tlakom po genotipovima polimorfizma -11391 G>A.

Tablica 4.24. Multivarijatna linearna regresija za sistolički tlak.

Nezavisne varijable	Svi	SNP1				SNP10		C/C-G/G
		C/C	C/G	G/G	C/G+G/G	G/G	G/A	
Ženski spol	0,126	0,093	0,184	0,226	**0,191**	**0,154**	0,412	0,061
Dob	**0,394**	**0,284**	0,492	0,561	**0,480**	**0,399**	0,039	0,223
ITM	**0,138**	**0,267**	**0,110**	0,249	0,110	0,095	**0,531**	0,214
HOMA-IR	**0,185**	0,127	0,181	0,365	**0,205**	**0,196**	0,055	0,198
Kolesterol	-0,010	-0,070	0,066	0,048	0,054	0,034	-0,344	0,028
eGFR	0,014	0,089	0,010	0,273	0,011	0,013	-0,348	0,138
log adiponektin	0,061	-0,005	0,125	0,076	0,116	0,118	-0,182	0,011

ITM – indeks tjelesne mase, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, eGRF – procjenjena brzina glomerularne filtracije

Tablica 4.25. Multivarijatna linearna regresija za dijastolički tlak.

Nezavisne varijable	Svi	SNP1				SNP10		C/C-G/G
		C/C	C/G	G/G	C/G+G/G	G/G	G/A	
Ženski spol	0,079	-0,016	0,131	0,503	-0,016	0,151	0,264	-0,030
Dob	**0,168**	-0,072	**0,412**	0,434	-0,072	**0,201**	-0,037	-0,236
ITM	**0,288**	**0,459**	**0,243**	0,145	**0,459**	**0,236**	**0,659**	**0,466**
HOMA-IR	0,049	0,079	-0,006	0,303	0,079	0,001	0,073	0,076
Kolesterol	0,020	0,023	0,025	-0,075	0,023	0,099	**-0,432**	0,186
eGFR	0,012	0,082	0,035	0,013	0,082	0,017	-0,347	0,132
log adiponektin	0,129	-0,013	**0,279**	-0,088	-0,013	**0,198**	-0,134	0,033

ITM – indeks tjelesne mase, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, eGRF – procjenjena brzina glomerularne filtracije

Tablica 4.26. Logistička regresija za procjenu utjecaja genotipova polimorfizma -11377 C>G na hipertenziju.

Model	Genotip	Normotoničari	Hipertoničari	OR (95% CI)	P
Kodominantni	C/C	57 (50%)	36 (50%)	1.00	0.50
	C/G	46 (40.4%)	29 (40.3%)	0.65 (0.31-1.35)	
	G/G	11 (9.7%)	7 (9.7%)	0.90 (0.29-2.81)	
Dominantni	C/C	57 (50%)	36 (50%)	1.00	0.30
	C/G+G/G	57 (50%)	36 (50%)	0.70 (0.35-1.39)	
Recesivni	C/C+C/G	103 (90.3%)	65 (90.3%)	1.00	0.86
	G/G	11 (9.7%)	7 (9.7%)	1.10 (0.37-3.25)	
Overdominantni	C/C+G/G	68 (59.6%)	43 (59.7%)	1.00	0.25
	C/G	46 (40.4%)	29 (40.3%)	0.66 (0.33-1.34)	
Log-aditivni	---	---	---	0.83 (0.50-1.40)	0.49

Tablica 4.27. Logistička regresija za procjenu utjecaja genotipova polimorfizma -11391 G>A na hipertenziju.

Genotip	Neprilagođeno		Model	
	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
G/G	1,00	0,45	1,00	0,16
G/A	1,39 (0,59-3,30)		2,12 (0,73-6,16)	

Tablica 4.28. Kodominantni multivarijatni logističko-regresijski modeli za asocijacije hipertenzije s genotipovima polimorfizma -11377 C>G i fenotipskim i kliničkim svojstvima.

Varijabla	Genotip	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
		Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G
ADIPOQ SNP -11377 C>G	CC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	CG	1,008	0,358	2,838	1,008	0,358	2,838	0,958	0,307	2,991	1,049	0,331	3,322	1,063	0,336	3,360
	GG	1,011	0,544	1,878	1,011	0,544	1,878	0,656	0,312	1,378	0,663	0,306	1,437	0,660	0,304	1,433
Dob					**1,064**	**1,038**	**1,090**	**1,046**	**1,015**	**1,079**	**1,051**	**1,018**	**1,085**	**1,049**	**1,015**	**1,084**
Ženski spol					0,773	0,393	1,522	0,694	0,313	1,539	0,545	0,209	1,423	0,517	0,194	1,376
ITM								**1,113**	**1,016**	**1,219**	**1,109**	**1,009**	**1,219**	**1,110**	**1,010**	**1,221**
Opseg struka								0,994	0,963	1,026	0,996	0,964	1,029	0,996	0,964	1,029
HOMA-IR								1,105	0,895	1,363	1,104	0,891	1,368	1,113	0,897	1,380
HDL kolesterol								1,666	0,512	5,425	1,236	0,362	4,217	1,148	0,327	4,028
LDL kolesterol								0,891	0,600	1,324	0,818	0,547	1,225	0,820	0,547	1,229
Trigliceridi								1,191	0,703	2,015	1,185	0,692	2,029	1,224	0,704	2,126
CRP								0,986	0,941	1,032	0,982	0,936	1,031	0,982	0,935	1,032
eGFR								0,998	0,975	1,021	1,011	0,979	1,044	1,010	0,978	1,043
ACR								1,013	0,992	1,034	1,011	0,991	1,031	1,011	0,991	1,031
log leptin											1,442	0,558	3,722	1,400	0,540	3,628
log adiponektin														1,433	0,408	5,027

ITM – indeks tjelesne mase, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein, eGFR – procjenjen brzina glomerularne filtracije, ACR – omjer urinarni albumin/kreatinin

Tablica 4.29. Recesivni multivarijatni logističko-regresijski modeli asocijacije hipertenzije s genotipovima polimorfizma -11377 C>G i fenotipskim i kliničkim svojstvima

Varijabla	Genotip	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
		Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G
ADIPOQ SNP -11377 C>G	CC+CG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	GG	1,003	0,370	2,716	0,916	0,309	2,711	1,162	0,393	3,437	1,265	0,423	3,784	1,283	0,429	3,835
Dob					**1,061**	**1,037**	**1,086**	**1,043**	**1,013**	**1,075**	**1,049**	**1,016**	**1,083**	**1,047**	**1,013**	**1,082**
Ženski spol					0,781	0,398	1,533	0,719	0,327	1,581	0,580	0,226	1,487	0,550	0,210	1,441
ITM								**1,110**	**1,013**	**1,216**	**1,108**	**1,007**	**1,218**	**1,109**	**1,007**	**1,221**
Opseg struka								0,996	0,966	1,028	0,998	0,966	1,030	0,998	0,966	1,031
HOMA-IR								1,090	0,885	1,342	1,090	0,881	1,348	1,097	0,886	1,359
HDL kolesterol								1,637	0,507	5,288	1,183	0,350	4,000	1,105	0,318	3,837
LDL kolesterol								0,886	0,597	1,315	0,813	0,544	1,216	0,815	0,544	1,219
Trigliceridi								1,206	0,715	2,035	1,196	0,701	2,041	1,234	0,713	2,135
CRP								0,988	0,943	1,035	0,985	0,939	1,033	0,985	0,938	1,034
eGFR								0,997	0,975	1,020	1,011	0,979	1,044	1,010	0,978	1,043
ACR								1,013	0,992	1,035	1,011	0,991	1,032	1,011	0,991	1,031
log leptin											1,368	0,534	3,503	1,332	0,518	3,423
log adiponektin														1,404	0,410	4,814

ITM – indeks tjelesne mase, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein, eGFR – procjenjen brzina glomerularne filtracije, ACR – omjer urinarni albumin/kreatinin

Tablica 4.30. Dominantni multivarijatni logističko-regresijski modeli za asocijacije hipertenzije s genotipovima polimorfizma -11377 C>G i fenotipskim i kliničkim svojstvima.

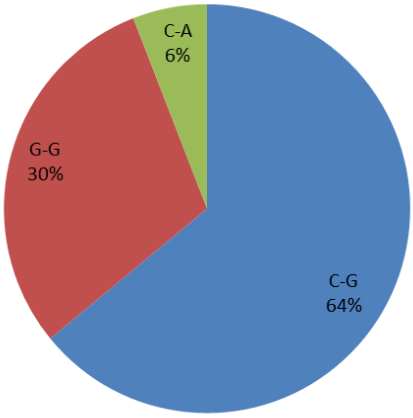
Varijabla	Genotip	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
		Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G
ADIPOQ SNP -11377 C>G	CC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	CG+GG	1,010	0,562	1,816	0,714	0,370	1,377	1,402	0,700	2,810	0,736	0,359	1,511	0,736	0,358	1,512
Dob					**1,063**	**1,038**	**1,089**	**1,053**	**1,022**	**1,084**	**1,050**	**1,017**	**1,085**	**1,048**	**1,015**	**1,083**
Ženski spol					0,772	0,392	1,521	0,666	0,301	1,475	0,547	0,210	1,422	0,520	0,196	1,380
BMI								**1,097**	**1,007**	**1,196**	**1,105**	**1,006**	**1,214**	**1,106**	**1,007**	**1,216**
Opseg struka								0,995	0,965	1,026	0,997	0,966	1,030	0,997	0,966	1,030
HOMA-IR								1,068	0,861	1,324	1,094	0,884	1,353	1,101	0,889	1,364
HDL kolesterol								1,998	0,736	5,427	1,191	0,350	4,054	1,112	0,317	3,893
LDL kolesterol								0,987	0,660	1,477	0,829	0,555	1,237	0,831	0,556	1,241
Trigliceridi								1,043	0,630	1,727	1,160	0,681	1,977	1,194	0,691	2,061
CRP								0,976	0,929	1,026	0,982	0,936	1,030	0,982	0,935	1,031
eGFR								0,996	0,975	1,018	1,010	0,979	1,043	1,009	0,978	1,042
ACR								1,010	0,989	1,031	1,011	0,991	1,031	1,010	0,991	1,031
log leptin											1,442	0,558	3,727	1,402	0,540	3,638
log adiponektin														1,390	0,402	4,808

ITM – indeks tjelesne mase, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein, eGFR – procjenjen brzina glomerularne filtracije, ACR – omjer urinarni albumin/kreatinin

Tablica 4.31. Kodominantni multivarijatni logističko-regresijski modeli za asocijacije hipertenzije s genotipovima polimorfizma -11391 G>A i fenotipskim i kliničkim svojstvima.

Varijabla		Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	Genotip	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G	Omjer šansi	95%D	95%G
ADIPOQ SNP -11391 G>A	GG	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	GA	1,392	0,587	3,299	2,026	0,764	5,373	2,117	0,771	5,816	2,251	0,815	6,214	2,203	0,794	6,110
Dob					**1,063**	**1,038**	**1,088**	**1,045**	**1,014**	**1,077**	**1,050**	**1,017**	**1,084**	**1,049**	**1,015**	**1,084**
Ženski spol					,727	0,366	1,447	0,678	0,306	1,503	0,542	0,210	1,403	0,525	0,199	1,382
BMI								**1,111**	**1,016**	**1,216**	**1,109**	**1,010**	**1,218**	**1,110**	**1,010**	**1,219**
Opseg struka								0,998	0,968	1,029	1,000	0,969	1,032	1,000	0,969	1,032
HOMA-IR								1,055	0,858	1,298	1,053	0,854	1,298	1,059	0,857	1,308
HDL kolesterol								1,587	0,492	5,122	1,129	0,333	3,828	1,076	0,309	3,753
LDL kolesterol								0,890	0,599	1,321	0,818	0,547	1,224	0,820	0,548	1,226
Trigliceridi								1,210	0,717	2,042	1,196	0,702	2,037	1,219	0,707	2,103
CRP								0,989	0,944	1,036	0,986	0,939	1,035	0,986	0,938	1,035
eGFR								0,996	0,974	1,019	1,010	0,978	1,043	1,009	0,977	1,042
ACR								1,014	0,993	1,035	1,012	0,992	1,033	1,012	0,991	1,032
log leptin											1,370	0,529	3,550	1,344	0,516	3,499
log adiponektin														1,256	0,361	4,370

ITM – indeks tjelesne mase, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein, eGFR – procjenjen brzina glomerularne filtracije, ACR – omjer urinarni albumin/kreatinin



Slika 4.19. Učestalost pojedinih haplotipova u cijeloj skupini.

Tablica 4.32. Logističko-regresijski modeli za procjenu povezanosti haplotipova i hipertenzije.

Haplotip	Neprilagođeno		Model	
	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
C-G	1,00	---	1.00	---
G-G	1,06 (0,67-1,69)	0,88	0.89 (0.52 - 1.51)	0.66
C-A	1,37 (0,57-3,30)	0,50	2.04 (0.69 - 6.03)	0.20

4.5. Povezanost plazmatske koncentracije adiponektina i arterijskog tlaka i klinički korelati i mehanizam djelovanja adiponektina.

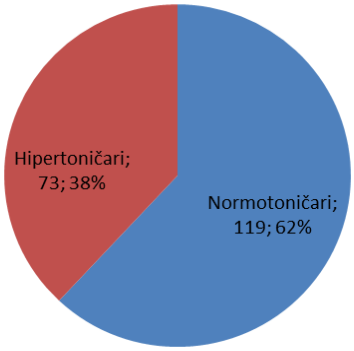
Kako bismo istražili povezanost plazmatske koncentracije s arterijskim tlakom podijelili smo ispitanike na normotoničare i hipertoničare (**Slika 4.20.**). Prevalencija hipertenzije u našoj skupini bila je 38%; 31,9% u žena i 41,1% u muškaraca. Nije bilo razlike u spolnoj raspodjeli normotoničara i hipertoničara, ali hipertoničari su bili stariji, deblji, imali su viši postotak pretilih, viši opseg struka i nižu eGFR, a nije bilo razlike u srčanoj frekvenciji (**Tablica 4.33.**). Hipertoničari su također imali više vrijednosti glukoze i inzulina u krvi s prosječno višim vrijednostima HOMA indeksa inzulinske rezistencije (**Tablica 4.34.**). Imali su i više trigliceride i ukupni kolesterol, ali samo na račun veće koncentracije LDL frakcije, te nešto više vrijednosti C-reaktivnog proteina, bez razlike u koncentracijama adiponektina i leptina (**Tablica 4.34.**). I nakon isključivanja netipičnih vrijednosti, nije bilo razlike u koncentraciji adiponektina između normotoničara i hipertoničara (**Slika 4.21.**).

Ispitanike smo potom podijelili po tercilima koncentracije adiponektina (prvi tercil – najniža, treći tercil – najviša koncentracija). Među ispitanicima u pojedinim tercilima nije bilo razlike u dobi, arterijskom tlaku, srčanoj frekvenciji i procjenjenoj brzini glomerularne filtracije, ali su ispitanici u najvišem tercilu imali značajno viši ITM od onih u najnižem tercilu, a sličan trend očitavao se i za opseg struka (**Tablica 4.35.**, **Slika 4.22.**). Nije bilo razlike između tercilima u glukozi i HOMA-IR, ali postojao je negativni trend u koncentraciji inzulina (p=0.054). Ispitanici se nisu razlikovali niti po koncentraciji ukupnog kolesterola niti po koncentraciji LDL frakcije, ali su ispitanici u najvišem i srednjem tercilu imali viši HDL-kolesterol, a ispitanici u trećem tercilu imali su nižu koncetraciju trigliceridа od onih u prvom tercilu. Također se ocrtavao i negativni trend u koncentraciji C-reaktivnog proteina (p=0.066), bez razlike u leptinu (**Tablica 4.36.**).

U cijeloj skupini ispitanika adiponektin je bio značajno pozitivno koreliran s HDL-kolesterolom, a negativno s ITM, opsegom struka, trigliceridom, C-reaktivnim proteinom i HOMA-IR (**Tablica 4.37.**). U normotoničara su vrijedile sve navedene korelacije osim one s HOMA-IR (**Tablica 4.38.**). U hipertoničara adiponektin je značajno pozitivno korelirao s dobi i HDL-kolesterolom (**Tablica 4.39.**). Korelacije adiponektina i sistoličkog, odnosno dijastoličkog tlaka nisu bile značajne ni u normotoničara ni u hipertoničara (**Slike 4.23.** i **4.24.**). Ostale korelacije prikazane su u matricama u **Tablicama 4.37.-39.**

Kako bismo istražili mehanizam djelovanja adiponektina na arterijski tlak i nastanak hipertenzije ispitali smo predloženi model mehanizma opisan na **Slici 2.12.** u poglavlju

2.**3.6.1.** Koristili smo kliničke korelate (biljege) tri procesa za koja se smatra da su povezani s utjecajem adiponektina na tlak: 1. upala (korelati: a. C-reaktivni protein, b. leukociti), 2. aktivacija simpatikusa (korelat: srčana frekvencija) i 3. krutost arterija (korelat: tlak pulsa). Kako je ovo asocijacijska presječna studija nismo mogli pratiti točan vremenski slijed, a korelacija ne implicira uzročnost, te su, za razliku od teorijskog modela u poglavlju 2.**3.6.1.**, u ovim modelima sve strelice dvosmjerne (ne sude radi li se o uzroku ili posljedici). S lijeve strane korelata na **Slikama 4.25.** i **4.26.** nalaze se koeficijenti korelacije adiponektina i pojedinih korelata, a s desne strane su korelacije korelata i sistoličkog tlaka. Adiponektin je u normotoničara bio značajno negativno koreliran s CRP-om, dok je sistolički tlak bio negativno koreliran s leukocitima, a pozitivno s tlakom pulsa (**Slika 4.25.**). U hipertoničara, između adiponektina i korelata nije postojala značajna korelacija, a sistolički tlak bio je značajno pozitivno koreliran s C-reaktivnim proteinom i tlakom pulsa (**Slika 4.26.**). Da bismo mogli zaključivati o nezavisnim asocijacijama, napravili smo multiple linearne modele utjecaja svih korelata na koncentraciju adiponektina i sistolički tlak (**Tablice 4.40.** i **4.41.**). Važno je napomenuti da je u normotoničara adiponektin bio nezavisno negativno povezan s muškim spolom, a pozitivno s HDL-kolesterolom i procjenjenom glomerularnom filtracijom. U hipertoničara je, između ostalog, adiponektin bio značajno negativno povezan s C-reaktivnim proteinom i tlakom pulsa, dok nije bilo veze sa srčanom frekvencijom i drugim biljegom upale, leukocitima (**Tablica 4.40.**). U normotoničara je jedini značajan prediktor bio tlak pulsa, a u hipertoničara još dodatno i dob (**Tablica 4.41.**). Adiponektin nije bio ni izravno nezavisno povezan sa sistoličkim tlakom (nije prikazano).



Slika 4.20. Prikaz svih ispitanika podijeljenih na normotoničare i hipertoničare.

Tablica 4.33. Antropometrijske i kliničke značajke normotoničara i hipertoničara.

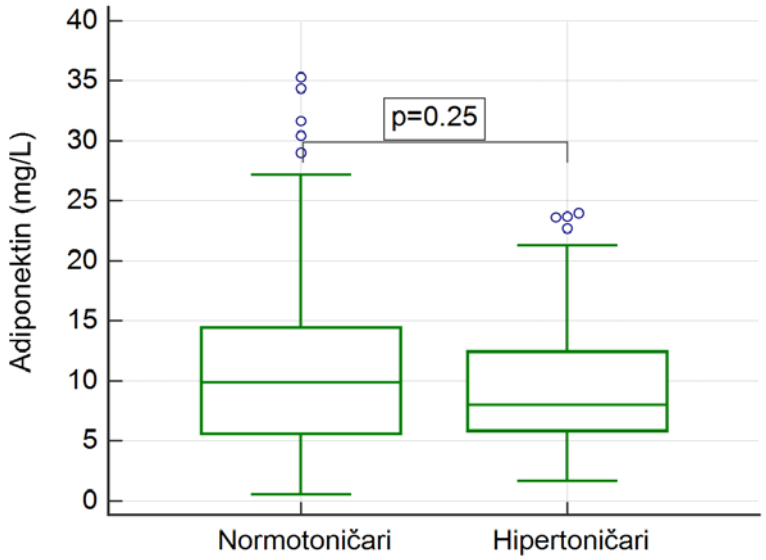
Parametar	Normotoničari		Hipertoničari		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Ženski spol **(N, %)**	81 (68,1)		43 (58,9)		0,197
Dob **(godine)**	39 (14)	39 (27-47)	51 (15)	52 (41-62)	<0,001
ITM **(kg/m^2)**	25,7 (5,1)	25,2 (22,1-28,3)	29,1 (4,3)	29,2 (26,7-31,6)	<0,001
Kategorije ITM-a **(N, %)**					
<21 kg/m^2	17 (14,3)		4 (5,6)		<0,001
21-25 kg/m^2	40 (33,6)		10 (13,9)		
>25 kg/m^2	62 (52,1)		58 (80,6)		
ITM > 30 kg/m^2 **(N, %)**	21 (17,6)		29 (39,7)		<0,001
Opseg struka **(cm)**	86 (13)	84 (77-94)	93 (20)	96 (88-103)	<0,001
Sistolički tlak **(mm Hg)**	120 (10)	121 (113-127)	157 (19)	150 (144-164)	<0,001
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	74 (9)	75 (69-80)	91 (12)	90 (83-100)	<0,001
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	90 (6)	90 (86-96)	113 (11)	109 (103-120)	<0,001
Tlak pulsa **(mm Hg)**	46 (10)	45 (38-52)	66 (20)	63 (56-72)	<0,001
Srčana frekvencija **(/min)**	79 (11)	77 (71-85)	78 (12)	77 (70-84)	0,655
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	83 (18)	81 (74-90)	78 (12)	75 (69-86)	0,012

IKR – interkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomeruralne filtracije

Tablica 4.34. Osnovni laboratorijski parametri normotoničara i hipertoničara.

Parametar	Normotoničari		Hipertoničari		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Glukoza (mmol/L)	5,2 (0,8)	5,1 (4,7-5,4)	5,9 (1,9)	5,5 (5,1-6,1)	<0,001
Inzulin	9,3 (6,5)	7,3 (5,6-11,2)	11,9 (7,2)	10,2 (6,6-14,0)	0,001
HOMA-IR	2,16 (1,56)	1,64 (1,22-2,62)	3,13 (2,12)	2,54 (1,61-3,61)	<0,001
Inzulinska rezistencija (N, %)	32 (27,1)		39 (53,4)		<0,001
Kolesterol (mmol/L)	5,3 (1,2)	5,3 (4,5-6,1)	5,8 (1,2)	5,8 (5,1-6,7)	0,002
HDL kolesterol (mmol/L)	1,6 (0,3)	1,5 (1,3-1,8)	1,6 (0,4)	1,5 (1,3-1,8)	0,801
LDL kolesterol (mmol/L)	3,2 (1,0)	3,2 (2,4-3,8)	3,5 (1,0)	3,6 (2,9-4,2)	0,017
Trigliceridi (mmol/L)	1,3 (0,8)	1,0 (0,8-1,5)	1,6 (0,7)	1,4 (1,1-2,1)	<0,001
CRP	3,1 (8,3)	1,3 (0,5-2,7)	3,2 (6,4)	1,9 (0,9-3,4)	0,026
Adiponektin (mg/L)	11,42 (7,89)	9,90 (5,64-14,45)	10,52 (8,58)	8,12 (5,89-12,71)	0,286
Leptin (μg/L)	10,71 (9,74)	8,93 (3,70-14,41)	11,38 (10,21)	8,95 (4,01-17,00)	0,608

IKR – interkvartilni raspon, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein.

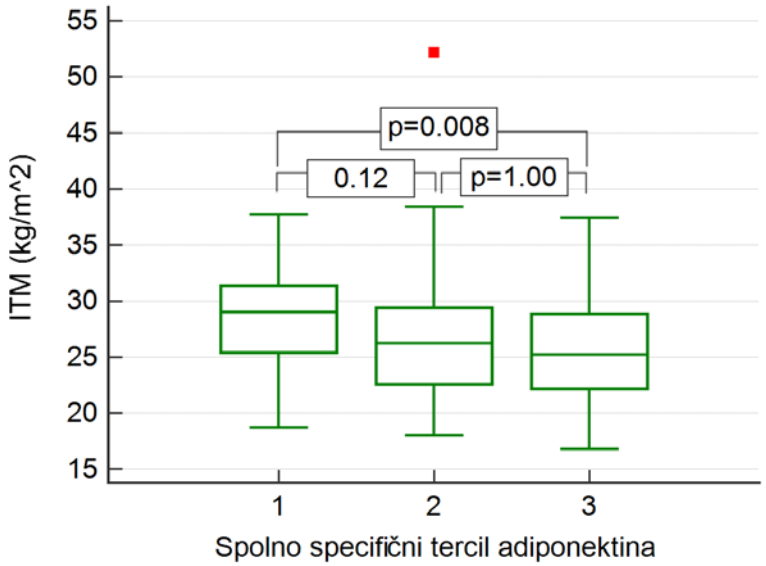


Slika 4.21. Usporedba koncentracije adiponektina u normotoničara i hipertoničara.

Tablica 4.35. Antropološke i kliničke značajke ispitanika podijenih po tercilima koncentracije adiponektina.

Parametar	Tercil adiponektina						P
	Prvi		Drugi		Treći		
Dob **(godine)**	39	31 - 47	47	33 – 57	45	27 – 54	0,117
ITM **(kg/m^2)**	29,0	25,5–31,3	26,3	22,6-29,4	25,2	22,1-28,9	0,009[b]
Opseg struka **(cm)**	92	84 – 98	91	81 – 99	85	76 - 95	0,050
Sistolički tlak **(mm Hg)**	127	118 - 144	130	120–148	124	117–144	0,396
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	77	73 – 86	82	74 – 90	79	71 – 85	0,308
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	97	88 – 105	97	97 – 107	95	86 – 105	0,381
Tlak pulsa **(mm Hg)**	48	40 – 61	52	43 – 64	50	40 – 60	0,302
Srčana frekvencija **(/min)**	79	72 – 85	76	70 – 83	77	70 – 87	0,290
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	77	72 – 88	77	70 – 86	80	72 - 91	0,485

IKR – interkvartilni raspon, ITM- indeks tjelesne mase, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije. Usporedbe: a) 1 vs. 2, b) 1 vs. 3, c) 2 vs. 3



Slika 4.22. Usporedba ITM po spolno specifičnim tercilima adiponektina.

Tablica 4.36. Laboratorijski parametri ispitanika podijenih po tercilima koncentracije adiponektina.

Parametar	Tercil adiponektina						P
	Prvi		Drugi		Treći		
Glukoza (mmol/L)	5,3	4,9 – 5,5	5,2	4,9 – 5,8	5,2	4,7 – 5,7	0,867
Inzulin	8,9	6,6 – 15,2	8,7	6,0 – 13,1	7,1	5,3 – 11,2	0,054
HOMA-IR	2,13	1,49 – 3,54	1,98	1,31 - 3,14	1,62	1,15 – 2,69	0,140
Inzulinska rezistencija (N, %)	24 (39,3)		23 (37,1)		22 (36,1)		0,929
Kolesterol (mmol/L)	5,6	4,8 – 6,3	5,4	4,3 – 6,3	5,6	4,8 – 6,2	0,847
HDL kolesterol (mmol/L)	1,4	1,2 – 1,6	1,5	1,4 – 1,8	1,7	1,4 – 1,9	<0,001[a,b]
LDL kolesterol (mmol/L)	3,3	2,7 – 4,2	3,3	2,4 – 4,1	3,3	2,8 – 3,7	0,745
Trigliceridi (mmol/L)	1,4	1,0 – 2,0	1,2	0,8 – 1,6	0,9	0,8 – 1,4	0,005[b]
CRP	1,9	1,0 – 3,0	1,6	0,6 – 3,4	1,0	0,4 – 2,8	0,066
Adiponektin (mg/L)	4,98	3,20 – 6,68	9,56	7,50 – 10,95	16,95	13,77 – 22,35	<0,001[a,b,c]
Leptin (μg/L)	10,40	4,01 – 17,67	9,15	3,60 – 14,10	7,90	3,80 – 13,80	0,464

IKR – interkvartilni raspon, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoproteini visoke gustoće, LDL – lipoproteini niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein. Usporedbe: a) 1 vs. 2, b) 1 vs. 3, c) 2 vs. 3

Tablica 4.37. Matrica korelacija adiponektina i nekih važnijih varijabli u cijeloj skupini ispitanika. Masno su označeni značajni koeficijenti korelacije.

Varijabla	Adiponektin	Leptin	Dob	Sistolički tlak	Dijastolički tlak	Srednji arterijski tlak	Tlak pulsa	Srčana frekvencija	ITM	Opseg struka	Kolesterol	LDL kolesterol	HDL kolesterol	Trigliceridi	CRP	HOMA-IR	eGFR
Adiponektin		0,121	0,031	-0,084	-0,030	-0,067	-0,054	-0,038	**-0,218**	**-0,267**	-0,025	-0,067	**0,351**	**-0,272**	**-0,148**	**-0,160**	0,076
Leptin	0,121		0,059	-0,050	0,077	0,018	-0,111	0,002	**0,279**	0,077	0,083	0,056	0,050	0,064	**0,170**	**0,184**	**-0,201**
Dob	0,031	0,059		**0,469**	**0,310**	**0,426**	**0,429**	-0,031	**0,435**	**0,531**	**0,429**	**0,360**	0,126	**0,363**	**0,279**	**0,300**	**-0,471**
Sistolički tlak	-0,084	-0,050	**0,469**		**0,675**	**0,906**	**0,802**	0,023	**0,379**	**0,417**	**0,207**	**0,155**	-0,004	**0,291**	**0,177**	**0,328**	**-0,190**
Dijastolički tlak	-0,030	0,077	**0,310**	**0,675**		**0,909**	**0,163**	0,094	**0,370**	**0,392**	**0,184**	**0,178**	-0,133	**0,304**	**0,221**	**0,288**	-0,134
Srednji art. tlak	-0,067	0,018	**0,426**	**0,906**	**0,909**		**0,502**	0,062	**0,416**	**0,442**	**0,224**	**0,191**	-0,079	**0,329**	**0,216**	**0,339**	**-0,185**
Tlak pulsa	-0,054	-0,111	**0,429**	**0,802**	**0,163**	**0,502**		-0,038	**0,253**	**0,308**	**0,146**	0,075	0,118	**0,180**	0,097	**0,256**	**-0,160**
Srčana frekv.	-0,038	0,002	-0,031	0,023	0,094	0,062	-0,038		0,030	-0,012	-0,043	-0,050	**-0,219**	0,130	0,048	**0,225**	0,043
ITM	**-0,218**	**0,279**	**0,435**	**0,379**	**0,370**	**0,416**	**0,253**	0,030		**0,756**	**0,341**	**0,339**	**-0,320**	**0,552**	**0,445**	**0,483**	**-0,331**
Opseg struka	**-0,267**	0,077	**0,531**	**0,417**	**0,392**	**0,442**	**0,308**	-0,012	**0,756**		**0,309**	**0,301**	**-0,306**	**0,546**	**0,345**	**0,480**	**-0,269**
Kolesterol	-0,025	0,083	**0,429**	**0,207**	**0,184**	**0,224**	**0,146**	-0,043	**0,341**	**0,309**		**0,941**	**0,247**	**0,468**	**0,161**	**0,218**	**-0,325**
LDL kolesterol	-0,067	0,056	**0,360**	**0,155**	**0,178**	**0,191**	0,075	-0,050	**0,339**	**0,301**	**0,941**		0,071	**0,375**	**0,181**	**0,176**	**-0,302**
HDL kolesterol	**0,351**	0,050	0,126	-0,004	-0,133	-0,079	0,118	**-0,219**	**-0,320**	**-0,306**	**0,247**	0,071		**-0,394**	**-0,253**	**-0,229**	-0,003
Trigliceridi	**-0,272**	0,064	**0,363**	**0,291**	**0,304**	**0,329**	**0,180**	0,130	**0,552**	**0,546**	**0,468**	**0,375**	**-0,394**		**0,309**	**0,501**	**-0,272**
CRP	**-0,148**	**0,170**	**0,279**	**0,177**	**0,221**	**0,216**	0,097	0,048	**0,445**	**0,345**	**0,161**	**0,181**	**-0,253**	**0,309**		**0,222**	**-0,225**
HOMA-IR	**-0,160**	**0,184**	**0,300**	**0,328**	**0,288**	**0,339**	**0,256**	**0,225**	**0,483**	**0,480**	**0,218**	**0,176**	**-0,229**	**0,501**	**0,222**		**-0,217**
eGFR	0,076	**-0,201**	**-0,471**	**-0,190**	-0,134	**-0,185**	**-0,160**	0,043	**-0,331**	**-0,269**	**-0,325**	**-0,302**	-0,003	**-0,272**	**-0,225**	**-0,217**	

ITM–indeks tjelesne mase, LDL–lipoproteini niske gustoće, HDL–lipoproteini visoke gustoće, CRP – C-reaktivni protein, HOMA-IR–indeks inzulinske rezistencije, eGFR–procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.38. Matrica korelacija nekih najvažnijih varijabli s adiponektinom u normotenzivnih kontrola. Masno su označeni značajni koeficijenti korelacije.

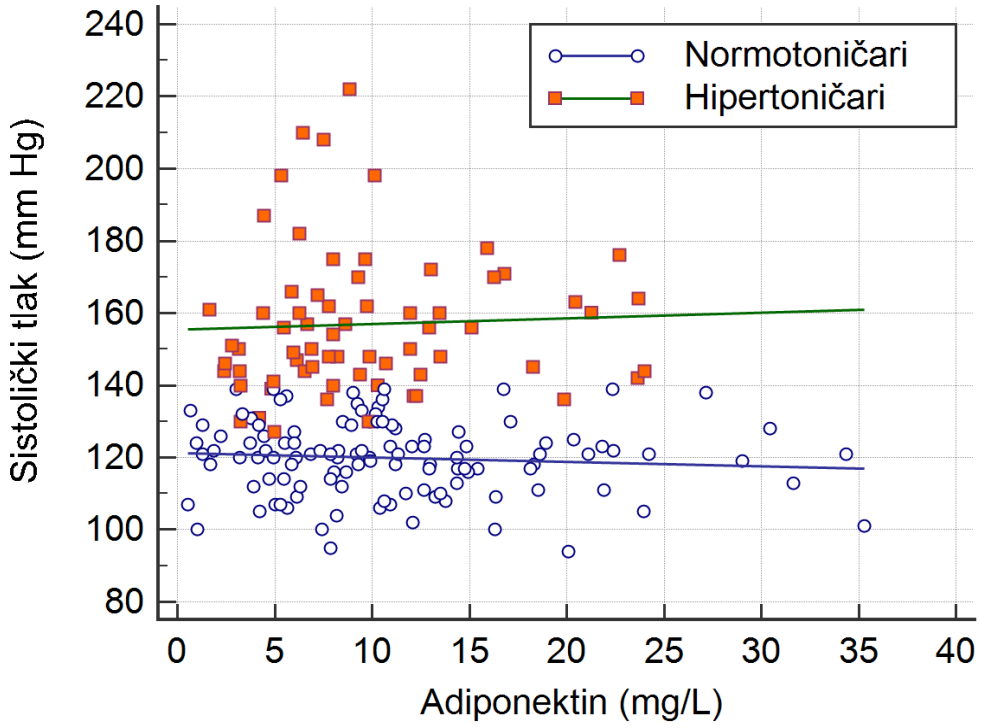
Varijabla	Adiponektin	Leptin	Dob	Sistolički tlak	Dijastolički tlak	Srednji arterijski tlak	Tlak pulsa	Srčana frekvencija	ITM	Opseg struka	Kolesterol	LDL kolesterol	HDL kolesterol	Trigliceridi	CRP	HOMA-IR	eGFR
Adiponektin		0,101	-0,065	-0,109	-0,024	-0,068	-0,055	-0,135	**-0,229**	**-0,363**	0,007	-0,024	**0,375**	**-0,277**	**-0,190**	-0,166	0,120
Leptin	0,101		0,123	-0,159	0,067	-0,020	**-0,225**	-0,096	**0,305**	0,155	0,154	0,120	0,092	0,081	**0,185**	**0,255**	**-0,198**
Dob	-0,065	0,123		**0,188**	0,155	**0,206**	0,111	-0,097	**0,394**	**0,449**	**0,429**	**0,397**	0,077	**0,339**	**0,223**	0,127	**-0,484**
Sistolički tlak	-0,109	-0,159	**0,188**		**0,477**	**0,758**	**0,660**	0,094	0,115	**0,218**	0,060	0,067	-0,042	0,115	0,008	0,108	-0,081
Dijastolički tlak	-0,024	0,067	0,155	**0,477**		**0,920**	**-0,296**	0,113	**0,237**	**0,291**	0,023	0,066	**-0,220**	**0,200**	**0,211**	**0,195**	-0,158
Srednji art. tlak	-0,068	-0,020	**0,206**	**0,758**	**0,920**		0,068	0,120	**0,236**	**0,307**	0,069	0,101	-0,154	**0,191**	0,136	**0,186**	-0,163
Tlak pulsa	-0,055	**-0,225**	0,111	**0,660**	**-0,296**	0,068		0,031	-0,028	0,041	0,055	0,030	0,123	-0,017	-0,139	-0,005	0,031
Srčana frekv.	-0,135	-0,096	-0,097	0,094	0,113	0,120	0,031		0,027	0,008	-0,105	-0,095	**-0,280**	0,149	-0,015	**0,286**	0,062
ITM	**-0,229**	**0,305**	**0,394**	0,115	**0,237**	**0,236**	-0,028	0,027		**0,745**	**0,299**	**0,331**	**-0,339**	**0,462**	**0,413**	**0,406**	**-0,302**
Opseg struka	**-0,363**	0,155	**0,449**	**0,218**	**0,291**	**0,307**	0,041	0,008	**0,745**		**0,191**	**0,225**	**-0,406**	**0,464**	**0,315**	**0,412**	**-0,215**
Kolesterol	0,007	0,154	**0,429**	0,060	0,023	0,069	0,055	-0,105	**0,299**	**0,191**		**0,945**	**0,206**	**0,468**	0,161	**0,220**	**-0,364**
LDL kolesterol	-0,024	0,120	**0,397**	0,067	0,066	0,101	0,030	-0,095	**0,331**	**0,225**	**0,945**		0,025	**0,407**	**0,191**	**0,194**	**-0,351**
HDL kolesterol	**0,375**	0,092	0,077	-0,042	**-0,220**	-0,154	0,123	**-0,280**	**-0,339**	**-0,406**	**0,206**	0,025		**-0,448**	**-0,234**	**-0,281**	-0,062
Trigliceridi	**-0,277**	0,081	**0,339**	0,115	**0,200**	**0,191**	-0,017	0,149	**0,462**	**0,464**	**0,468**	**0,407**	**-0,448**		**0,286**	**0,515**	**-0,241**
CRP	**-0,190**	**0,185**	**0,223**	0,008	**0,211**	0,136	-0,139	-0,015	**0,413**	**0,315**	0,161	**0,191**	**-0,234**	**0,286**		0,169	**-0,212**
HOMA-IR	-0,166	**0,255**	0,127	0,108	**0,195**	**0,186**	-0,005	**0,286**	**0,406**	**0,412**	**0,220**	**0,194**	**-0,281**	**0,515**	0,169		**-0,199**
eGFR	0,120	**-0,198**	**-0,484**	-0,081	-0,158	-0,163	0,031	0,062	**-0,302**	**-0,215**	**-0,364**	**-0,351**	-0,062	**-0,241**	**-0,212**	**-0,199**	

ITM–indeks tjelesne mase, LDL–lipoproteini niske gustoće, HDL–lipoproteini visoke gustoće, CRP – C-reaktivni protein, HOMA-IR–indeks inzulinske rezistencije, eGFR–procjenjena brzina glomerularne filtracije.

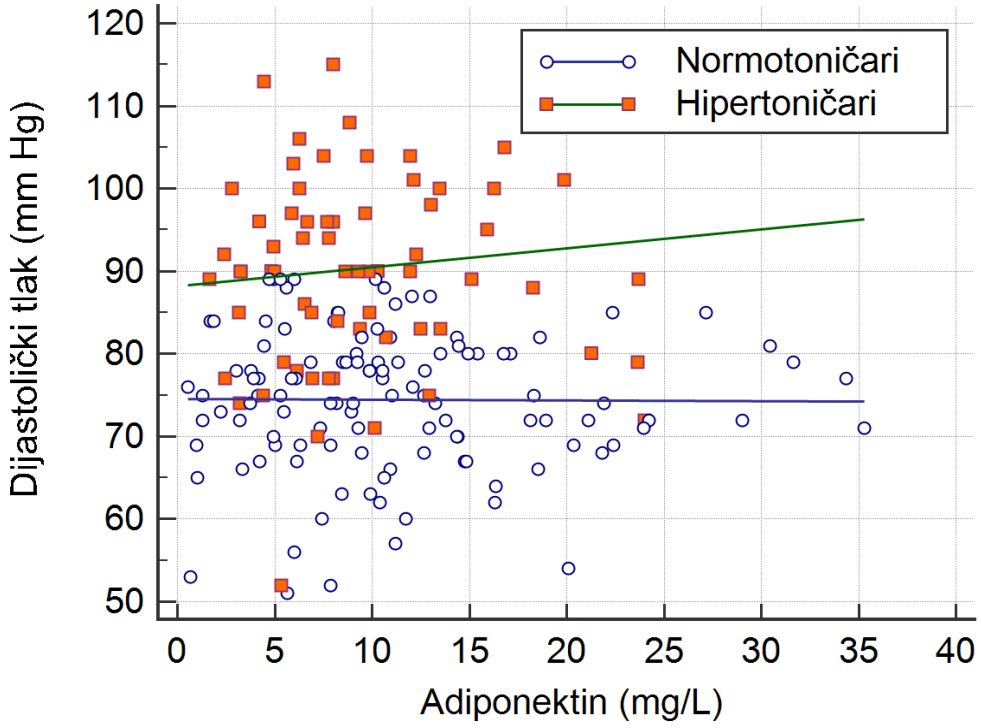
Tablica 4.39. Matrica korelacija adiponektina i nekih važnijih varijabli u skupini ispitanika s hipertenzijom. Masno su označeni značajni koeficijenti korelacije.

Varijabla	Adiponektin	Leptin	Dob	Sistolički tlak	Dijastolički tlak	Srednji arterijski tlak	Tlak pulsa	Srčana frekvencija	ITM	Opseg struka	Kolesterol	LDL kolesterol	HDL kolesterol	Trigliceridi	CRP	HOMA-IR	eGFR
Adiponektin		0,137	**0,282**	0,153	0,127	0,185	0,061	0,099	-0,203	-0,104	0,012	-0,100	**0,315**	-0,163	-0,029	-0,154	-0,064
Leptin	0,137		-0,127	-0,072	0,058	-0,006	-0,088	0,175	0,212	-0,051	-0,051	-0,078	-0,015	-0,007	0,121	0,028	-0,210
Dob	**0,282**	-0,127		**0,554**	0,107	**0,333**	**0,501**	0,065	0,174	**0,476**	**0,298**	0,184	**0,255**	0,159	**0,281**	**0,383**	**-0,354**
Sistolički tlak	0,153	-0,072	**0,554**		**0,329**	**0,665**	**0,726**	0,122	0,152	**0,330**	0,068	-0,032	0,143	0,049	**0,299**	**0,363**	-0,060
Dijastolički tlak	0,127	0,058	0,107	**0,329**		**0,887**	**-0,306**	0,208	0,181	0,229	0,114	0,131	-0,119	0,120	0,107	0,136	0,138
Srednji art. tlak	0,185	-0,006	**0,333**	**0,665**	**0,887**		0,062	**0,235**	0,191	**0,320**	0,141	0,084	0,006	0,158	**0,232**	**0,266**	0,121
Tlak pulsa	0,061	-0,088	**0,501**	**0,726**	**-0,306**	0,062		-0,002	0,057	0,180	0,040	-0,078	0,224	0,003	0,209	**0,331**	-0,193
Srčana frekv.	0,099	0,175	0,065	0,122	0,208	**0,235**	-0,002		0,067	-0,049	0,068	0,034	-0,146	0,166	0,173	0,205	0,006
ITM	-0,203	0,212	0,174	0,152	0,181	0,191	0,057	0,067		**0,675**	0,169	0,179	**-0,368**	**0,469**	**0,405**	**0,446**	-0,208
Opseg struka	-0,104	-0,051	**0,476**	**0,330**	0,229	**0,320**	0,180	-0,049	**0,675**		**0,313**	**0,286**	-0,167	**0,454**	**0,314**	**0,402**	**-0,245**
Kolesterol	0,012	-0,051	**0,298**	0,068	0,114	0,141	0,040	0,068	0,169	**0,313**		**0,923**	**0,355**	**0,382**	0,058	0,076	-0,151
LDL kolesterol	-0,100	-0,078	0,184	-0,032	0,131	0,084	-0,078	0,034	0,179	**0,286**	**0,923**		0,172	**0,244**	0,068	0,021	-0,144
HDL kolesterol	**0,315**	-0,015	**0,255**	0,143	-0,119	0,006	0,224	-0,146	**-0,368**	-0,167	**0,355**	0,172		**-0,359**	**-0,295**	-0,190	0,094
Trigliceridi	-0,163	-0,007	0,159	0,049	0,120	0,158	0,003	0,166	**0,469**	**0,454**	**0,382**	**0,244**	**-0,359**		**0,283**	**0,358**	-0,192
CRP	-0,029	0,121	**0,281**	**0,299**	0,107	**0,232**	0,209	0,173	**0,405**	**0,314**	0,058	0,068	**-0,295**	**0,283**		**0,269**	-0,160
HOMA-IR	-0,154	0,028	**0,383**	**0,363**	0,136	**0,266**	**0,331**	0,205	**0,446**	**0,402**	0,076	0,021	-0,190	**0,358**	**0,269**		-0,135
eGFR	-0,064	-0,210	**-0,354**	-0,060	0,138	0,121	-0,193	0,006	-0,208	**-0,245**	-0,151	-0,144	0,094	-0,192	-0,160	-0,135	

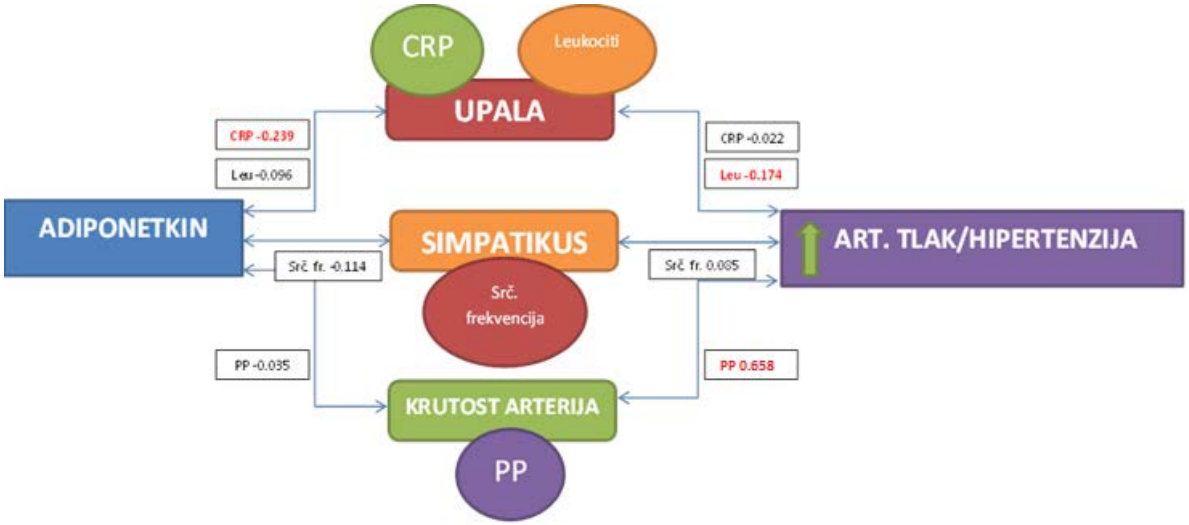
ITM–indeks tjelesne mase, LDL–lipoproteini niske gustoće, HDL–lipoproteini visoke gustoće, CRP – C-reaktivni protein, HOMA-IR–indeks inzulinske rezistencije, eGFR–procjenjena brzina glomerularne filtracije.



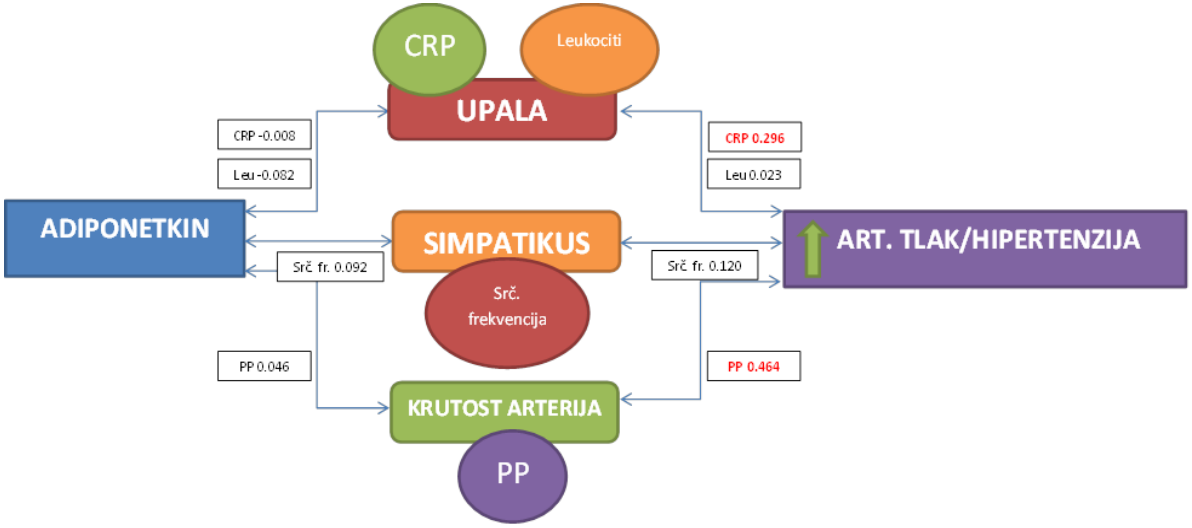
Slika 4.23. Korelacija plazmatske koncentracije adiponektina i sistoličkog tlaka u normotoničara (r=-0.109) i hipertoničara (r=0.153), oboje p>0.05



Slika 4.24. Korelacija plazmatske koncentracije adiponektina i dijastoličkog tlaka u normotoničara (r=-0.024) i hipertoničara (r=0.127), oboje p>0.05



Slika 4.25. Prikaz korelacija u modelu mehanizma utjecaja adiponektina na arterijski tlak u normotoničara. Značajne korelacije pisane su masnim crvenim slovima CRP – C-reaktivni protein, PP – tlak pulsa, Leu – leukociti.



Slika 4.26. Prikaz korelacija u modelu mehanizma utjecaja adiponektina na arterijski tlak u hipertoničara. Značajne korelacije pisane su masnim crvenim slovima. CRP – C-reaktivni protein, PP – tlak pulsa, Leu – leukociti.

Tablica 4.40. Multivarijatna linearna regresija s log adiponektinom kao zavisnom varijablom.

Varijabla	Normotoničari		Hipertoničari	
	β	p	β	p
Muški spol	**-0.301**	**0.004**	**-0.294**	**0.005**
Dob	0.056	0.591	**0.384**	**0.007**
ITM	-0.116	0.237	-0.100	0.447
Sistolički tlak	0.170	0.146	0.288	0.137
Tlak pulsa	-0.199	0.100	**-0.350**	**0.063**
Srčana frekvencija	-0.045	0.633	0.093	0.407
HDL-kolesterol	**0.269**	**0.013**	**0.315**	**0.015**
LDL-kolesterol	-0.007	0.945	**-0.209**	**0.059**
HOMA-IR	-0.082	0.394	**-0.217**	**0.069**
CRP	0.068	0.454	**-0.241**	**0.044**
Leukociti	-0.015	0.879	0.173	0.134
eGFR	**0.204**	**0.031**	-0.115	0.315

ITM – indeks tjelesne mase, HDL-lipoprotein visoke gustoće, LDL-lipoprotein niske gustoće, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, CRP-C-reaktivni protein, eGFR-procjenjena brzina glomerularne filtracije.

Tablica 4.41. Multivarijatna linearna regresija sa sistoličkim tlakom kao zavisnom varijablom.

Varijabla	Normotoničari		Hipertoničari	
	β	p	β	p
Muški spol	0.059	0.502	0.026	0.710
Dob	0.093	0.288	**0.203**	**0.028**
ITM	0.103	0.214	0.102	0.253
Tlak pulsa	**0.620**	**0.000**	**0.728**	**0.000**
Srčana frekvencija	0.071	0.365	0.106	0.167
HDL-kolesterol	-0.037	0.687	0.009	0.915
LDL-kolesterol	0.053	0.519	0.018	0.806
HOMA-IR	-0.040	0.629	0.012	0.885
CRP	0.098	0.204	-0.033	0.683
Leukociti	0.027	0.747	0.061	0.433
eGFR	-0.035	0.658	0.120	0.116

ITM – indeks tjelesne mase, HDL-lipoprotein visoke gustoće, LDL-lipoprotein niske gustoće, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, CRP-C-reaktivni protein, eGFR-procjenjena brzina glomerularne filtracije.

4.6. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s inzulinskom rezistencijom

U **Tablici 4.42.** prikazana je usporedba inzulin osjetljivih i inzulin rezistentnih ispitanika koristeći HOMA-IR>2,5 kao kriterij inzulinske rezistencije (**Slika 4.27.**). Nije bilo razlike u spolnoj raspodjeli, ali inzulin rezistentni ispitanici bili su stariji, imali su viši ITM i proporciju pretilosti (43,7% naspram 15,8%), kao i opseg struka te sve vrijednosti arterijskog tlaka te značajno veću proporciju hipertoničara (54,9% naspram 28,3%). Također, inzulin rezistentni ispitanici imali su višu srčanu frekvenciju i nižu procjenjenu brzinu glomerularne filtracije. Inzulin rezistentni su očekivano imali višu plazmatsku koncentraciju glukoze i inzulina kao i trigliceride i ukupni kolesterol na račun LDL frakcije. Inzulin rezistentni ispitanici imali su više vrijednosti C-reaktivnog proteina, bez razlike u koncentraciji adiponektina i leptina (**Tablica 4.43.**).

Adiponektin je bio značajno koreliran s HOMA-IR u cijeloj skupini (r= -0.160), a ta značajnost održala se i nakon isključivanja netipičnih vrijednosti adiponektina (p=0.06) (**Tablica 4.40.**, **Slika 4.28.**). U multivarijatnoj linearnoj analizi, log adiponektin je bio granično značajno negativno povezan s HOMA-IR u cijeloj skupini (p=0,059) i u osoba s genotipom -11391 G/G (p=0,06) (**Tablica 4.44.**).

Oba polimorizma bila su u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži i u osjetljivih na inzulin i u inzulin rezistentnih (p>0,05).

Genotip -11377 C/C bio je najzastupljeniji i u skupini inzulin osjetljivih (51%) i inzulin rezistentnih (47%). Postojala je i značajna razlika u raspodjeli genotipova između tih dviju skupina, većinom na račun genotipa -11377 G/G koji je u skupini inzulin osjetljivih imao prevalenciju od 13%, a u inzulin rezistetnih 4% (p=0,07). Nije postojala razlika u učestalosti minor alela između tih dviju skupina (31% naspram 29%) (p=0,74) (**Tablica 4.45.**)

Genotip -11391 G/A bio je zastupljen u 12% svih ispitanika te u granično značajno više inzulin rezistentnih (17%), nego inzulin osjetljivih ispitanika (9%) (p=0,075). Minor alel A bio je zastupljen u 12% ispitanika dvostruko više inzulin rezistentnih (9%), nego inzulin osjetjivih ispitanika (4%) što ipak nije bilo statistički značajno (p=0,085) (**Tablica 4.46.**).

Logističkom regresijom ispitali smo nezavisnu povezanost genotipova i alela polimorizama -11377 C>G i -11391 G>A. Modeli su prilagođeni za dob, spol, ITM, opseg struka, hipertenziju, ukupni kolesterol, trigliceride i CRP. U općem kodominantnom modelu omjer šansi povezanosti recesivnih homozigota u odnosu na dominantne homozigote bio je 0,34 (95% interval pouzdanosti 0,08-1,41) i nije bio značajan. U dominantnom modelu omjer šansi agregiranih heterozigota i recesivnih homozigota iznosio je 1,08 (95% interval pouzdanosti

0,54-2,17) i također nije bio značajan. Inzulinska rezistencija bila je granično značajno povezana s recesivnim modelom nasljeđivanja na način da je recesivni homozigot imao 71% manje šanse za razvoj inzulinske rezistencije u odnosu na agregirane dominantne homozigote i heterozigote (p=0,058). U overdominantnom ili superdominantnom modelu nije zapažena heterozigotna prednost (p=0,19), a omjer šansi za svaki minor alel u aditivnom modelu također nije bio značajan (p=0,50) (**Tablica 4.47.**)

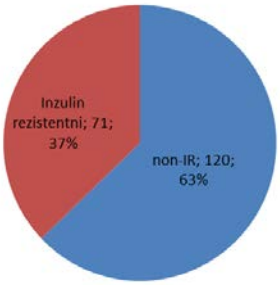
Zbog nepostojanja recesivnih homozigota u našoj populaciji za drugi polimorizam učinjen je samo opći kodominanti model. U osnovnom neprilagođenm modelu heterozigot je bio povezan s >dvostrukim omjerom šansi za inzulinsku rezistenciju (2,20, 95% omjer šansi 0,93-5,22) što je bilo granično statistički značajno (p=0,07). Nakon prilagodbe povezanost je bila još jača te je heterozigot bio povezan sa četverostruko većim omjerom šansi za inzulinsku rezistenciju u odnosu na dominantnog homozigota (4,11, 95% interval pouzdanosti 1,37-12,34) (**Tablica 4.48.**)

Analiza haplotipova pokazala je da u neprilagođenom modelu nije bilo povezanosti (p=0,09), ali je nakon prilagodbe za ostale čimbenike rizika navedene u prošlim modelima haplotip -11377 C - -11391 A bio povezan sa četiri puta većim omjerom šansi za inzulinsku rezistenciju u usporedbi s najčeščim haplotipom -11377 C - -11391 G (4,01, 95% interval pouzdanosti 1,31-12,28). Pobliža analiza interakcija pokazala je da je povezanost značajna samo u žena (3,79, 95% interval pouzdanosti 1,13-12,66 naspram 3,90, 95% interval pouzdanosti 0,27-57,12) (**Tablica 4.49.**)

Tablica 4.42. Antropometrijski i klinički pokazatelji ispitanika podijeljenih po kriteriju inzulinske rezistencije.

Parametar	Inzulin osjetljivi		Inzulin rezistentni		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Ženski spol **(N, %)**	80 (66,7)		44 (62,0)		0,511
Dob **(godine)**	40 (13)	40 (29-47)	49 (16)	52 (33-62)	<0,001
ITM **(kg/m^2)**	25,6 (4,7)	25,5 (22,1-28,4)	29,5 (4,8)	29,5 (25,6-32,6)	<0,001
Kategorije ITM-a **(N, %)**					
<21 kg/m^2	17 (4,2)		3 (4,3)		0,003
21-25 kg/m^2	38 (31,7)		12 (17,1)		
>25 kg/m^2	65 (54,2)		55 (78,6)		
ITM > 30 kg/m^2 **(N, %)**	19 (15,8)		31 (43,7)		<0,001
Opseg struka **(cm)**	85 (12)	85 (77-93)	95 (21)	98 (88-108)	<0,001
Sistolički tlak **(mm Hg)**	128 (18)	124 (117-139)	145 (26)	143 (122-160)	<0,001
Dijastolički tlak **(mm Hg)**	78 (12)	78 (71-86)	85 (13)	82 (75-95)	0,002
Srednji arterijski tlak **(mm Hg)**	95 (12)	94 (86-103)	105 (16)	103 (93-117)	<0,001
Tlak pulsa **(mm Hg)**	49 (14)	48 (40-56)	60 (20)	56 (46-70)	<0,001
Srčana frekvencija **(/min)**	77 (11)	75 (69-84)	81 (11)	80 (73-87)	0,009
Hipertoničari **(N, %)**	34 (28,3)		39 (54,9)		<0,001
eGFR **(mL/min/1,73 m^2)**	83 (18)	81 (74-90)	78 (13)	76 (69-80)	0,008

IKR – interkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase, eGR – procjenjena brzina glomerularne iltracije

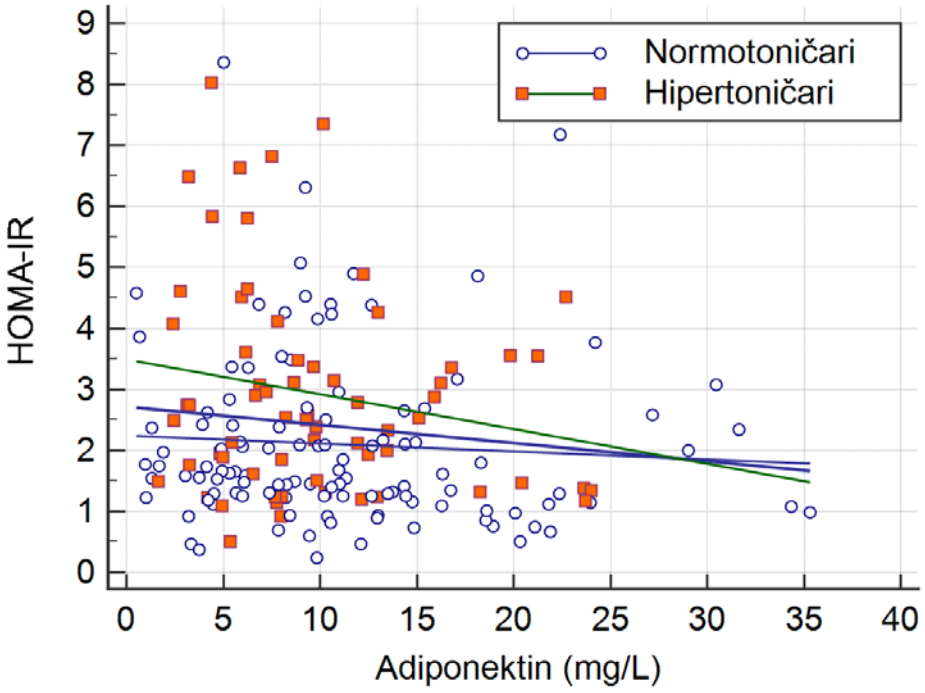


Slika 4.27. Podjela ispitanika po kriteriju inzulinske rezistencije.

Tablica 4.43. Osnovni laboratorijski parametri ispitanika podijeljenih po kriteriju inzulinske rezistencije.

Parametar	Inzulin osjetljivi		Inzulin rezistentni		P
	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	Sr. vr. (s.d.)	Medijan (IKR)	
Glukoza (mmol/L)	5,0 (0,5)	5,0 (4,7-5,3)	6,1 (2,0)	5,8 (5,2-6,2)	<0,001
Inzulin	6,6 (2,2)	6,6 (5,1-8,4)	16,5 (7,5)	14,0 (11,5-18,7)	<0,001
HOMA-IR	1,47 (0,52)	1,44 (1,15-1,90)	4,32 (1,91)	3,61 (2,96-4,86)	<0,001
Kolesterol (mmol/L)	5,3 (1,1)	5,4 (4,7-6,0)	5,9 (1,3)	5,9 (5,0-6,8)	0,005
HDL kolesterol (mmol/L)	1,6 (0,3)	1,6 (1,3-1,8)	1,5 (0,4)	1,5 (1,3-1,8)	0,213
LDL kolesterol (mmol/L)	3,2 (0,9)	3,2 (2,5-3,8)	3,6 (1,1)	3,5 (2,7-4,2)	0,040
Trigliceridi (mmol/L)	1,2 (0,7)	1,0 (0,8-1,4)	1,7 (0,8)	1,5 (1,2-2,2)	<0,001
CRP	3,0 (6,7)	1,2 (0,6-2,8)	3,3 (9,1)	1,9 (1,0-3,4)	0,048
Adiponektin (mg/L)	11,21 (7,73)	9,85 (5,45-14,38)	10,87 (8,88)	9,00 (6,25-12,65)	0,604
Leptin (ug/L)	10,29 (9,77)	8,09 (3,40-14,58)	12,22 (10,05)	10,10 (5,50-16,90)	0,087

IKR – interkvartilni raspon, HOMA-IR – indeks inzulinske rezistencije, HDL – lipoprotein visoke gustoće, LDL – lipoprotein niske gustoće, CRP – C-reaktivni protein



Slika 4.28. Korelacija koncentracije adiponektina i HOMA-IR u cijeloj skupini (r= -0,140, p=0,06) (ljubičasti pravac), normotoničara i hipertoničara.

Tablica 4.44. Multivarijatna linearna analiza povezanosti HOMA-IR i koncentracije adiponektina u različitim genotipovima i diplotipovima.

Nezavisne varijable	Svi	-11377 C>G				-11391 G>A		C/C-G/G
		C/C	C/G	G/G	C/G+G/G	G/G	G/A	
Ženski spol	-0,050	-0,045	-0,011	-0,272	-0,070	-0,014	-0,318	0,068
Dob	**0,172**	0,175	0,172	-0,371	0,166	**0,237**	0,099	0,188
ITM	**0,254**	**0,270**	0,220	-0,480	0,197	**0,263**	-0,100	0,296
MAP	0,138	0,120	0,140	0,338	0,161	0,118	0,142	0,141
Kolesterol	0,010	-0,070	0,112	-0,186	0,064	0,038	-0,074	0,023
eGFR	-0,018	-0,080	0,021	-0,711	0,019	-0,009	-0,129	-0,163
log adiponektin	-0,140*	-0,132	-0,183	-0,245	-0,176	-0,150**	-0,373	-0,038

*p=0,059, **p=0,060, eGFR – procjenjena brzina glomerularne filtracije

Tablica 4.45. Raspodjela genotipova i alela polimorfizma -11377 C>G u cijeloj skupini, inzulin osjetljivim i inzulin rezistentnim ispitanicima.

Genotip/alel	Cijela skupina		Non-IR		IR		P
	N	%	N	%	N	%	
C/C	93	49	60	51	33	47	0,07
C/G	77	41	42	36	34	49	
G/G	18	10	15	13	3	4	
C	263	70	162	69	100	71	0,74
G	113	30	72	31	40	29	

non-IR – inzulin osjetljivi, IR – inzulin rezistentni

Tablica 4.46. Raspodjela genotipova i alela polimorfizma -11391 G>A u cijeloj skupini, normotoničarima i hipertoničarima.

Genotip/alel	Cijela skupina		Non-IR		IR		P
	N	%	N	%	N	%	
G/G	164	88	106	91	57	83	0,075
G/A	22	12	10	9	12	17	
A/A	0	0	0	0	0	0	
G	350	88	222	96	126	91	0,085
A	22	12	10	4	12	9	

non-IR – inzulin osjetljivi, IR – inzulin rezistentni

Tablica 4.47. Skraćeni prikaz logističko-regresijskih modela povezanosti polimorfizma -11377 C>G s inzulinskom rezistencijom.

Model	Genotip	Non-IR	IR	OR (95% CI)	P
Kodominantni	C/C	60 (51,3%)	33 (47,8%)	1,00	0,12
	C/G	42 (35,9%)	33 (47,8%)	1,36 (0,66-2,82)	
	G/G	15 (12,8%)	3 (4,3%)	0,34 (0,08-1,41)	
Dominantni	C/C	60 (51,3%)	33 (47,8%)	1,00	0,83
	C/G+G/G	57 (48,7%)	36 (52,2%)	1,08 (0,54-2,17)	
Recesivni	C/C+C/G	102 (87,2%)	66 (95,7%)	1,00	0,058
	G/G	15 (12,8%)	3 (4,3%)	**0,29 (0,07-1,17)**	
Overdominantni	C/C+G/G	75 (64,1%)	36 (52,2%)	1,00	0,19
	C/G	42 (35,9%)	33 (47,8%)	1,60 (0,80-3,24)	
Log-aditivni	---	---	---	0,83 (0,49-1,42)	0,50

non-IR – inzulin osjetljivi, IR – inzulin rezistentni

Tablica 4.48. Logističko-regresijski modeli za procjenu povezanosti polimorfizma -11391 G>A s inzulinskom rezistencijom.

Genotip	Neprilagođeno		Model	
	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
G/G	1,00	0,07	1,00	0,01
G/A	2,20 (0,93 – 5,22)		**4,11 (1,37 - 12,34)**	

OR – omjer šansi (odds ratio), 95% CI – 95% interval pouzdanosti

Tablica 4.49. Logističko-regresijski modeli za procjenu povezanosti haplotipova i inzulinske rezistencije.

Haplotip	Neprilagođeno		Model	
	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
C-G	1,00	---	1,00	---
G-G	0,99 (0,63 - 1,58)	0,74	0,95 (0,55 – 1,65)	0.86
C-A	2,11 (0,87 - 2,98)	0,09	**4,01 (1,31 – 12,28)**	0.016

OR – omjer šansi (odds ratio), 95% CI – 95% interval pouzdanosti

5. RASPRAVA

5.1. Međupopulacijska usporedba učestalosti ispitivanih polimorfizama

Studije povezanosti gena i čimbenika rizika za razvoj kompleksnih fenotipskih svojstava i mnogih bolesti pružaju nam značajan uvid u moguću genetičku osnovu tih entiteta kao i u plejadu kandidatskih gena koji pridonose njihovom nastanku. Populacije se ne razlikuju samo po prevalenciji tradicionalnih čimbenika rizika i različitih životnih navika, već i po genetičkoj strukturi. Različita genetička struktura dijelom je odgovorna za predispoziciju određenih populacija nekim kardiovaskularnim bolestima. Razlike u genetičkoj strukturi najbolje se očitavaju u mnogim studijama koje proučavaju isti fenotip, a imaju različite rezultate. Zato postoji potreba za opsežnim multinacionalnim metaanalizama koje imaju statističku snagu prikazati povezanost genotip-fenotip u različitim subpopulacijama. U ovom naporu za kvalitetnije rezultate asocijacijskih studija vrlo su bitne i analize međupopulacijskih razlika u učestalosti genotipova i alela pojedinih polimorfizama. Pretragom mrežnih baza znanstvenih radova nismo pronašli niti jednu sustavnu analizu učestalosti genotipova i alela polimorfizama -11377 C>G i -11391 G>A. Zato smo odlučili početi istraživanje sastavljanjem takve međupopulacijske analize čiji bi podaci mogli biti vrijedni u kasnijim metaanalizama.

U međupopulacijsku usporedbu uključili smo 20 populacija (N=25 583) za polimorfizam -11377 C>G i 15 populacija (N=18 543) za polimorfizam -11391 G>A. Učestalost minor alela G je 26,18%, bila je najniža u Talijana (20,28%), a najviša u Finaca (33,14%). Iako bi to isprva moglo implicirati gradijent sjever-jug, Mantelovim testom nisu dokazane korelacije u genetičkoj strukturi i geografskom položaju. Najniža učestalost recesivnog homozigota G/G bila je u ruralnih Indijaca (0,80%), a najviša u hrvatskoj populaciji u ovome radu (9,70%). Genetička struktura populacije u ovoj studiji (učestalost minor alela G polimorfizma -11377 C>G (30,0%) slična je onoj ostalih europskih populacija, a posebice češkoj (28,5%) i poljskoj (29,09%). Analiza genetičkih udaljenosti pokazala je da je hrvatska populacija bliska svim ispitivanim populacijama osim Fincima, Indijcima i, iznenađujuće, Talijanima. Zanimljivo, dok su Hrvati u ovom radu bili genetički bliski svim ostalim europskim populacijama, između Talijana s jedne strane i Čeha, Francuza, Nijemaca i Poljaka je postojala značajna genetička diferencijacija. Razlog može biti ili u veličini uzorka ili u načinu odabira talijanskih ispitanika, a zbog neznačajnih genetičkih razlika Hrvata i drugih europskih populacija, razlog vjerojatno nije u izboru ispitanika za ovaj rad. Dodatni

mogući razlog može biti utjecaj populacije iz studije Karmelić i sur. zbog agregacije populacija. Ipak, važno je napomenuti da su vrijednosti svih gentičkih udaljenosti bile niske što ukazuje na homogenu distribuciju alela općenito, a neke od razlika su vjerojatno posljedice malih uzoraka.

Slični rezultati bili su i za učestalost genotipova i alela polimorfizma -11391 G>A. Učestalost minor alela A bila je 10,11%, najniža u Afrikanaca (2,66%), a najviša u Indijaca (37,20%), a Mantelovim testom nije nađena geografska podloga genetičkim varijacijama. Genotip A/A bio je vrlo rijedak (1,55%). Zanimljivo je da, dok je populacija u ovoj studiji imala učestalost minor alela A sličnu ostalim europskim populacijama, populacija Hrvata iz studije Karmelić i sur. imala je drugu najvišu učestalost alela A (17,40%) iza Indije, a jedino te dvije populacije imale su učestalost veću od 10%. Kada se izbace te dvije atipične vrijednosti učestalost minor alela A bila je dvostruko niža, 0,73%, a genotipa A/A 8,37%. Po genetičkim udaljenostima hrvatska populacija bila je bliska svim populacijama osim Indijcima, Japanacima i Afrikanacima iz Južnoafričke Republike.

Usporedbom s referentnim populacijama na mrežnim bazama genetičkih podataka svjetskih populacija dobili smo još jednu potvrdu o adekvatnom odabiru i genetičkoj reprezentativnosti naše populacije. Učestalosti minor alela G, odnosno A u našoj skupini (30,5%, odnosno 5,9%) nije bila različita od učestalosti u CEU (30,3%, odnosno 8,7%; p=0,95, odnosno p=0,29), niti u EUR populaciji (28,1%, odnosno 7,4%; p=0,48, odnosno p=0,35) 1000 Genomes Project a isto je vrijedilo i za genotipove (sve p>0,05) (www.1000genomes.org). Populacija u studiji Karmelić i sur. nije bila u skladu s referentnim populacijama. Učestalost minor alela A (21,1%) u Karmelić i sur. bila je značajno veća nego u CEU populaciji (p=0,0002) i EUR populaciji (p<0,0001). Ovi podaci bacaju sumnju na reprezentativnost njihove populacije i ukazuju na mogući *sampling bias*, a mogu biti i rezultat slučajnosti kao posljedice malog uzorka.

Rezultati ove međupopulacijske usporedbe naglašavaju kako su različite populacije genetički vrlo heterogene i kako se na to treba misliti pri tumačenju rezultata asocijacijskih studija, ali također i prilikom izrade metaanaliza. Geografske razlike nisu objašnjavale genetičke razlike među ova dva polimorfizma gena za adiponektin. Zaključno, populacija u ovoj studiji bila je genetičkom strukturom slična ostalim europskim populacijama, kao i referentnoj EUR, a napose CEU populaciji što govori o adekvatnom uzorkovanju i reprezentativnosti ove populacije.

5.2. Povezanost koncentracije adiponektina s arterijskim tlakom, hipertenzijom i drugim fenotipskim obilježjima

Kardiovaskularne bolesti najčešći su uzrok smrti u Europi i Hrvatskoj, a pripisuje im se 29,6% smrti u svijetu što iznosi preko 15 milijuna ljudi godišnje. Ta brojka je dvostruko veća od broja umrlih od svih vrsta raka (250). Pretilost se smatra jednim od najvažnijih čimbenika rizika za kardiovaskularne bolesti. Prevalencija pretilosti u Europi kreće se od 4,0% do 28,3% u muškaraca i 6,2% do 36,5% u žena, a podaci za Hrvatsku su bliži gornjim vrijednostima ovih raspona (99,100,251). Povezanost pretilosti i kardiovaskularnih bolesti potaknula je istraživanja o ulozi masnog tkiva i njegovih produkata u patogenezi ovih bolesti. Adiponektin se još od otkrića spominje kao bitan zaštitni čimbenik u razvoju pretilosti (6). Brojne studije pokazale su kako ima antiaterogene i antidijabetičke učinke, a smatra se da sudjeluje u patogenezi hipertenzije povezane s pretilosti, inzulinske rezistencije i šećerne bolesti tipa 2, metaboličkog sindroma, kronične bubrežne bolesti i ateroskleroze (176,197,252). Nedavne studije pokazale su da adiponektin možda nije isključivo protektivan. Lindberg i sur. otkrili su da je viša adiponektinemija prediktivna za kardiovaskularnu smrtnost, a što je u skladu s tvrdnjama drugih autora da su više vrijednosti adiponektina povezane s višom smrtnosti (253–255). Ipak, značaj ovih pojedinačnih studija je upitan, jer su nedavne metaanalize pokazale da adiponektin nije nezavisno povezan s rizikom za cerebrovaskularnu bolest, a potencijalno je protektivan čimbenik u razvoju koronarne bolesti (256,257).

U našoj skupini ispitanika adiponektin je bio viši u žena, nego u muškaraca što je sukladno najvećem brojem studija (258–260). Zanimljivo je da ta razlika nastaje u pubertetu kada se koncentracija adiponektina u dječaka počinje smanjivati, a u djevojčica ostane nepromijenjena (261). To je u skladu s ispitivanjem u miševa te se smatra da je uzrok tome povećanje koncentracije androgena, poglavito testosterona, koje inhibira lučenje adiponektina iz 3T3 adipocita (262,263). Ispitanici s ITM<30 kg/m^2 imali su višu koncentraciju adiponektina od pretilih ispitanika, no takva razlika nije nađena kod podjele po kriteriju abdominalne pretilosti. Ipak, koncentracija adiponektina bila je značajno negativno korelirana s opsegom struka kao kontinuiranom varijablom. Takav odnos adiponektina i pretilosti sukladan je većini studija (264–267). Okauchi i sur. pronašli su i dinamiku negativne korelacije godišnjih promjena u koncentraciji adiponektina i ITM i opsega struka u velikoj prospektivnoj kohorti (268). Zanimljivo je ipak da kao ni u velikom istraživanju Kuo i sur. ITM nije bio nezavisni prediktor koncentracije adiponektina niti u normotoničara niti u

hipertoničara te se postavlja pitanje je li niža adiponektinemija u pretilih posljedica same pretilosti ili tek nekih metaboličkih poremećaja povezanih s pretilosti te u konačnici, je li ona nezavisni biljeg pretilosti ili samo popratna karakteristika (269).

Normotoničari i hipertoničari nisu se razlikovali u koncentraciji adiponektina. Takav rezultat nije u skladu s velikom metaanalizom Kima i sur. koja je uključila 48 studija (7). U toj metaanalizi pronađeno je da hipertoničari imaju za 1,64 mg/L niže koncentracije adiponektina od normotoničara, kao i to da porast koncentracije adiponektina od 1 mg/L smanjuje šanse za hipertenziju za 6%. Upitno je je li takav odnos adiponektina sa šansom za hipertenziju značajan samo do koncentracije od 8 mg/L ili vrijedi u cijelom rasponu. Nakon dodatne analize naše skupine ispitanika poslije isključivanja netipičnih vrijednosti adiponektina, hipertoničari su imali za 1,41 mg/L niže vrijednosti adiponektina, što je bliže rezultatima metaanalize, ali ipak nije bilo značajno (p=0,15). Ipak, u više studija uključenih u metaanlizu nije pronađena povezanost adiponektina, arterijskog tlaka i hipertenzije, a to je posebno konzistetno za pedijatrijske studije (7,236). Također, u nekim studijama povezanost je bila ovisna o spolu (270,271). Niti u našoj prijašnjoj studiji na preklapajućoj skupini ispitanika nismo pronašli takvu povezanost (10). Posebno je zanimljivo da su Mallamaci i sur. pronašli pozitivnu povezanost adiponektina i hipertenzije (272). Ti rezultati su još važniji kada se pobližim pogledom u rezultate metaanalize otkrije da, usprkos sumarnom rezultatu, više od četvrtine studija uključenih u metaanalizu Kima i sur. nije pronašlo povezanost adiponektina i hipertenzije (7). Različiti rezultati među studijama mogu se najvjerojatnije objasniti razlikama u populacijama, kao i činjenicom da su hipertoničari heterogena skupina što se uvijek treba uzeti u obzir pri interpretaciji i usporedbi rezultata. U usporedbi s ostalim studijama, naši ispitanici su bili mlađi i bez komorbiditeta što bi išlo u prilog činjenici da je u mlađoj dobi korelacija adiponektina s arterijskim tlakom slabija nego u starijih ispitanika, a posebno onih s konkomitantnim komorbiditetima u kojih viša koncentracija adiponektina može biti i rezultatat reaktivnog povećanja (10). Kako je naša populacija ruralna, moglo bi se pretpostaviti da se razlikuje od urbane u nekim životnim navikama koje bi mogle biti povezane s koncentracijom adiponektina, recimo tjelovježbom ili pušenjem. Milošević i sur. pronašli su da je ruralna populacije vjerojatno aktivnija od urbane, no u EH-UH studiji nisu pronađene razlike u karakteristikama urbane i ruralne populacije (Jelaković i sur., neobjavljeni podaci) (273). Ipak, kada bi takvih razlika i bilo, pitanje je kolika bi bila njihova značajnost, jer su rezultati o utjecaju fizičke aktivnosti na adiponektin kontrovezni i konfiliktni (274–276). Iako su neke studije opisale povezanost adiponektina i pušenja, u našoj prošloj studiji mi smo pronašli da ispitanici koji nikada nisu pušili imaju granično više

vrijednosti adiponektina od sadašnjih ili bivših pušača kao i da je log adiponektin negativno koreliran s pušačkim godinama (engl. *pack-years*, godine pušenja pomnožene s prosječnim brojem popušenih kutija cigareta), ali ta povezanost nije bila značajna nakon prilagodbe za potencijalne čimbenike zablude (10). Zbog izostanka značajne nezavisne povezanosti u citiranom radu, što implicira da pušenje nije izravno odgovorno za nižu koncentraciju adiponektina u pušača, i identične skupine ispitanika, u ovom radu nismo isključili pušače.

Jedna od najvažnijih prednosti ovoga rada je isključivanje svih ispitanika s kroničnom bubrežnom bolesti (eGFR<60 mL/min/1,73 m2). Naime, u različitim studijama dokazano je da je adiponektin bio pozitivno koreliran s eGFR, a u nekima nije bilo značajne povezanosti. Pacijenti s kroničnom bubrežnom bolesti u većini studija imaju nekoliko puta višu koncentraciju adiponektina (197). Ta povezanost adiponektina i eGFR ostaje jednaka i kada se oboje izraze kao kontinuirane varijable (npr., u studiji Doumatey i sur. adiponektin je bio i univarijatno i u multivarijatnoj linearnoj regresiji negativno povezan s eGFR) (277). Predloženi uzroci ovoga su višestruki. Neki autori postuliraju da se radi o povećanoj rezistenciji perifernih tkiva na adiponektin, kompenzatornom povišenju koncentracije adiponektina u subkliničkoj vaskularnoj bolesti ili reduciranoj eliminaciji adiponektina iz plazme bubrezima. Čini se ipak da se barem djelomično radi o perifernoj rezistenciji, a ne reduciranoj eliminaciji, jer su Martinez Cantarin i sur. nedavno objavili da je u perifernim krvnim stanicama, mišiću i masnom tkivu bolesnika u završnom stadiju kronične bubrežne bolesti povećana ekspresija glasničke RNA AdipoR1 što implicira perifernu rezistenciju, a u isto vrijeme je u masnom tkivu povećana i ekspresija glasničke RNK adiponektina i samog proteina što implicira povećanu produkciju (278). Nedavni rezultati koji govore u prilog goroj prognozi u koronarnih bolesnika s višim adiponektinom govore protiv logike mogućeg kompenzatornog povišenja. Iako se u zadnjih nekoliko godina ostvario značajan napredak u razumijevanju povezanosti adiponektina i patogeneze kronične bubrežne bolesti, taj odnos još uvijek nije dovoljno razjašnjen i naše je mišljenje da je u studijama koje imaju za cilj razjasniti povezanost adiponektina i kompleksnih fenotipskih svojstava uvijek uputno, ako ne isključiti, onda barem zasebno promatrati podskup ispitanika s normalnom bubrežnom funkcijom.

Kako bismo ispitali mehanizam utjecaja adiponektina na tlak konstruirali smo model koji u obzir uzima upalu, pretjeranu aktivnost simpatikusa i krutost arterija. Komponente modela predstavljene su kliničkim korelatima. Tlak pulsa u mnogo se studija koristi kao surogat brzini pulsnog vala, a potencijalno predstavlja i drugačiji aspekt krutosti, dok je

srčana frekvencija etablirani biljeg aktivnosti simpatikusa (225). C-reaktivni protein i leukociti biljezi su upale koji su ušli u svakodnevnu kliničku praksu. Adiponektin i sistolički tlak u normotoničara su bili korelirani s biljezima upale. To govori da su i hipertenzija i hipoadiponektinemija povezani s upalom, što je opisano u literaturi (224,227,228,279,280). Nije bilo drugih biljega koji bi bili korelirani s adiponektinom i sistoličkim tlakom. Iako je tlak pulsa bio visoko koreliran sa sistoličkim tlakom, u našoj skupini adiponektin nije bio povezan s krutosti kao u drugim studijama (229). Razlog za to može biti korištenje tlaka pulsa, a ne brzine pulsnog vala koji ne moraju biti biljezi istog aspekta krutosti, kao što to nisu niti augmentacijski indeks i brzina pulsnog vala (281–283). Različito ponašanje brzine pulsnog vala i augmentacijskog indeksa u određenoj populaciji pacijenata opisali smo u ranijem radu te je jedno od mogućih objašnjenja da se o takvoj razlici radi i ovdje (284). Adiponektin nije bio povezan sa srčanom frekvencijom, a nije bilo razlike u srčanoj frekvenciji između normotoničara i hipertoničara. Moguće je da te razlike nema, jer se kod nas radi o populaciji na početku kardiometaboličkog kontinuuma. U praćenju ovih ispitanika bit će zanimljivo odrediti povezanost dinamike promjene koncentracije adiponektina i ovih biljega.

U konačnici, čini se kako je povezanost adiponektina i arterijskog tlaka i hipertenzije vrlo kompleksna i nije jednaka u svim populacijama niti stadijima hipertenzije. Naši rezultati su posebno važni jer su uključili samo ispitanike s normalnom bubrežnom funkcijom, a ponudili smo i mehanicističko rješenje. Potrebne su daljnje studije o povezanosti adiponektina i arterijskog tlaka u različitih podskupina ispitanika.

5.3. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s ekspresijom adiponektina, arterijskim tlakom i hipertenzijom

Ovaj rad izlaže, prema našim saznanjima, prve rezultate o povezanosti polimorfizma -11377 C>G i -11391 G>A s arterijskom hipertenzijom u europskoj populaciji. Pretragom dostupne literature pronašli smo četiri rada koji procjenjuju povezanost polimorfizma navedenih polimorfizama s arterijskom hipertenzijom, no svi bila su na azijskoj ili arapskoj populaciji (Han Kinezima, Korejcima i Arapima). Daljnjom pretragom našli smo više radova koji različitim metodama i modelima opisuju odnos obaju polimorfizama s arterijskim tlakom kao kontinuiranom varijablom među kojima su i neki koji populacijskom strukturom

odgovaraju populaciji našeg rada. U konačnici, bitno je komentirati i radove koji opisuju utjecaj pojedinih genotipova na visinu plazmatske koncentracije adiponektina, jer to može biti posrednik u različitoj ekspresiji fenotipskih obilježja. Daljnja rasprava bit će koncipirana u tri dijela: komentar studija o povezanosti s arterijskom hipertenzijom, komentar studija o povezanosti s arterijskim tlakom i komentar studija o povezanosti s koncetracijom adiponektina.

U našoj skupini ispitanika nismo pronašli povezanost niti jednog od ispitivanih polimorfizama s hipertenzijom čija je prevalencija bila jednaka po svim genotipovima. Povezanost smo ispitivali logističkom regresijom prilagođenom za niz čimbenika rizika i potencijalnih čimbenika zabune (engl. *confounder*) kroz pet modela (kodominatni, dominantni, recesivni, log-aditivni i overdominanti) Također, niti haplotipovi nisu bili povezani s hipertenzijom.

Zadjali i sur. istraživali su povezanost polimorfizama -11377 C>G i -11391 G>A s komponentama i klasterima metaboličkog sindroma u porodičnoj pedigre studiji u Arapa (285). Polimorfizmi su kao i u našem radu bili u značajnoj neravnoteži povezanosti (D'>0,99). Njihova populacija bila je mlada (prosjek dobi 34,8 ± 0,9 godina) i relativno normalnog ITM (25,8 ± 0,3 kg/m^2) i razmjerno niskom prevalencijom hipertenzije (16,8%). U recesivnom modelu nije bilo povezanosti polimorfizma -11377 C>G (OR 0,63, 95% interval pouzdanosti 0,32-1,26) niti -11391 G>A (OR 1,17, 95% interval pouzdanosti 0,51-2,68) s hipertenzijom. Također, slično kao u našoj populaciji, među genotipovima nije bilo razlike u ITM, opsegu struka, sistoličkim i dijastoličkom tlaku i velikoj većini ostalih pokazatelja, dok su recesivni homozigoti G/G imali nešto viši HOMA-IR. Niža prevalencija hipertenzije može se objasniti mladom dobi, selekcijom ispitanika koji su se doimali zdravima, ali i općenito nižom prevalencijom hipertenzije u Arapa koja se u različitim studijama kreće u prosjeku od 25 do 30% (286–288). Za očekivati je da je genetička struktura u ovoj studiji i u našoj populaciji drukčija zbog različitog etniciteta i porodičnog pedigre dizajna (p za razliku u raspodjeli genotipova <0,001). Također, posebnost ove studije je selekcija kohorte arapske populacije iz Nizwe koja je geografski izolirana i ima vrlo malo doticaja s obližnjim populacijama. Iako to pridaje snagu za pedigre istraživanja kompleksnih bolesti, u ovom slučaju dovodi u pitanje mogućnost generalizacije njihovih rezultata.

U studiji Ong, Li i sur. koja je uključila 14 polimorfizama jednoga nukleotida gena za adiponektin, samo je polimorfizam -11377 C>G bio povezan s hipertenzijom i to na način da je u aditivnom modelu minor alel G dopriniosio 40% višem riziku za hipertenziju (OR 1,40 (95% interval pouzdanosti 1,11-1,77) (11). Razlika u dijastoličkom tlaku između

dominantnog i recesivnog homozigota bila je 1,3 mm Hg što ipak predstavlja vrlo malen učinak i sukladno je nekim novijim studijama analiza cijelogenomske povezanosti (289,290). Više je razlika koje mogu objasniti diskrepancije u našim i rezultatima Ong, Li i sur. Prvo i najvažnije, Ong, Li i sur. uključili su samo Han Kineze, a u našu populaciju sačinjavaju Europljani (Central European, CEU populacija). U svom radu sami autori napominju kako je izgledno da postoje etničke razlike u povezanosti različitih genetičkih varijanti s plazmatskom koncentracijom adiponektina, a takve razlike postoje i u visini arterijskog tlaka i prevalenciji hipertenzije (33,287). Naši ispitanici bili su relativno mladi (prosjek cijele skupine 43 ± 15 godina), normotoničari su bili prosječno 10, a hipertoničari 12 godina mlađi od normotoničara, odnosno hipertoničara u radu Ong, Li i sur. (11) Iako su genotipovi slučajno određeni začećem, rizik i prevalencija hipertenzije rastu s godinama te je nemoguće pretpostaviti tko će od ispitanika razviti hipertenziju u starijoj životnoj dobi, tj. moguće je da će se razlika između genotipova u prevalenciji hipertenzije pojaviti naknadno. Praćenjem naše kohorte moći ćemo vidjeti koliko će biti incidentne hipertenzije u životnoj dobi sličnoj ispitanicima Ong i sur. kada će rezultati biti usporedivi i kakav će tada biti odnos genotipova polimorfizama i hipertenzije. Čak 79,3% hipertoničara u studiji Ong i sur. bilo je na antihipertenzivima, a postojala je i značajna razlika u učestalosti uzimanja antihipertenziva na način da su recesivni homozigoti polimorfizma -11377 C>G češće bili na antihipertenzivima (17,3%) u usporedbi s dominantnim homozigotima (12,2%) i heterozigotima (16,1%). Iako su autori pokušali kompenzirati korekcijom arterijskog tlaka ispitanika na antihipertenzivima za +10/5 mm Hg, to predstavlja ozbiljan nedostatak studije i upozorava da njihove rezultate odnosa tlaka, koncentracije adiponektina i polimorfizama gena za adiponektin trebamo uzimati *cum grano salis*. Također, kako u radu nema podataka o kojim se lijekovima radi, a regresijske analize nisu prilagođene za uzimanje niti jedne skupine antihipertenziva, moguće je da je uzimanje terapije utjecalo i na neke druge metaboličke poremećaje, npr. inzulinsku rezistenciju. U našu studiju uključeni su samo novodijagnosticirani, incidentni hipertoničari koji nisu uzimali medikamentnu terapiju. To je vrlo važna prednost naše studije, jer isključuje mogućnost utjecaj terapije na vrijednosti tlaka i omogućuje točnu procjenu odnosa adiponektina i tlaka. Ova studija nije navela vrijednosti plazmatskog adiponektina pa se ne može zaključivati o različitoj ekspresiji po genotipovima niti o odnosu koncentracije s tlakom.

Kada se govori o etničkim razlikama kao podlozi različitih genotipsko-fenotipskih povezanosti, zanimljivo je da unatoč uzorku od 1616 ispitanika polimorfizam -11391 G>A za kojeg se smatra da je najsnažnije povezan s koncentracijom adiponektina nije uopće nađen u populaciji Han Kineza, što je još jedna činjenica koja ide u prilog hipotezi o etnički ovisnoj

učestalosti i učinku pojedinih polimorfizama. U prilog navedenoj hipotezi ide i činjenica da je u nedavnoj metaanalizi Chu i sur. nađena povezanost između nekih polimorfizama, uključujući i -11377 C>G i -11391 G>A, i šećerne bolesti tipa 2 u europskih, ali ne i u azijskih populacija (133). Sličan zaključak da je polimorfizam -11391 G>A rizični čimbenik za šećernu bolest tipa 2 samo u europskoj populaciji donijeli su i Gong i sur u ranijoj metaanlizi (132). Jiang i sur. podržavaju ovu hipotezu nadopunjujući otprije poznatu ideju da neki etnički specifični polimorfizmi predisponiraju nekim kompleksnim fenotipskim svojstvima u pojedinim populacijama, a u drugim populacijama ne (12). Chen i sur. sličan o etnicitetu ovisan učinak zapazili su za polimorfizam 118 A>G gena *OPRM1* koji utječe na susceptibilnost za ovisnost o alkoholu kod Azijata, ali ne i kod Europljana (291). O genetičkim razlikama među populacijama govori i međusobno vrlo različita genetička struktura ove i naše populacije (učestalost minor alela G 30,1% naspram 23,9%, p=0,009).

Jiang i sur. su potaknuti rezultatima Ong, Li i sur. također ispitivali utjecaj polimorfizama različitih gena impliciranih u patogenezu inzulinske rezistencije, uključujući i polimorfizam -11377 C>G (12). Ustrojili su 4 skupine ispitanika: dijabetičare tipa 2, hipertoničare, dijabetičare tipa 2 s konkomitantnom hipertenzijom i kontrole bez navedenih bolesti. Sve skupine osim kontrolne uključuju i liječene i neliječene ispitanike. U njihovom istraživanju, genotip -11377 G/G predisponirao je 41% većoj šansi za hipertenziju što je usporedivo s rezultatima Ong, Li i sur., tj. učestalost minor alela bila je viša hipertoničara (34,3%) nego u kontrola (27,0%). Ipak, u njihovoj studiji se također radilo o staroj populaciji (prosjek dobi normotoničara 68,8 ± 6,7, a hipertoničara 67,1 ± 7,1 godina), a bilo je i razlike u raspodjeli spola između muškaraca i žena (67,0% žena u hipertoničara naspram 57,4% u normotoničara) što može utjecati na razlike u prosječnoj koncentraciji adiponektina između te dvije skupine. Zanimljivo je da Jiang i sur. u istoj studiji ne samo da nisu pronašli povezanost polimorfizma -11377 C>G i šećerne bolesti tipa 2, nego te povezanosti nije bilo ni sa udruženom pojavnosti šećerne bolesti tipa 2 i arterijske hipertenzije (učestalosti minor alela 25,9%, odnosno 26,6%).

U našoj populaciji nije bilo razlike između genotipova oba polimorfizma u čimbenicima koji bi mogli povećavati rizik za hipertenziju – dobi (iako su heterozigoti C/G bili neznačajno stariji malo je vjerojatno da je to moglo utjecati na povezanost), ITM, opsegu struka, HDL i LDL-kolesterolu, HOMA-IR, eGFR itd., te to pridaje dodatnu vjerodostojnost našim rezultatima. Niti u jednom drugom radu nisu bile navedene usporedbe tih čimbenika rizika među pojedinim genotipovima.

Uključivanje pacijenata na antihipertenzivima i antidijabeticima, naravno ne može utjecati na genotip, ali može utjecati na ostale krakove odnosa – adiponektin i tlak (npr. antidijabetici

tiazolidindioni povisuju plazamatsku koncentraciju adiponektina) i na taj način može dati iskrivljenu sliku toga odnosa.

Zhang i sur. proučavali su povezanost više polimorfizama gena za adiponektin s esencijalnom hipertenzijom Han Kineza i kineskih Korejaca (13). Ova referenca bila nam je dostupna samo u obliku sažetka, jer je izvornik na kineskom jeziku. Polimorfizam -11391 G>A nije bio u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži te je isključen iz daljnje analize. Nije bilo razlike u učestalosti genotipova polimorfizma -11377 C>G između hipertoničara i kontrolne populacije, ali je haplotip -11426 G – 11377 C bio povezan s većom učestalošću hipertenzije u Han Kineza, ali ne i u Korejaca, no moguće je da je to isključivo učinak alela -11426 G koji je sam također bio povezan s hipertenzijom u toj populaciji.

U našoj populaciji nije bilo niti razlike u sistoličkom i dijastoličkom tlaku u različitim genotipovima niti jednog od promatranih polimorfizama. Heterozigoti za polimorfizam -11391 G>A imali su nešto niži sistolički tlak od dominantnih homozigota (126 mm Hg naspram 130 mm Hg), no razlika nije bila značajna zbog široke raspodjele vrijednosti. Bilo bi zanimljivo u većim populacijskim studijama provjeriti postoji li trend u sniženju arterijskog tlaka s brojem kopija minor alela A, no takve podatke nismo našli u literaturi.

Avery i sur. su u studiji engleskih porodica selekcioniranih putem hipertenzivnog probanda pronašli da je za svaki G alel polimorfizma -11377 C>G ordinacijski sistolički tlak porastao za 1,62% (292). U našoj populaciji nije bilo porasta ordinacijskog sistoličkog tlaka po svakom G alelu niti prije prilagodbe (porast po alelu za 0.69 [-4.33 - 5.71] mm Hg, p=0,79) niti nakon prilagodbe za dob, spol i ITM (porast po alelu za -2.04 [-6.25 - 2.18] mm Hg, p=0,31). Također, nismo našli niti učinak na dijastolički tlak, kao ni povezanost drugog polimorfizma s tlakom. Snaga ove studije sigurno je u njenom pedigre dizajnu, no Avery i sur. i sami napominju kako se ovaj rezultat mora provjeriti u replikativnim studijama, jer u prijašnjem istraživanju na RISC kohorti od 1300 ljudi iz 19 centara u 14 europskih zemalja (kojem su i sami koautori) nije dokazana povezanost polimorfizma -11377 C>G sa sistoličkim niti dijastoličkim tlakom (293). Glavni nedostatak ove studije je taj da su hipertoničari u ovoj studiji bili liječeni (31,5% su uzimali beta-blokatore, a 33,7% diuretike), a isključeni su samo hipertoničari koji su uzimali 3 i više antihipertenziva. Iako su statističkim modeliranjem vrijednosti tlaka liječenih hipertoničara korigirane za određenu modelom procjenjenu vrijednost ovisnu o klasi antihipertenziva ipak ne možemo biti sigurni u dobiveni odnos s tlakom, pogotovo jer se radi o iznimno malom učinku od 1-2% (1,3-2,7 mm Hg) promjene u

sistoličkom tlaku po alelu (2-4% razlike između dominantog i recesivnog homozigota), dok je učinak na dijastolički tlak još manji (~ 1% po alelu).

Vrlo je važna i metaanaliza Zhao i Zhao koja je uključila 35 studija i imala za cilj ispitati postoji li povezanost između tri polimorfizma gena za adiponektin, lipidnog profila i arterijskog tlaka (294). Kao mjera povezanosti koristila se razlika težinskih prosjeka (engl. *weighted mean difference*, WMD) vrijednosti određene varijable između dominantnih homozigota i nositelja minor alela (dakle, koristio se dominantni model). Od ukupnog broja, podaci za polimorfizam -11377 C>G bili su dostupni u 8 studija s 2955 ispitanika. Nije bilo razlike u WMD ukupnog, HDL i LDL kolesterola među grupama genotipova (CC naspram CG+GG). Također nije bilo razlike niti u sistoličkom tlaku u svim studijama (N=5, WMD 1,50 (-0,95-3,95 mm Hg), a ni kada se isključila jedna studija u kojoj genotipovi nisu bili u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži (N=4, WMD 1,77 (-1,58-5,12) mm Hg). Posebno je zanimljivo da nije bilo povezanosti ni u europskoj (N=3, WMD 1,64 (-2,43-5,70) mm Hg) niti u istočnoazijskoj populaciji (N=2, WMD 1,32 (-1,55-4,19) mm Hg). Također, nije bilo razlike ni u dijastoličkom tlaku (N=5, WMD 0,13 (-1,57-1,84) mm Hg), niti nakon isključenja jedne studije koja nije bila u Hardy-Weinbergovoj ravnoteži (N=4, WMD 0,27 (-2,11-2,64) mm Hg), a niti u europskoj (N=3, -0,09 (-2,90-2,73) mm Hg) niti u istočnoazijskoj populaciji (N=2, WMD 0,37 (-1,34-2,07) mm Hg). Ni u našem radu nismo našli povezanost polimorfizma -11377 C>G sa sistoličkim i dijastoličkim tlakom. Kada smo napravili dodatnu analizu i podijelili ispitanike u dvije grupe po dominantnom modelu (CC i CG+GG) naši rezultati bili su slični. Razlika u sistoličkom tlaku bila je 1,97 (-8,60-4,66) mm Hg, a u dijastoličkom je nešto veća od rezultata metaanalize, ali svejedno nije statistički značajna i iznosi 0,72 (-2,93-4,36) mm Hg (oboje p>0,05). Koristeći dostupne dodatne materijale koji priložene uz metaanalizu (http://onlinelibrary.wiley.com) učinili smo t-test na svim uključenim studijama kako bi procjenili značajnost razlike u tlakovima između genotipova. Taj pobliži pogled otkrio je da je samo studija Buzzettija i sur. pronašla značajnu razliku od 4,1 mm Hg između dvaju genotipova (295). No, ta studija uključivala je samo selekcionirane mlade ispitanike (prosjek dobi 35 godina) s ITM>30 kg/m^2 i normalnim arterijskim tlakom te je upitno može li se taj odnos generalizirati na ostale populacije kao i to hoće li u budućnosti, nakon što neki od njih razviju hipertenziju, i dalje vrijediti. Buzzetti i sur. u ovoj populaciji nisu našli povezanost polimorfizma -11391 G>A niti sa sistoličkim niti s dijastoličkim tlakom. Ostale studije također su uključivale selekcionirane bolesnike, točnije osobe sa šećernom bolesti tipa 2 (N=3) i suspektnom koronarnom bolesti (N=1) i imale rezultate slične našima.

Ni u studiji Mentea i sur. publiciranoj nakon metaanalize Zhao i Zhao na populaciji od 1157 Kanađana miješanog podrijetla nije bilo razlike u sistoličkom i dijastoličkom tlaku korigiranima za dob, spol i etnicitet među genotipovima polimorfizma -11377 C>G (296).

Ranije smo napomenuli kako je 30-70% varijacije u koncentraciji adiponektina ovisno o genetičkim uzrocima (153). Ta činjenica je posebno važna kada se promatra kroz prizmu koncentracije adiponektina kao medijatora između određenog genotipa ili haplotipa i fenotipskog obilježja. U našem radu polimorfizmi gena za adiponektin nisu bili povezani s plazmatskom koncentracijom adiponektina. Za polimorfizam -11377 C>G nije bilo razlike ni kada smo pregrupirali genotipove po dominantnom (C/C naspram C/G+G/G) i recesivnom modelu (C/C+C/G naspram G/G) što je u skladu s rezultatima Menzaghija i sur. ali u suprotnosti s nekim drugim studijama (152, 158, 297–299). Ipak, iako nije bilo formalne statističke značajnosti postojale su naznake potencijalnog trenda porasta koncentracije adiponektina s brojem kopija minor alela A drugog polimorfizma (homozigoti imaju dvije, a heterozigoti jednu kopiju minor alela). Medijan koncentracije adiponektina u ispitanika s genotipom G/A bio je za 1,18 mg/L viši nego onaj u dominantnih homozigota. Kako bismo utvrdili postoji li značajna povezanost, napravili smo dodatnu logističko-regresijsku analizu. Zanimljivo je da su žene granično češće imale genotip -11391 G>A. To je vjerojatno posljedica male prevalencije minor alela, tj. veličine našeg uzorka (točnije, manjeg broja muškaraca, N=4 s genotipom G/A). Kako nema racionalnog objašnjenja za ovaj fenomen, za očekivati je da bi u većem uzorku ovaj artefakt vjerojatno iščezao. Genotipovi polimorfizma -11377 C>G nisu bili značajno povezani s logaritmom koncentracije adiponektina niti u neprilagođenom modelu niti nakon prilagodbe za dob, spol, ITM i logaritam sistoličkog tlaka. Nasuprot tome, u neprilagođenom modelu genotip G/A imao je za 0,14 [-0,01-0,29] (p=0,066), a haplotip C-A za 0,15 [0,00-0,30] višu koncentraciju adiponektina na logaritamskoj skali što je usporedivo s rezultatima Vasseura i sur. (297). Ipak, nakon prilagodbe za gore navedene čimbenike izgubila se značajnost usporedbe. Ove činjenice otvaraju mogućnost da bi u velikim populacijskim studijama minor alel A mogao biti povezan s višom koncentracijom adiponektina kao što je pronađeno u nekim studijama (152–154,297,300). Neke studije su pak otkrile da je minor alel A povezan s nižom koncentracijom adiponektina (137). Ove razlike u rezultatima vjerojatno su rezultat etničkih razlika, ali i pitanja statističke snage za dokazivanje ovih hipoteza. Značajno je da su naši rezultati za polimorfizam -11377 C>G usporedivi s rezultatima Menzaghija i sur. (158), a rezultati za polimorfizam -11391 G>A i haplotipove s onima Vasseura i sur. (297), jer su populacije te

dvije studije slične našoj (ispitanici su Talijani koji ne boluju od dijabetesa, odnosno Francuzi normalne tjelesne mase), a također se radi o velikim studijama s preko 700 ispitanika u kojima s velikom vjerojatnošću možemo otkloniti pitanje male statističke snage.

U različitim polimorfizmima našli smo različito izražene povezanosti s arterijskim tlakom. Pretragom literature nismo pronašli studije koje opisuju takve o genotipu ovisne povezanosti. Uzrok može biti u utjecaju polimorfizama na plazmatsku koncentraciju adiponektina, arterijski tlak, ali i frakciju različitih izoformi adiponektina (npr., metabolički aktivnog HMW izomera). Postoji hipoteza kako bi različiti polimorfizmi mogli predisponirati različitom profilu multimera, no koliko je nama poznato ta hipoteza još nije potvrđena. Kako se proučavani polimorfizmi nalaze u promotorskoj regiji, oni ne bi mogli biti uzrok pomaka u profilu multimera, već eventualno promjena u koncentraciji adiponektina, što u našoj populaciji nije bio slučaj, no mogli bi biti izravno povezani s drugim mehanizmima regulacije arterijskog tlaka te na taj način doprinijeti razvoju hipertenzije. Također, iako je moguće da polimorfizmi uistinu imaju utjecaj na arterijski tlak, vrlo je malo vjerojatno da je ijedna genska promjena isključivo odgovorna za klinički mjerljivu promjenu u arterijskom tlaku ili hipertenziju. Ipak, moguće je kako ovi i ostali polimorfizmi dijelom pridonose povišenju arterijskog tlaka u mozaiku s ostalim genima te posljedično u sprezi s okolišnim čimbenicima povećavaju ili smanjuju rizik za razvoj hipertenzije. Zbog svega toga, a pogotovo zbog mogućeg izravnog učinka ovih polimorfizama na arterijski tlak, zanimalo nas je hoće li, usprkos izostanku povezanosti koncentracije adiponektina i arterijskog tlaka i genotipa, određeni genotip ovih proučavanih polimorfizama biti povezan s višim arterijskim tlakom. U većim studijama bit će potrebno replicirati naše rezultate o genotip-ovisnom utjecaju na arterijski tlak i razlučiti radi li se o stvarnim učincima ili o artefaktima. U svakom slučaju, ovakvi rezultati postavljaju zanimljiva pitanja o heterogenosti veze koncentracije adiponektina, njegovih polimorfizama i arterijskog tlaka.

5.4. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s inzulinskom rezistencijom

U našoj skupini ispitanika nije bilo razlike u koncentraciji adiponektina između ispitanika osjetljivih i rezistentnih na inzulin. Ipak, kada smo inzulinsku rezistenciju promatrali kao kontinuiranu varijablu, adiponektin je značajno negativno korelirao s HOMA-IR. To je sukladno većini objavljenih studija, ali ne i studiji Snehalathe i sur. (237,271,301–

303). Razlog izostanka korelacije adiponektina i HOMA-IR u populaciji Snehalathe i sur. nalazi se vjerojatno u izboru specifične adolescentske populacije i prije objavljenim dobnim i rasnim razlikama u koncentraciji adiponektina s naglaskom na nižu adiponektinemiju u mladoj populaciji Indije koja je bila selekcionirana i za ovu studiju (304,305).

Iako su objavljene mnoge pojedinačne studije i metaanalize koje opisuju odnos polimorfizama gena za adiponektin sa šećernom bolesti tipa 2, studije s inzulinskom rezistencijom vrlo su rijetke. Naš cilj bio je ispitati odnos polimorfizama s inzulinskom rezistencijom shvaćenom kao predstadij šećerne bolesti tipa 2 u razmjerno mladoj i zdravoj populaciji bez prijašnje anamneze šećerne bolesti.

Nije bilo razlike u HOMA-IR u različitim genotipovima polimorfizma -11377 C>G, što je u skladu s podacima Vozarove de Courten, ali različito od rezultata Buzzettija i sur. (295,306). Obje ove studije koristile su insulin *patch-clamp* metodu. Ipak, tri puta više inzulin osjetljivih ispitanika, nego inzulin rezistentnih imalo je genotip -11377 G/G (14% naspram 3%, p=0,07). No, nakon provedene logističke regresije, nije bilo povezanosti ovog polimorfizma s inzulinskom rezistencijom, a jedino je recesivni model pokazivao granično značajnu povezanost minor alela G s manjim šansama za inzulinsku rezistenciju. To je u skladu s finskom studijom, ali ne i s metaanalizom Hana i sur. u kojih je alel G rizični alel. Ipak, treba napomenuti kako je ovaj naš rezultat vjerojatno posljedica malog broja inzulin rezistentnih ispitanika s genotipom G/G (N=3) te samim time potencijalni artefakt. Važno je napomenuti i da je od 15 studija uključenih u metaanalizu Hana i sur. u 5 studija minor alel G bio povezan s višim rizikom za razvoj šećerne bolesti tipa 2, a u niti jednoj studiji taj odnos nije bio različitog smjera (134). Ova činjenica, kao i to da je u ovu metaanalizu uključeno preko 18 000 ljudi, a u finsku studiju samo oko 500, govori u prilog vjerodostojnosti metaanalize. Moguće je ipak, kako smo raspravili i ranije, da se finska pa i naša populacija razlikuju od drugih i da je u njoj alel povišenog rizika C sukladno etničkim razlikama navedenim ranije u raspravi.

Polimorfizam -11391 G>A u našoj je skupini bio povezan s inzulinskom rezistencijom. Ispitanici s genotipom G/A imali su 4 puta veće šanse za inzulinsku rezistenciju od dominantih homozigota. U metaanalizi Hana i sur. alel A povećavao je šanse za šećernu bolest tipa 2 za 7%, a sličan je rezultat dobiven i u metaanalizi Chua i sur. (133,134). Naši rezultati su u skladu s njihovima, ali su naši omjeri šansi puno veći. Dva su moguća objašnjenja ovih razlika. Prvo, vrlo malen broj ljudi u našoj je studiji imao genotip G/A (N=12), a recesivnih homozigota nije bilo. Takva raspodjela genotipova mogla bi

rezultirati visokim omjerima šansi i širokim 95% intervalima pouzdanosti, što je kod nas i slučaj. Drugi razlog je što smo mi proučavali inzulinsku rezistenciju, a metaanaliza je rađena na šećernoj bolesti tipa 2. Moguće je da su šanse za inzulinsku rezistenciju puno veće te da velik broj takvih ispitanika ipak neće razviti šećernu bolest. Analizom haplotipova, pokazali smo da haplotip C-A ima slične omjere šansi za razvoj inzulinske rezistencije kao i genotip -11391 G/A. To je vjerojatno posljedica utjecaja drugog polimorfizma, ali moguće je da postoji i doprinos polimorfizma -11377 C>G.

Sve ove činjenice treba uzeti s dozom opreza, jer nismo našli studije koje proučavaju povezanost s inzulinskom rezistencijom na način na koji se definira u ovoj i mnogim studijama te su ove usporedbe samo ekstrapolacija inzulinske rezistencije na šećernu bolest tipa 2. HOMA-IR model koristi se dugo godina i validiran je u velikom broju radova te se smatra da je jednako vrijedan kao i patch clamp metoda i neke druge često korištene metode (307,308). Do danas još nije odlučeno koja bi bila optimalna odsječna vrijednost za inzulinsku rezistenciju. Raspon vrijednosti koji se predlaže kreće se od 1,70 do preko 4,5, ovisno o populaciji. Ipak, velik broj studija koristi raspone od 2 do 3 pa smo se mi odlučili koristiti često uporabljenu varijantu odsječne vrijednosti od 2,5 kako bi naši rezultati bili usporedivi s najvećim brojem studija, ali i zbog toga što se ta vrijednost dobrim prediktorom metaboličkog sindroma. U našoj prošloj studiji testirali smo prediktivne vrijednosti adiponektina (tj. tercila plazmatske koncentracije) za inzulinsku rezistenciju ROC krivuljama (engl. receiver operating curve), a varijanta od 2,5 nije se pokazala značajno različitom od 2,0 ili 3,0 (10). Ipak odlučili smo testirati povezanost genotipova i haplotipova koristeći dosta konzervativnu visoku odsječnu vrijednost od 4,0 (broj inzulin rezistentnih N=33) i omjeri šansi nisu bili bitno drukčiji za polimorfizam -11377 C>G. U drugom polimorfizmu povezanost inzulinske rezistencije i genotipa G/A bila je jača, nego s odsječnom vrijednosti 2,5 (omjer šansi 5,35 [1,63-17,54]), a zanimljivo ta povezanost bila je izražena samo u žena (p-vrijednost za interakciju sa spolom je 0,005). Slični rezultati dobiveni su za haplotipove u kojima je ojačana veza haplotipa C-A s inzulinskom rezistencijom (omjer šansi 5,94 [1,72-20,51], a također je to zapaženo samo u žena (p-vrijednost za interakciju sa spolom je 0,005). Ovi dodatni podaci važna su potvrda naših rezultata da su genotip -11391 G/A i haplotip -11377 C - -11391 A uistinu povezani s inzulinskom rezistencijom. Rezultati interakcije sa spolom zanimljivi su, ali bit će ih potrebno ispitati na većim populacijama, jer potencijalno mogu biti artefakt malog broja inzulin rezistentnih muškaraca u određenim genotipovima, odnosno haplotipovima.

Ni korištenjem ove više odsječne vrijednosti nije bilo formalne statistički značajne razlike u plazmatskoj koncentraciji adiponektina iako su inzulin rezistentni imali gotovo značajno nižu koncentraciju (7,64 (5,44-10,78) naprema 9,75 (5,75-14,80), p=0,06). Taj rezultat je vrlo zanimljiv, jer iz njega proizlazi pitanje treba li ljestvicu inzulinske rezistencije postaviti dviše kao što to predlaže jedan dio studija, tj. je li stvarna inzulinska rezistencija prisutna tek pri višim odsječnim vrijednostima HOMA-IR indeksa. Ipak, zbog usporedivosti rezultata i naših prijašnjih rezultata i mi smo koristili ovu nižu odsječnu vrijednost.

U konačnici, polimorfizam gena za adiponektin -11391 G>A povezan je s inzulinskom rezistencijom na način da je alel povećanog rizika alel A što je u skladu s većinom studija. Nismo pronašli nedvosmislenu povezanost polimorfizma -11377 C>G, no postoje naznake da bi mogla postojati te je takvu hipotezu potrebno provjeriti u drugim skupinama. Haplotip C-A bio je povezan s višim šansama za inzulinsku rezistenciju, no to može biti posljedica prevage utjecaja polimorfizma -11391 G>A što je potrebno provjeriti u replikativnim studijama.

6. ZAKLJUČCI

1. Kada se gleda samo polimorfizam -11377 C>G, u našoj je populaciji 49,5% ispitanika imalo genotip C/C, 77 (41,0%) bili su heterozigoti, a 9,5% homozigoti G/G; učestalost minor alela G bila je 29,3%. Ukupno je 88,2% ispitanika imalo genotip G/G polimorfizma -11391 G>A, dok su 11,8% ispitanika bili heterozigoti. Nije bilo recesivnih homozigota te je učestalost minor alela A bila 11,8%. Prosječna prevalencija minor alela polimorfizma -11377 C>G u svim ispitivanim populacijama bila je 26,13%, a minor alela polimorfizma -11391 G>A 9,48%. Prevalencija minor alela polimorfizma -11377 C>G u ispitivanoj hrvatskoj populaciji (zdrave kontrole u ovom radu agregirane sa zdravim kontrolama u radu Karmelić i sur.) bila je 30,00% što je nešto više od medijana ostalih europskih populacija (26,02%), a minor alela polimorfizma -1391 G>A 8,08% što je također nešto više od medijana ostalih europskih populacija od 5,26%. Nije nađena geografska podloga genetičkih varijacija niti za jedan ispitivani polimorfizam.

2. Žene su imale više plazmatske koncentracije adiponektina od muškaraca. Također, pretile osobe (ITM>30 kg/m^2) imale su nižu koncentraciju adiponektina od onih s ITM≤30 kg/m^2. Abdominalno pretile osobe nisu se razlikovale po koncentraciji adiponektina od onih s normalnim opsegom struka, ali je koncentracija adiponektina bila značajno negativno korelirana s opsegom struka.

3. Koncentracija adiponektina nije bila značajno nezavisno povezana sa sistoličkim, dijastoličkim i srednjim arterijskim tlakom te tlakom pulsa u cijeloj skupini ispitanika, normotoničara i hipertoničara. Nije bilo značajne razlike u koncentraciji adiponektina između normotoničara i hipertoničara.

4. Proučavanjem mogućih mehanizama utjecaja adiponektina na sistolički tlak nismo našli varijablu koja bi bila u isto vrijeme značajno korelirana ili nezavisno povezana i s adiponektinom i sa sistoličkim tlakom. I adiponektin i sistolički tlak bili su značajno povezani s (različitim) biljezima upale (C-reaktivni protein i leukociti) pa se može pretpostaviti kako upala ima važnu, potencijalno posredničku patofiziološku ulogu u povezanosti adiponektina i arterijskog tlaka i hipertenzije.

5. Nije nađena značajna razlika u koncentraciji adiponektina između pojedinih genotipova obaju polimorfizama, ali je vidljiv trend prema višoj koncentraciji adiponektina u osoba s minor alelom polimorfizma -11391 G>A. Ovaj trend potrebno je dodatno ispitati u velikim populacijskim studijama gdje će biti dovoljan broj osoba s genotipom -11391 A/A, što je nemoguće napraviti u manjim studijama zbog niske prevalencije recesivnog homozigota za taj polimorfizam (~1%).

6. Dijastolički tlak i koncentracija adiponektina bili su pozitivno korelirani u ispitanika s barem jednim minor alelom polimorfizma -11377 C>G, a sistolički tlak i koncentracija adiponektina granično značajno negativno korelirani u ispitanika s genotipom -11391 G/A. Posebno je bitno vidjeti povezanost sistoličkog tlaka i koncentracije adiponektina u recesivnih homozigota polimorfizma -11391 G>A. U prilog tezi da pojedini genotipovi, diplotipovi ili haplotipovi predisponiraju drukčijim povezanostima koncentracije adiponektina i arterijskog tlaka ide i vrlo zanimljiv nalaz da je u osoba s diplotipom takvim da imaju barem po jedan minor alel oba genotipa (-11377 C/G ili G/G - -11391 G/A) dijastolički tlak značajno, a sistolički tlak gotovo značajno negativno koreliran s koncentracijom adiponektina.

7. Polimorfizmi gena za adiponektin promatrani zasebno niti u jednom genetičkom regresijskom modelu, a ni promatrajući haplotipove, nisu bili značajno povezani s hipertenzijom.

8. Koncentracija adiponektina bila je značajno negativno korelirana s HOMA-IR. Osobe s genotipom -11377 G/G imale su u recesivnom modelu 71% manje šanse za inzulinsku rezistenciju u usporedbi s dominantnim homozigotom i heterozigotom. Osobe s genotipom -11391 G/A imale su >4 puta veće šanse za inzulinsku rezistenciju u usporedbi s dominantim homozigotom. Promatrajući haplotipove, osobe s najrjeđim haplotipom -11377 C - -11391 A imale su 4 puta veće šanse za inzulinsku rezistenciju nego osobe s najčešćim haplotipom. Sve povezanosti prilagođene su za veći broj čimbenika rizika uključujući i hipertenziju.

9. U naš laboratorij uveli smo metodu genotipizacije gena za adiponektin koja daljnim etabliranjem adiponektina kao suvremenog biljega hipertenzije ima potencijal prijeći u spektar rutinskih laboratorijskih pretraga.

7. POPIS LITERATURE

1. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data. Lancet. 2005.;365:217–23.

2. Mozaffarian D, Fahimi S, Singh GM, Micha R, Khatibzadeh S, Engell RE i sur.. Global Sodium Consumption and Death from Cardiovascular Causes. N Engl J Med. 2014.;371:624–34.

3. Preuzeto od: http://ec.europa.eu/health/nutrition_physical_activity/docs/implementation_report_en.pdf Pristupljeno: 10.3.2015.

4. Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: Impact on health and disease. Endocr Rev. 2006.;27:762–78.

5. Heiker JT, Kosel D, Beck-Sickinger AG. Molecular mechanisms of signal transduction via adiponectin and adiponectin receptors. Biological Chemistry. 2010.;1005–18.

6. 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.;257:79–83.

7. Kim DH, Kim C, Ding EL, Townsend MK, Lipsitz L. Adiponectin levels and the risk of hypertension: A systematic review and meta-analysis. Hypertension. 2013.;62:27–32.

8. Shen YY, Peake PW, Charlesworth JA. Review article: Adiponectin: its role in kidney disease. Nephrology (Carlton). 2008.;13:528–34.

9. Jia T, Carrero JJ, Lindholm B, Stenvinkel P. The complex role of adiponectin in chronic kidney disease. Biochimie. 2012.;2150–6.

10. Ivković V, Jelaković M, Laganović M, Pećin I, Vrdoljak A, Karanović S i sur. i sur.. Adiponectin is not associated with blood pressure in normotensives and untreated hypertensives with normal kidney function. Medicine (Baltimore).2014.;93:e250.

11. Ong KL, Li M, Tso AWK, Xu A, Cherny SS, Sham PC i sur.. Association of genetic variants in the adiponectin gene with adiponectin level and hypertension in Hong Kong Chinese. Eur J Endocrinol. 2010.;163:251–7.

12. Jiang B, Liu Y, Liu Y, Fang F, Wang X, Li B. Association of four insulin resistance genes with type 2 diabetes mellitus and hypertension in the Chinese Han population. Mol Biol Rep. 2014.;41:925–33.

13. Zhang Z-B, Yu L-J, Yang K-J, Xu L-W, Sheng T-X, Hao P i sur.. [Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) at the promoter of adiponectin gene and essential hypertension in Chinese Korean and Han of Yanbian region]. Yi Chuan. 2011.;33(1):54–9.

14. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M i sur.. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2013.;34:2159–219.

15. Kotchen T. Historical trends and milestones in hypertension research: A model of the process of translational research. Hypertension. 2011.;58:522–38.

16. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J i sur.. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). JAMA.2014.;311:507–20.

17. Guyton AC. Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids. Science.1991.;252:1813–6.

18. Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of Hypertension. Annals of Internal Medicine. 2003.;761–76.

19. Idris-Khodja N, Mian MOR, Paradis P, Schiffrin EL. Dual opposing roles of adaptive immunity in hypertension. Eur Heart J.2014.;35:1238–44.

20. Longini IM, Higgins MW, Hinton PC, Moll PP, Keller JB. Environmental and genetic sources of familial aggregation of blood pressure in Tecumseh, Michigan. Am J Epidemiol.1984.;120:131–44.

21. Biron P, Mongeau JG, Bertrand D. Familial aggregation of blood pressure in 558 adopted children. Can Med Assoc J.1976.;115:773–4.

22. Feinleib M, Garrison RJ, Fabsitz R, Christian JC, Hrubec Z, Borhani NO i sur.. The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results. Am J Epidemiol.1977.;106:284–5.

23. Hsueh WC, Mitchell BD, Schneider JL, Wagner MJ, Bell CJ, Nanthakumar E i sur.. QTL influencing blood pressure maps to the region of PPH1 on chromosome 2q31-34 in Old Order Amish. Circulation.2000.;101:2810–6.

24. Levy D, DeStefano AL, Larson MG, O'Donnell CJ, Lifton RP, Gavras H i sur.. Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17. Genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the framingham heart study. Hypertension.2000.;36:477–83.

25. Kristjansson K, Manolescu A, Kristinsson A, Hardarson T, Knudsen H, Ingason S i sur.. Linkage of essential hypertension to chromosome 18q. Hypertension. 2002.;39:1044–9.

26. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Med.1998.;339:229–34.

27. Selby J V, Newman B, Quiroga J, Christian JC, Austin MA, Fabsitz RR. Concordance for dyslipidemic hypertension in male twins. JAMA.1991.;265:2079–84.

28. Mark AL. The sympathetic nervous system in hypertension: a potential long-term regulator of arterial pressure. J Hypertens Suppl.1996.;14:S159–65.

29. Brook RD, Julius S. Autonomic imbalance, hypertension, and cardiovascular risk. Am J Hypertens.2000.;13:112S – 122S.

30. Chapleau MW, Hajduczok G, Abboud FM. Mechanisms of resetting of arterial baroreceptors: an overview. Am J Med Sci.1988.;295:327–34.

31. Lackland DT. Systemic hypertension: an endemic, epidemic, and a pandemic. Semin Nephrol.2005.;25:194–7.

32. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Whelton PK, He J. Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. J Hypertens. 2004.;22:11–9.

33. Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR, Giampaoli S, Hense H-W, Joffres M i sur.. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States. JAMA. 2003.;289:2363–9.

34. Jelaković B, Zeljković-Vrkić T, Pećin I, Dika Z, Jovanović A, Podobnik D i sur.. [Arterial hypertension in Croatia. Results of EH-UH study]. Acta medica Croat časopis Hravatske Akad Med Znan.2007.;61:287–92.

35. Klemmer P, Grim CE, Luft FC. Who and what drove Walter Kempner? The rice diet revisited. Hypertension.2014.;64:684–8.

36. Siervo M, Lara J, Chowdhury S, Ashor A, Oggioni C, Mathers JC. Effects of the Dietary Approach to Stop Hypertension (DASH) diet on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis. Br J Nutr.2014.;1–15.

37. He FJ, MacGregor GA. A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. J Hum Hypertens. 2009.;23:363–84.

38. Jelaković B, Reiner Ž. [Croatian national programme for reduction of excessive salt intake]. Liječnički Vjesn. ;136:304–6.

39. He FJ, Jenner KH, Macgregor GA. WASH-world action on salt and health. Kidney Int. 2010.;78:745–53.

40. O'Donnell M, Mente A, Rangarajan S, McQueen MJ, Wang X, Liu L i sur.. Urinary Sodium and Potassium Excretion, Mortality, and Cardiovascular Events. N Engl J Med. 2014.;371:612–23.

41. Mente A, O'Donnell MJ, Rangarajan S, McQueen MJ, Poirier P, Wielgosz A i sur.. Association of Urinary Sodium and Potassium Excretion with Blood Pressure. N Engl J Med. 2014.;371:601–11.

42. Campbell NRC, Lackland DT, Lisheng L, Zhang X-H, Nilsson PM, Niebylski ML i sur.. The World Hypertension League: where now and where to in salt reduction. Cardiovascular Diagnosis and Therapy.238–42.

43. He FJ, Ivković V, Jelaković B, Morris J, MacGregor GA. Estimation of sodium excretion should be made as simple as possible, but not simpler: misleading papers and editorial on spot urines. J Hypertens.2015.;33:884–6.

44. Cramer JA, Benedict A, Muszbek N, Keskinaslan A, Khan ZM. The significance of compliance and persistence in the treatment of diabetes, hypertension and dyslipidaemia: a review. Int J Clin Pract.2008.;62:76–87.

45. Bangalore S, Kamalakkannan G, Parkar S, Messerli FH. Fixed-dose combinations improve medication compliance: a meta-analysis. Am J Med. 2007.;120:713–9.

46. Kwan MW-M, Wong MC-S, Wang HH-X, Liu KQ-L, Lee CL-S, Yan BP-Y i sur.. Compliance with the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet: a systematic review. PLoS One.2013.;8:e78412.

47. Scherer PE. Adipose tissue: From lipid storage compartment to endocrine organ. Diabetes. 2006.;55:1537–45.

48. Mattu HS, Randeva HS. Role of adipokines in cardiovascular disease. J Endocrinol. 2013.;216.

49. RODBELL M. METABOLISM OF ISOLATED FAT CELLS. I. EFFECTS OF HORMONES ON GLUCOSE METABOLISM AND LIPOLYSIS. J Biol Chem.1964.;239:375–80.

50. Riordan NH, Ichim TE, Min W-P, Wang H, Solano F, Lara F i sur.. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. J Transl Med.2009.;7:29.

51. Blaak E. Gender differences in fat metabolism. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2001.;4:499–502.

52. Fried SK, Leibel RL, Edens NK, Kral JG. Lipolysis in intraabdominal adipose tissues of obese women and men. Obes Res.1993.;1:443–8.

53. Rebuffé-Scrive M, Andersson B, Olbe L, Björntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. Metabolism.1989.;38:453–8.

54. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. Physiol Rev. 2004.;84:277–359.

55. Lindberg O, de Pierre J, Rylander E, Afzelius BA. Studies of the mitochondrial energy-transfer system of brown adipose tissue. J Cell Biol.1967.;34:293–310.

56. Nicholls DG, Bernson VS, Heaton GM. The identification of the component in the inner membrane of brown adipose tissue mitochondria responsible for regulating energy dissipation. Experientia Suppl. januar 1978.;32:89–93.

57. Bouillaud F, Raimbault S, Ricquier D. The gene for rat uncoupling protein: complete sequence, structure of primary transcript and evolutionary relationship between exons. Biochem Biophys Res Commun.1988.;157:783–92.

58. Kozak LP, Britton JH, Kozak UC, Wells JM. The mitochondrial uncoupling protein gene. Correlation of exon structure to transmembrane domains. J Biol Chem. 1988.;263:12274–7.

59. Matthias A, Jacobsson A, Cannon B, Nedergaard J. The bioenergetics of brown fat mitochondria from UCP1-ablated mice. Ucp1 is not involved in fatty acid-induced de-energization („uncoupling“). J Biol Chem.1999.;274:28150–60.

60. Lean ME. Brown adipose tissue in humans. Proc Nutr Soc.1989.;48:243–56.

61. Ricquier D, Nechad M, Mory G. Ultrastructural and biochemical characterization of human brown adipose tissue in pheochromocytoma. J Clin Endocrinol Metab. 1982.;54:803–7.

62. Van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JMAFL, Kemerink GJ, Bouvy ND i sur.. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. N Engl J Med. 2009.;360:1500–8.

63. Vijgen GHEJ, Bouvy ND, Teule GJJ, Brans B, Hoeks J, Schrauwen P i sur.. Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects. J Clin Endocrinol Metab.2012.;97:E1229–33.

64. Moser M. Historical perspectives on the management of hypertension. J Clin Hypertens (Greenwich). 2006.;8:15–20; quiz 39.

65. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. Nat Med. Nature Publishing Group; 2013.;19:1252–63.

66. Vitali A, Murano I, Zingaretti MC, Frontini A, Ricquier D, Cinti S. The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. J Lipid Res.2012.;53:619–29.

67. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: The adipocyte - At the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. Endocrinology. 2003.;144:3765–73.

68. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine R V i sur.. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. Diabetes.2001.;50:2199–202.

69. Cook KS, Min HY, Johnson D, Chaplinsky RJ, Flier JS, Hunt CR i sur.. Adipsin: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. Science.1987.;237:402–5.

70. 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.;372:425–32.

71. Lehr S, Hartwig S, Sell H. Adipokines: A treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. Proteomics - Clin Appl. 2012.;6:91–101.

72. Blüher M. Clinical relevance of adipokines. Diabetes Metab J. 2012.;36:317–27.

73. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. J Allergy Clin Immunol. 2005.;115:911–20.

74. Pereira SS. Adipokines : biological functions and metabolically healthy obese profile. J Receptor Ligand Channel Res. 2014.;15–25.

75. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. Arch Med Sci. 2013.;9:191–200.

76. Samaras K, Botelho NK, Chisholm DJ, Lord R V. Subcutaneous and visceral adipose tissue gene expression of serum adipokines that predict type 2 diabetes. Obesity (Silver Spring). Nature Publishing Group; 2010.;18:884–9.

77. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. Nat Rev Immunol. 2011.;11:85–97.

78. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. J Biol Chem. 1995.;270:26746–9.

79. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. J Biol Chem.1996.;271:10697–703.

80. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). Biochem Biophys Res Commun. 1996.;221:286–9.

81. Lew EA, Garfinkel L. Variations in mortality by weight among 750,000 men and women. J Chronic Dis.1979.;32:563–76.

82. Reeves GK, Pirie K, Beral V, Green J, Spencer E, Bull D. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. BMJ. England;2007.;335:1134.

83. Bergstrom A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. Int J Cancer. United States;2001.;91:421–30.

84. Raucci R, Rusolo F, Sharma a., Colonna G, Castello G, Costantini S. Functional and structural features of adipokine family. Cytokine.2013.;61:1–14.

85. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. Am J Clin Nutr. United States;2004.;79:379–84.

86. Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ i sur.. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. JAMA.1998.;280:1843–8.

87. Zhu S, Wang Z, Heshka S, Heo M, Faith MS, Heymsfield SB. Waist circumference and obesity-associated risk factors among whites in the third National Health and Nutrition Examination Survey: clinical action thresholds. Am J Clin Nutr. United States;2002.;76:743–9.

88. WHO. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. Lancet. England;2004.;363:157–63.

89. Ardern CI, Katzmarzyk PT, Janssen I, Ross R. Discrimination of health risk by combined body mass index and waist circumference. Obes Res. United States;2003.;11:135–42.

90. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes.1988.;37:1595–607.

91. Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Almeras N i sur.. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? Circulation. 2000.;102:179–84.

92. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. Arch Intern Med.1989.;149:1514–20.

93. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. BMC Med. England; 2011.;9:48.

94. Ding EL, Smit LA, Hu FB. The metabolic syndrome as a cluster of risk factors: is the whole greater than the sum of its parts?: comment on „The metabolic syndrome, its component risk factors, and progression of coronary atherosclerosis“. Arch Intern Med.2010.;170:484–5.

95. Lakka H-M, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J i sur.. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. JAMA.2002.;288:2709–16.

96. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P i sur.. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. J Am Coll Cardiol. United States;2010.;56:1113–32.

97. Tota-Maharaj R, Defilippis AP, Blumenthal RS, Blaha MJ. A practical approach to the metabolic syndrome: review of current concepts and management. Curr Opin Cardiol. United States;2010.;25:502–12.

98. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among u.s. Adults. Diabetes Care. United States;2004.;27:2444–9.

99. Milanovic SM, Uhernik AI, Fister K, Mihel S, Kovac A, Ivankovic D. Five-year cumulative incidence of obesity in adults in Croatia: the CroHort study. Coll Antropol. Croatia;2012.;36 Suppl 1:71–6.

100. Fister K, Kolcic I, Milanovic SM, Kern J. The prevalence of overweight, obesity and central obesity in six regions of Croatia: results from the Croatian Adult Health Survey. Coll Antropol. Croatia;2009.;33 Suppl 1:25–9.

101. Eckel RH. Obesity and heart disease: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. Circulation. 1997.;96:3248–50.

102. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX i sur.. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical. Circulation. United States;2006.;113:898–918.

103. Pecin I, Samovojska R, Heinrich B, Zeljkovic-Vrkic T, Laganovic M, Jelakovic B. Hypertension, overweight and obesity in adolescents: the CRO-KOP study. Coll Antropol.2013.;37:761–4.

104. Mark AL, Correia M, Morgan DA, Shaffer RA, Haynes WG. State-of-the-art-lecture: Obesity-induced hypertension: new concepts from the emerging biology of obesity. Hypertension. 1999.;537–41.

105. Wolf HK, Tuomilehto J, Kuulasmaa K, Domarkiene S, Cepaitis Z, Molarius A i sur.. Blood pressure levels in the 41 populations of the WHO MONICA Project. J Hum Hypertens.1997.;11:733–42.

106. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. J Biochem.1996.;120:803–12.

107. Shapiro L, Scherer PE. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. Curr Biol. 1998.;8:335–8.

108. Chandran M, Phillips S a., Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: More than just another fat cell hormone? Diabetes Care. 2003.;26:2442–50.

109. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT i sur.. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. Proc Natl Acad Sci U S A.2001.;98:2005–10.

110. Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Kita S, Ito Y, Hada Y i sur.. Generation of globular fragment of adiponectin by leukocyte elastase secreted by monocytic cell line THP-1. Endocrinology. 2005.;146:790–6.

111. Mangge H, Saba-Lepek, Haj-Yahya, Rohde, Strunk, Fröhlich i sur.. Globular domain of adiponectin: promising target molecule for detection of atherosclerotic lesions. Biol Targets Ther. 2011.;95.

112. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. Endocr Rev. 2005.;26:439–51.

113. Briggs DB, Jones CM, Mashalidis EH, Nunez M, Hausrath AC, Wysocki VH i sur.. Disulfide-dependent self-assembly of adiponectin octadecamers from trimers and presence of stable octadecameric adiponectin lacking disulfide bonds in vitro. Biochemistry.2009.;48:12345–57.

114. Wang Z V, Scherer PE. DsbA-L is a versatile player in adiponectin secretion. Proc Natl Acad Sci U S A.2008.;105:18077–8.

115. Tsao T-S, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB i sur.. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. J Biol Chem.2003.;278:50810–7.

116. Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T i sur.. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications fpr metabolic regulation and bioactivity. J Biol Chem. 2003.;278:9073–85.

117. 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.;423:762–9.

118. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. J Clin Invest. 2006.;116:1784–92.

119. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin receptor signaling: a new layer to the current model. Cell Metab. United States;2011.;13:123–4.

120. Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kadowaki T. Adiponectin receptors: A review of their structure, function and how they work. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.2014.;28:15–23.

121. Holland WL, Scherer PE. Cell Biology. Ronning after the adiponectin receptors. Science. United States;2013.;342:1460–1.

122. Zoico E, Garbin U, Olioso D, Mazzali G, Fratta Pasini AM, Di Francesco V i sur.. The effects of adiponectin on interleukin-6 and MCP-1 secretion in lipopolysaccharide-treated 3T3-L1 adipocytes: role of the NF-kappaB pathway. Int J Mol Med. Greece;2009.;24:847–51.

123. Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao T-S, 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.;101:10308–13.

124. Denzel MS, Scimia M-C, Zumstein PM, Walsh K, Ruiz-Lozano P, Ranscht B. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. J Clin Invest. United States;2010.;120:4342–52.

125. Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. Type 2 Diabetes , and Cardiovascular Disease. Diabetes. 2007.;56.

126. Saito K, Tobe T, Minoshima S, Asakawa S, Sumiya J, Yoda M i sur.. Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). Gene. 1999.;229:67–73.

127. Schaffler A, Orso E, Palitzsch KD, Buchler C, Drobnik W, Furst A i sur.. The human apM-1, an adipocyte-specific gene linked to the family of TNF's and to genes expressed in activated T cells, is mapped to chromosome 1q21.3-q23, a susceptibility locus identified for familial combined hyperlipidaemia (FCH). Biochem Biophys Res Commun.1999.;260:416–25.

128. 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.;24:861–8.

129. Yang WS, Chuang LM. Human genetics of adiponectin in the metabolic syndrome. J Mol Med. 2006.;84:112–21.

130. Heid IM, Wagner SA, Gohlke H, Iglseder B, Mueller JC, Cip P i sur.. Genetic architecture of the APM1 gene and its influence on adiponectin plasma levels and parameters of the metabolic syndrome in 1,727 healthy Caucasians. Diabetes.2006.;55:375–84.

131. Gu HF. Biomarkers of adiponectin: plasma protein variation and genomic DNA polymorphisms. Biomark Insights. 2009.;4:123–33.

132. Gong M, Long J, Liu Q, Deng HC. Association of the ADIPOQ rs17360539 and rs266729 polymorphisms with type 2 diabetes: a meta-analysis. Mol Cell Endocrinol.2010.;325:78–83.

133. Chu H, Wang M, Zhong D, Shi D, Ma L, Tong N i sur.. AdipoQ polymorphisms are associated with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis study. Diabetes Metab Res Rev. England; oktobar 2013.;29(7):532–45.

134. Han LY, Wu QH, Jiao ML, Hao YH, Liang LB, Gao LJ i sur.. Associations between single-nucleotide polymorphisms (+45T>G, +276G>T, -11377C>G, -11391G>A) of adiponectin gene and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. Diabetologia. 2011.;54(9):2303–14.

135. Siitonen N, Pulkkinen L, Lindström J, Kolehmainen M, Eriksson JG, Venojärvi M i sur.. Association of ADIPOQ gene variants with body weight, type 2 diabetes and serum adiponectin concentrations: the Finnish Diabetes Prevention Study. BMC Med Genet.; 2011.;12:5.

136. Lu J, Zhou Y, Huang G, Jiang H, Hu B, Qin S. Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: A meta-analysis. Hum Immunol.2014.;75:1062–8.

137. Hivert M-F, Manning AK, McAteer JB, Florez JC, Dupuis J, Fox CS i sur.. Common variants in the adiponectin gene (ADIPOQ) associated with plasma adiponectin levels, type 2 diabetes, and diabetes-related quantitative traits: the Framingham Offspring Study. Diabetes. United States;2008.;57:3353–9.

138. Suriyaprom K, Phonrat B, Namjuntra P, Harnroongroj T, Tungtrongchitr R. The -11377C > G adiponectin gene polymorphism alters the adiponectin concentration and the susceptibility to type 2 diabetes in Thais. Int J Vitam Nutr Res. Switzerland;2010.;80:216–24.

139. Yang Y, Zhang F, Ding R, Wang Y, Lei H, Hu D. Association of ADIPOQ gene polymorphisms and coronary artery disease risk: A meta-analysis based on 12 465 subjects. Thromb Res.; 2012.;130:58–64.

140. Chiodini BD, Specchia C, Gori F, Barlera S, D'Orazio A, Pietri S i sur.. Adiponectin gene polymorphisms and their effect on the risk of myocardial infarction and type 2 diabetes: an association study in an Italian population. Ther Adv Cardiovasc Dis. England;2010.;4:223–30.

141. Hegener HH, Lee IM, Cook NR, Ridker PM, Zee RYL. Association of adiponectin gene variations with risk of incident myocardial infarction and ischemic stroke: A nested case-control study. Clin Chem. 2006.;52:2021–7.

142. Prior SL, Gable DR, Cooper J a., Bain SC, Hurel SJ, Humphries SE i sur.. Association between the adiponectin promoter rs266729 gene variant and oxidative stress in patients with diabetes mellitus. Eur Heart J. 2009.;30:1263–9.

143. Kaklamani VG, Wisinski KB, Sadim M, Gulden C, Do A, Offit K i sur.. Variants of the adiponectin (ADIPOQ) and adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) genes and colorectal cancer risk. JAMA. 2008.;300:1523–31.

144. Carvajal-Carmona LG, Spain S, Kerr D, Houlston R, Cazier JB, Tomlinson I. Common variation at the adiponectin locus is not associated with colorectal cancer risk in the UK. Hum Mol Genet. 2009.;18:1889–92.

145. Ye C, Wang J, Tan S, Zhang J, Li M, Sun P. Meta-analysis of adiponectin polymorphisms and colorectal cancer risk. Int J Med Sci. 2013.;10:1113–20.

146. Kaklamani V, Yi N, Zhang K, Sadim M, Offit K, Oddoux C i sur.. Polymorphisms of ADIPOQ and ADIPOR1 and prostate cancer risk. Metabolism. 2011.;60:1234–43.

147. Dhillon PK, Penney KL, Schumacher F, Rider JR, Sesso HD, Pollak M i sur.. Common polymorphisms in the adiponectin and its receptor genes, adiponectin levels and the risk of prostate cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.2011.;20:2618–27.

148. Wei Q-Y, Ye D-W, Gu C-Y, Li Q-X, Zhu Y, Wang M-Y i sur.. Genetic variations of the ADIPOQgene and risk of prostate cancer in Chinese Han men. Asian J Androl. 2014.;16:878.

149. Cui E, Deng A, Wang X, Wang B, Mao W, Feng X i sur.. The role of adiponectin (ADIPOQ) gene polymorphisms in the susceptibility and prognosis of non-small cell lung cancer. Biochem Cell Biol.2011.;89:308–13.

150. Yang Y, Zhang F, Ding R, Skrip L, Wang Y, Lei H i sur.. ADIPOQ gene polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis. Cytokine. United States; 2013.;61:565–71.

151. Xu Y, He B, Pan Y, Gu L, Nie Z, Chen L i sur.. The roles of ADIPOQ genetic variations in cancer risk: evidence from published studies. Mol Biol Rep.2013.;40:1135–44.

152. Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S i sur.. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. Hum Mol Genet.2002.;11:2607–14.

153. Guo X, Saad MF, Langefeld CD, Williams AH, Cui J, Taylor KD i sur.. Genome-wide linkage of plasma adiponectin reveals a major locus on chromosome 3q distinct from the adiponectin structural gene: the IRAS family study. Diabetes. United States; jun 2006.;55(6):1723–30.

154. Henneman P, Aulchenko YS, Frants RR, Zorkoltseva I V, Zillikens MC, Frolich M i sur.. Genetic architecture of plasma adiponectin overlaps with the genetics of metabolic syndrome-related traits. Diabetes Care.2010.;33:908–13.

155. Bouatia-Naji N, Meyre D, Lobbens S, Seron K, Fumeron F, Balkau B i sur.. ACDC/adiponectin polymorphisms are associated with severe childhood and adult obesity. Diabetes.2006.;55:545–50.

156. Woo JG, Dolan LM, Deka R, Kaushal RD, Shen Y, Pal P i sur.. Interactions between noncontiguous haplotypes in the adiponectin gene ACDC are associated with plasma adiponectin. Diabetes.2006.;55:523–9.

157. Vasseur F, Helbecque N, Lobbens S, Vasseur-Delannoy V, Dina C, Clément K i sur.. Hypoadiponectinaemia and high risk of type 2 diabetes are associated with adiponectin-encoding (ACDC) gene promoter variants in morbid obesity: evidence for a role of ACDC in diabesity. Diabetologia.2005.;48:892–9.

158. Menzaghi C, Ercolino T, Salvemini L, Coco A, Kim SH, Fini G i sur.. Multigenic control of serum adiponectin levels: evidence for a role of the APM1 gene and a locus on 14q13. Physiol Genomics. 2004.;19:170–4.

159. Morandi A, Maffeis C, Lobbens S, Bouatia-Naji N, Heude B, Pinelli L i sur.. Early detrimental metabolic outcomes of rs17300539-A allele of ADIPOQ gene despite higher adiponectinemia. Obesity (Silver Spring).2010.;18:1469–73.

160. Prior SL, Jones D a., Gill G V., Bain SC, Stephens JW. Association of the adiponectin rs266729 C>G variant and coronary heart disease in the low risk „Golden Years“ type 1 diabetes cohort. Diabetes Res Clin Pract.; 2011.;91:e71–4.

161. Masson S, Gori F, Latini R, Milani V, Flyvbjerg A, Frystyk J i sur.. Adiponectin in chronic heart failure: Influence of diabetes and genetic variants. Eur J Clin Invest. 2011.;41:1330–8.

162. Zhang D, Efendic S, Brismar K, Gu HF. Effects of MCF2L2, ADIPOQ and SOX2 genetic polymorphisms on the development of nephropathy in type 1 Diabetes Mellitus. BMC Med Genet. 2010.;11:116.

163. Prior SL, Javid J, Gill G V, Bain SC, Stephens JW. The adiponectin rs17300539 G>A variant and nephropathy risk. Kidney Int. 2008.;74:1361.

164. 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:E527–33.

165. Lang H-F, Chou C-Y, Sheu WH-H, Lin J-Y. Weight loss increased serum adiponectin but decreased lipid levels in obese subjects whose body mass index was lower than 30 kg/m(2). Nutr Res. United States;2011.;31:378–86.

166. Ryan AS, Nicklas BJ, Berman DM, Elahi D. Adiponectin levels do not change with moderate dietary induced weight loss and exercise in obese postmenopausal women. Int J Obes Relat Metab Disord. England;2003.;27:1066–71.

167. Greenberg AS, Obin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr.2006.;83:461S – 465S.

168. Fasshauer M, Paschke R, Stumvoll M. Adiponectin, obesity, and cardiovascular disease. Biochimie.2004.;86:779–84.

169. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeyer HK, Arita Y, Hansen BC i sur.. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. Diabetes. United States; 2001.;50:1126–33.

170. Ryo M, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M i sur.. Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. Circ J. Japan;2004.;68:975–81.

171. Matsushita K, Yatsuya H, Tamakoshi K, Wada K, Otsuka R, Takefuji S i sur.. Comparison of circulating adiponectin and proinflammatory markers regarding their association with metabolic syndrome in Japanese men. Arterioscler Thromb Vasc Biol.2006.;26:871–6.

172. Yatagai T, Nagasaka S, Taniguchi A, Fukushima M, Nakamura T, Kuroe A i sur.. Hypoadiponectinemia is associated with visceral fat accumulation and insulin resistance in Japanese men with type 2 diabetes mellitus. Metabolism.2003.;52:1274–8.

173. Nagasawa A, Fukui K, Funahashi T, Maeda N, Shimomura I, Kihara S i sur.. Effects of soy protein diet on the expression of adipose genes and plasma adiponectin. Horm Metab Res = Horm und Stoffwechselforsch = Horm Metab. 2002.;34:635–9.

174. Flachs P, Mohamed-Ali V, Horakova O, Rossmeisl M, Hosseinzadeh-Attar MJ, Hensler M i sur.. Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. Diabetologia.2006.;49:394–7.

175. Nagao K, Inoue N, Wang Y-M, Yanagita T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. Biochem Biophys Res Commun. 2003.;310(2):562–6.

176. Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. Obes Rev.2005.;6:13–21.

177. Lihn AS, Ostergard T, Nyholm B, Pedersen SB, Richelsen B, Schmitz O. Adiponectin expression in adipose tissue is reduced in first-degree relatives of type 2 diabetic patients. Am J Physiol Endocrinol Metab.2003.;284:E443–8.

178. 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 lipoatrophy and obesity. Nat Med. 2001.;7:941–6.

179. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KSL, Cooper GJS. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. J Clin Invest. United States; 2003.;112:91–100.

180. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. Adipokines and insulin resistance. Mol Med.2008.;14:741–51.

181. 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 Metab. 2011.;13:401–12.

182. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. JAMA.2009.;302:179–88.

183. Komura N, Kihara S, Sonoda M, Maeda N, Tochino Y, Funahashi T i sur.. Increment and impairment of adiponectin in renal failure. Cardiovasc Res.2010.;86:471–7.

184. Kruger IM, Huisman HW, Schutte AE. The relationship between adiponectin, ageing and renal function in a bi-ethnic sample. Regul Pept.2011.;169:58–63.

185. Becker B, Kronenberg F, Kielstein JT, Haller H, Morath C, Ritz E i sur.. Renal insulin resistance syndrome, adiponectin and cardiovascular events in patients with kidney

disease: the mild and moderate kidney disease study. J Am Soc Nephrol.2005.;16:1091–8.

186. Stenvinkel P, Marchlewska A, Pecoits-Filho R, Heimburger O, Zhang Z, Hoff C i sur.. Adiponectin in renal disease: relationship to phenotype and genetic variation in the gene encoding adiponectin. Kidney Int.2004.;65:274–81.

187. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argiles A, Baurmeister U, Brunet P i sur.. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. Kidney Int.2003.;63:1934–43.

188. Huang J-W, Yen C-J, Chiang H-W, Hung K-Y, Tsai T-J, Wu K-D. Adiponectin in peritoneal dialysis patients: a comparison with hemodialysis patients and subjects with normal renal function. Am J Kidney Dis. 2004.;43:1047–55.

189. Zoccali C, Mallamaci F, Panuccio V, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S i sur.. Adiponectin is markedly increased in patients with nephrotic syndrome and is related to metabolic risk factors. Kidney Int Suppl.2003.;:S98–102.

190. Saraheimo M, Forsblom C, Fagerudd J, Teppo A-M, Pettersson-Fernholm K, Frystyk J i sur.. Serum adiponectin is increased in type 1 diabetic patients with nephropathy. Diabetes Care.2005.;28:1410–4.

191. Sharma K, Ramachandrarao S, Qiu G, Usui HK, Zhu Y, Dunn SR i sur.. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. J Clin Invest.2008.;118:1645–56.

192. Sharma K. The link between obesity and albuminuria: adiponectin and podocyte dysfunction. Kidney Int.2009.;76:145–8.

193. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, Parlongo S i sur.. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. J Am Soc Nephrol.2002.;13:134–41.

194. Iwashima Y, Horio T, Kumada M, Suzuki Y, Kihara S, Rakugi H i sur.. Adiponectin and renal function, and implication as a risk of cardiovascular disease. Am J Cardiol.2006.;98:1603–8.

195. Ignacy W, Chudek J, Adamczak M, Funahashi T, Matsuzawa Y, Kokot F i sur.. Reciprocal association of plasma adiponectin and serum C-reactive protein concentration in haemodialysis patients with end-stage kidney disease--a follow-up study. Nephron Clin Pract.2005.;101:c18–24.

196. Drechsler C, Krane V, Winkler K, Dekker FW, Wanner C. Changes in adiponectin and the risk of sudden death, stroke, myocardial infarction, and mortality in hemodialysis patients. Kidney Int. 2009.;76:567–75.

197. Menon V, Li L, Wang X, Greene T, Balakrishnan V, Madero M i sur.. Adiponectin and mortality in patients with chronic kidney disease. J Am Soc Nephrol.2006.;17:2599–606.

198. Ohashi N, Kato A, Misaki T, Sakakima M, Fujigaki Y, Yamamoto T i sur.. Association of serum adiponectin levels with all-cause mortality in hemodialysis patients. Intern Med. Japan; 2008.;47:485–91.

199. Rao M, Li L, Tighiouart H, Jaber BL, Pereira BJG, Balakrishnan VS. Plasma adiponectin levels and clinical outcomes among haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant.2008.;23:2619–28.

200. Chudek J, Adamczak M, Karkoszka H, Budzinski G, Ignacy W, Funahashi T i sur.. Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. Transplant Proc. 2003.;35:2186–9.

201. Kistorp C, Faber J, Galatius S, Gustafsson F, Frystyk J, Flyvbjerg A i sur.. Plasma adiponectin, body mass index, and mortality in patients with chronic heart failure. Circulation. 2005.;112:1756–62.

202. Wang Z V, Scherer PE. Adiponectin, cardiovascular function, and hypertension. Hypertension. 2008.;51:8–14.

203. Ouchi N, Ohishi M, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nagaretani H i sur.. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. Hypertension.2003.;42:231–4.

204. Ouedraogo R, Gong Y, Berzins B, Wu X, Mahadev K, Hough K i sur.. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. J Clin Invest.2007.;117:1718–26.

205. Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Cardioprotection by Adiponectin. Trends Cardiovasc Med. 2006.;16:141–6.

206. Tan KCB, Xu A, Chow WS, Lam MCW, Ai VHG, Tam SCF i sur.. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation. J Clin Endocrinol Metab.2004.;89:765–9.

207. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. Nature. 1999.;399:601–5.

208. Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, Fontana J, Fujio Y, Walsh K i sur.. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. Nature.1999.;399:597–601.

209. Cheng KKY, Lam KSL, Wang Y, Huang Y, Carling D, Wu D i sur.. Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. Diabetes. United States 2007.;56:1387–94.

210. Rojas E, Rodríguez-Molina D, Bolli P, Israili ZH, Faría J, Fidilio E i sur.. The role of adiponectin in endothelial dysfunction and hypertension. Curr Hypertens Rep. 2014.;16.

211. Atlas SA. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. J Manag Care Pharm.2007.;13:9–20.

212. Thatcher S, Yiannikouris F, Gupte M, Cassis L. The adipose renin-angiotensin system: role in cardiovascular disease. Mol Cell Endocrinol.2009.;302:111–7.

213. Ran J, Hirano T, Fukui T, Saito K, Kageyama H, Okada K i sur.. Angiotensin II infusion decreases plasma adiponectin level via its type 1 receptor in rats: an implication for hypertension-related insulin resistance. Metabolism.2006.;55:478–88.

214. Laursen JB, Rajagopalan S, Galis Z, Tarpey M, Freeman BA, Harrison DG. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension. Circulation. 1997.;95:588–93.

215. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y i sur.. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest.2004.;114:1752–61.

216. Wang Z V, Schraw TD, Kim J-Y, Khan T, Rajala MW, Follenzi A i sur.. Secretion of the adipocyte-specific secretory protein adiponectin critically depends on thiol-mediated protein retention. Mol Cell Biol. 2007.;27:3716–31.

217. Benson SC, Pershadsingh HA, Ho CI, Chittiboyina A, Desai P, Pravenec M i sur.. Identification of telmisartan as a unique angiotensin II receptor antagonist with selective PPARgamma-modulating activity. Hypertension. 2004.;43:993–1002.

218. Schupp M, Janke J, Clasen R, Unger T, Kintscher U. Angiotensin type 1 receptor blockers induce peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity. Circulation.2004.;109:2054–7.

219. McCorry LK. Physiology of the autonomic nervous system. Am J Pharm Educ. United States;2007.;71:78.

220. Tentolouris N, Liatis S, Katsilambros N. Sympathetic system activity in obesity and metabolic syndrome. Ann N Y Acad Sci. 2006.;1083:129–52.

221. Imai J, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Uno K i sur.. Cold exposure suppresses serum adiponectin levels through sympathetic nerve activation in mice. Obesity (Silver Spring). 2006.;14:1132–41.

222. Clasen R, Schupp M, Foryst-Ludwig A, Sprang C, Clemenz M, Krikov M i sur.. PPARgamma-activating angiotensin type-1 receptor blockers induce adiponectin. Hypertension.2005.;46:137–43.

223. Tanida M, Shen J, Horii Y, Matsuda M, Kihara S, Funahashi T i sur.. Effects of adiponectin on the renal sympathetic nerve activity and blood pressure in rats. Exp Biol Med (Maywood).2007.;232:390–7.

224. Kotsis V, Stabouli S, Papakatsika S, Rizos Z, Parati G. Mechanisms of obesity-induced hypertension. Hypertens Res.2010.;33:386–93.

225. Grassi G, Vailati S, Bertinieri G, Seravalle G, Stella ML, Dell'Oro R i sur.. Heart rate as marker of sympathetic activity. J Hypertens.1998.;16:1635–9.

226. Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: consensus and controversy. J Allergy Clin Immunol.2008.;121:326–30.

227. Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, Madhur MS, Marvar PJ, Thabet SR i sur.. Inflammation, immunity, and hypertension. Hypertension.2011.;57:132–40.

228. Savoia C, Schiffrin EL. Inflammation in hypertension. Curr Opin Nephrol Hypertens.2006.;15:152–8.

229. Sabbatini AR, Fontana V, Laurent S, Moreno H. An update on the role of adipokines in arterial stiffness and hypertension. J Hypertens. 2015.;33:435–44.

230. Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. Circulation. 2003.;107:2864–9.

231. Payne RA, Wilkinson IB, Webb DJ. Arterial stiffness and hypertension: emerging concepts. Hypertension. 2010.;55:9–14.

232. 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.;16:72–5.

233. Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Ouchi N, Ohishi M, Sugimoto K i sur.. Hypoadiponectinemia is an independent risk factor for hypertension. Hypertension.2004.;43:1318–23.

234. Chow W-S, Cheung BMY, Tso AWK, Xu A, Wat NMS, Fong CHY i sur.. Hypoadiponectinemia as a predictor for the development of hypertension: a 5-year prospective study. Hypertension.2007.;49:1455–61.

235. Murakami H, Ura N, Furuhashi M, Higashiura K, Miura T, Shimamoto K. Role of adiponectin in insulin-resistant hypertension and atherosclerosis. Hypertens Res. 2003.;26:705–10.

236. Lambert M, O'Loughlin J, Delvin EE, Levy E, Chiolero A, Paradis G. Association between insulin, leptin, adiponectin and blood pressure in youth. J Hypertens. 2009.;27:1025–32.

237. Snehalatha C, Yamuna A, Ramachandran A. Plasma adiponectin does not correlate with insulin resistance and cardiometabolic variables in nondiabetic Asian Indian teenagers. Diabetes Care.2008.;31:2374–9.

238. Zhuo Q, Wang Z-Q, Fu P, Piao J-H, Tian Y, Xu J i sur.. Association between adiponectin and metabolic syndrome in older adults from major cities of China. Biomed Environ Sci. 2010.;23:53–61.

239. Asferg C, Mogelvang R, Flyvbjerg A, Frystyk J, Jensen JS, Marott JL i sur.. Leptin, not adiponectin, predicts hypertension in the Copenhagen City Heart Study. Am J Hypertens.2010.;23:327–33.

240. Sattar N, Watt P, Cherry L, Ebrahim S, Davey Smith G, Lawlor DA. High molecular weight adiponectin is not associated with incident coronary heart disease in older women: a nested prospective case-control study. J Clin Endocrinol Metab.2008.;93:1846–9.

241. Imatoh T, Miyazaki M, Momose Y, Tanihara S, Une H. Adiponectin levels associated with the development of hypertension: a prospective study. Hypertens Res 2008.;31:229–33.

242. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res.1988.;16:1215.

243. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. Evol Bioinform Online.2005.;1:47–50.

244. Excoffier L, Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. Mol Biol Evol. 1995.;12:921–7.

245. Clarke GM, Anderson CA, Pettersson FH, Cardon LR, Morris AP, Zondervan KT. Basic statistical analysis in genetic case-control studies. Nat Protoc. 2011.;6:121–33.

246. Lettre G, Lange C, Hirschhorn JN. Genetic model testing and statistical power in population-based association studies of quantitative traits. Genet Epidemiol. 2007.;31:358–62.

247. Diniz-Filho JAF, Soares TN, Lima JS, Dobrovolski R, Landeiro VL, de Campos Telles MP i sur.. Mantel test in population genetics. Genet Mol Biol. 2013.;36:475–85.

248. Jensen JL, Bohonak AJ, Kelley ST. Isolation by distance, web service. BMC Genet.2005.;6:13.

249. Karmelić I, Lovrić J, Božina T, Ljubić H, Vogrinc Ž, Božina N i sur.. Adiponectin Level and Gene Variability Are Obesity and Metabolic Syndrome Markers in a Young Population. Arch Med Res. 2012.;43:145–53.

250. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V i sur.. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet. England;2012.;380:2095–128.

251. Berghofer A, Pischon T, Reinhold T, Apovian CM, Sharma AM, Willich SN. Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. BMC Public Health.2008.;8:200.

252. Ohashi K, Ouchi N, Matsuzawa Y. Anti-inflammatory and anti-atherogenic properties of adiponectin. Biochimie. 2012.;94:2137–42.

253. Lindberg S, Mogelvang R, Pedersen SH, Bjerre M, Frystyk J, Flyvbjerg A i sur.. Relation of serum adiponectin levels to number of traditional atherosclerotic risk factors and all-cause mortality and major adverse cardiovascular events (from the Copenhagen City Heart Study). Am J Cardiol.2013.;111:1139–45.

254. Beatty AL, Zhang MH, Ku IA, Na B, Schiller NB, Whooley MA. Adiponectin is associated with increased mortality and heart failure in patients with stable ischemic heart disease: data from the Heart and Soul Study. Atherosclerosis. 2012.;220:587–92.

255. Wu Z-J, Cheng Y-J, Gu W-J, Aung LHH. Adiponectin is associated with increased mortality in patients with already established cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. Metabolism. 2014.;63:1157–66.

256. Arregui M, Buijsse B, Fritsche A, di Giuseppe R, Schulze MB, Westphal S i sur.. Adiponectin and risk of stroke: prospective study and meta-analysis. Stroke. 2014.;45:10–7.

257. Zhang H, Mo X, Hao Y, Huang J, Lu X, Cao J i sur.. Adiponectin levels and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. Am J Med Sci.2013.;345:455–61.

258. Isobe T, Saitoh S, Takagi S, Takeuchi H, Chiba Y, Katoh N i sur.. Influence of gender, age and renal function on plasma adiponectin level: the Tanno and Sobetsu study. Eur J Endocrinol. 2005.;153:91–8.

259. Eglit T, Lember M, Ringmets I, Rajasalu T. Gender differences in serum high-molecular-weight adiponectin levels in metabolic syndrome. Eur J Endocrinol.2013.;168:385–91.

260. Hoeg LD, Sjoberg KA, Lundsgaard A-M, Jordy AB, Hiscock N, Wojtaszewski JFP i sur.. Adiponectin concentration is associated with muscle insulin sensitivity, AMPK phosphorylation, and ceramide content in skeletal muscles of men but not women. J Appl Physiol.2013.;114:592–601.

261. Bottner A, Kratzsch J, Muller G, Kapellen TM, Bluher S, Keller E i sur.. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. J Clin Endocrinol Metab.t2004.;89:4053–61.

262. Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenez-Chillaron JC i sur.. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. Diabetes. 2003.;52:268–76.

263. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H i sur.. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. Diabetes.2002.;51:2734–41.

264. Milewicz A, Jedrzejuk D, Dunajska K, Lwow F. Waist circumference and serum adiponectin levels in obese and non-obese postmenopausal women. Maturitas.2010.;65:272–5.

265. Weiss R, Dufour S, Groszmann A, Petersen K, Dziura J, Taksali SE i sur.. Low adiponectin levels in adolescent obesity: a marker of increased intramyocellular lipid accumulation. J Clin Endocrinol Metab.2003.;88:2014–8.

266. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. Eur J Endocrinol.2002.;147:173–80.

267. Aso Y, Yamamoto R, Wakabayashi S, Uchida T, Takayanagi K, Takebayashi K i sur.. Comparison of serum high-molecular weight (HMW) adiponectin with total adiponectin concentrations in type 2 diabetic patients with coronary artery disease using a novel enzyme-linked immunosorbent assay to detect HMW adiponectin. Diabetes.2006.;55:1954–60.

268. Okauchi Y, Kishida K, Funahashi T, Noguchi M, Ogawa T, Ryo M i sur.. Changes in serum adiponectin concentrations correlate with changes in BMI, waist circumference, and estimated visceral fat area in middle-aged general population. Diabetes care. 2009.e122.

269. Kuo S-M, Halpern MM. Lack of association between body mass index and plasma adiponectin levels in healthy adults. Int J Obes (Lond). 2011.;35:1487–94.

270. Kawamoto R, Tabara Y, Kohara K, Abe M, Kusunoki T, Miki T. Association of serum high molecular weight adiponectin and blood pressure among non-diabetic community-dwelling men. Clin Exp Hypertens 2011.;33:336–44.

271. 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.;103:137–42.

272. Mallamaci F, Zoccali C, Cuzzola F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S i sur.. Adiponectin in essential hypertension. J Nephrol.2002.;15:507–11.

273. Milosevic M, Golubic R, Mustajbegovic J, Jelinic JD, Janev Holcer N, Kern J. Regional pattern of physical inactivity in Croatia. Coll Antropol.2009.;33 Suppl 1:35–8.

274. Dvorakova-Lorenzova A, Suchanek P, Havel PJ, Stavek P, Karasova L, Valenta Z i sur.. The decrease in C-reactive protein concentration after diet and physical activity induced weight reduction is associated with changes in plasma lipids, but not interleukin-6 or adiponectin. Metabolism.2006.;55:359–65.

275. Ring-Dimitriou S, Paulweber B, von Duvillard SP, Stadlmann M, LeMura LM, Lang J i sur.. The effect of physical activity and physical fitness on plasma adiponectin in adults with predisposition to metabolic syndrome. Eur J Appl Physiol.2006.;98:472–81.

276. Kozakova M, Balkau B, Morizzo C, Bini G, Flyvbjerg A, Palombo C. Physical activity, adiponectin, and cardiovascular structure and function. Heart Vessels.2013.;28:91–100.

277. Doumatey AP, Zhou J, Huang H, Adeleye J, Balogun W, Fasanmade O i sur.. Circulating adiponectin is associated with renal function independent of age and serum lipids in west africans. Int J Nephrol.2012.;730920.

278. Martinez Cantarin MP, Waldman SA, Doria C, Frank AM, Maley WR, Ramirez CB i sur.. The adipose tissue production of adiponectin is increased in end-stage renal disease. Kidney Int.2013.;83:487–94.

279. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. J Allergy Clin Immunol.2005.;115:911–9; quiz 920.

280. Gómez R, Conde J, Gómez Reino JJ, Lago F, Gualillo O. Adipocytokines: emerging mediators of the immune response and inflammation. Reumatol Clin. 2009.;5S1:6–12.

281. Yasmin, Brown MJ. Similarities and differences between augmentation index and pulse wave velocity in the assessment of arterial stiffness. QJM.1999.;92:595–600.

282. Asmar R, Rudnichi A, Blacher J, London GM, Safar ME. Pulse pressure and aortic pulse wave are markers of cardiovascular risk in hypertensive populations. Am J Hypertens.2001.;14:91–7.

283. Ni Y, Wang H, Hu D, Zhang W. The relationship between pulse wave velocity and pulse pressure in Chinese patients with essential hypertension. Hypertens Res.2003.;26:871–4.

284. Fodor L, Premuzic V, Ivkovic V, Perkov D, Laganovic M, Vrkic TZ i sur.. Arterial stiffness in atherosclerotic renovascular hypertension. J Hypertens.2014.;32:2238–45; discussion 2245.

285. Zadjali F, AL-Yahyaee S, Hassan MO, Albarwani S, Bayoumi R a. Association of adiponectin promoter variants with traits and clusters of metabolic syndrome in Arabs: Family-based study. Gene. 2013.;527:663–9.

286. Tailakh A, Evangelista LS, Mentes JC, Pike NA, Phillips LR, Morisky DE. Hypertension prevalence, awareness, and control in Arab countries: a systematic review. Nurs Health Sci.2014.;16:126–30.

287. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. Lancet. 365:217–23.

288. Saeed AA, Al-Hamdan NA, Bahnassy AA, Abdalla AM, Abbas MAF, Abuzaid LZ. Prevalence, Awareness, Treatment, and Control of Hypertension among Saudi Adult Population: A National Survey. Int J Hypertens.2011.174135.

289. Delles C, McBride MW, Graham D, Padmanabhan S, Dominiczak AF. Genetics of hypertension: from experimental animals to humans. Biochim Biophys Acta.2010.;1802:1299–308.

290. O'Shaughnessy KM. Dissecting complex traits: recent advances in hypertension genomics. Genome Med. 2009.;1:43.

291. Chen D, Liu L, Xiao Y, Peng Y, Yang C, Wang Z. Ethnic-specific meta-analyses of association between the OPRM1 A118G polymorphism and alcohol dependence among Asians and Caucasians. Drug Alcohol Depend.2012.;123:1–6.

292. Avery PJ, Patel SK, Ibrahim IM, Walker M, Keavney BD. Common variation in the adiponectin gene has an effect on systolic blood pressure. J Hum Hypertens. 2011.;25:719–24.

293. Patel S, Flyvbjerg A, Kozakova M, Frystyk J, Ibrahim IM, Petrie JR i sur.. Variation in the ADIPOQ gene promoter is associated with carotid intima media thickness independent of plasma adiponectin levels in healthy subjects. Eur Heart J. England.29:386–93.

294. Zhao T, Zhao J. Genetic effects of adiponectin on blood lipids and blood pressure. Clin Endocrinol (Oxf). 2011.;74:214–22.

295. Buzzetti R, Petrone a, Zavarella S, Zampetti S, Spoletini M, Potenziani S i sur.. The glucose clamp reveals an association between adiponectin gene polymorphisms and insulin sensitivity in obese subjects. Int J Obes (Lond). 2007.;31:424–8.

296. Mente A, Meyre D, Lanktree MB, Heydarpour M, Darlene Davis a., Miller R i sur.. Causal Relationship between Adiponectin and Metabolic Traits: A Mendelian Randomization Study in a Multiethnic Population. PLoS One. 2013.;8(6).

297. Vasseur F, Helbecque N, Lobbens S, Vasseur-Delannoy V, Dina C, Clement K i sur.. Hypoadiponectinaemia and high risk of type 2 diabetes are associated with adiponectin-encoding (ACDC) gene promoter variants in morbid obesity: evidence for a role of ACDC in diabesity. Diabetologia.2005.;48:892–9.

298. Bueno AC, Espiñeira AR, Fernandes-Rosa FL, De Souza RM, De Castro M, Moreira AC i sur.. Adiponectin: Serum levels, promoter polymorphism, and associations with birth size and cardiometabolic outcome in young adults born large for gestational age. Eur J Endocrinol. 2010.;162:53–60.

299. Hoefle G, Muendlein A, Saely CH, Risch L, Rein P, Koch L i sur.. The -11377 C>G promoter variant of the adiponectin gene, prevalence of coronary atherosclerosis, and incidence of vascular events in men. Thromb Haemost.2007.;97:451–7.

300. Kyriakou T, Collins LJ, Spencer-Jones NJ, Malcolm C, Wang X, Snieder H i sur.. Adiponectin gene ADIPOQ SNP associations with serum adiponectin in two female populations and effects of SNPs on promoter activity. J Hum Genet. 2008.;53:718–27.

301. Snehalatha C, Mukesh B, Simon M, Viswanathan V, Haffner SM, Ramachandran A. Plasma adiponectin is an independent predictor of type 2 diabetes in Asian indians. Diabetes Care.2003.;26:3226–9.

302. Hung Y-J, Chu N-F, Wang S-C, Hsieh C-H, He C-T, Lee C-H i sur.. Correlation of plasma leptin and adiponectin with insulin sensitivity and beta-cell function in children - the Taipei Children Heart Study. Int J Clin Pract.2006.;60:1582–7.

303. Osei K, Gaillard T, Schuster D. Plasma adiponectin levels in high risk African-Americans with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes. Obes Res.2005.;13:179–85.

304. Punthakee Z, Delvin EE, O'loughlin J, Paradis G, Levy E, Platt RW i sur.. Adiponectin, adiposity, and insulin resistance in children and adolescents. J Clin Endocrinol Metab.2006.;91:2119–25.

305. Retnakaran R, Hanley AJG, Zinman B. Does hypoadiponectinemia explain the increased risk of diabetes and cardiovascular disease in South Asians? Diabetes Care.2006.;29:1950–4.

306. Vozarova de Courten B, Hanson RL, Funahashi T, Lindsay RS, Matsuzawa Y, Tanaka S i sur.. Common Polymorphisms in the Adiponectin Gene ACDC Are Not Associated With Diabetes in Pima Indians. Diabetes. 2005.;54:284–9.

307. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia.1985.;28:412–9.

308. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. Diabetes Care.2004.;27:1487–95.

Web izvori:

- www.scielo.br
- www.1000genomes.org
- http://onlinelibrary.wiley.com

8. ŽIVOTOPIS

Vanja Ivković rođen je 17.4.1988. u Osijeku gdje je završio osnovnu školu i prirodoslovno matematičku gimnaziju. Upisao je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu akademske godine 2007./2008., a završio 15.7.2013. Tijekom studija nagrađen je Dekanovom nagradom za najbolji znanstveni rad studenta i Rektorovom nagradom. Bio je demonstrator na Katedri za internu medicinu i Katedri za patofiziologiju. Od 2015. godine zaposlen je kao specijalizant nefrologije na Zavodu za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju Klinike za unutarnje bolesti KBC Zagreb. Publicirao je 5 radova, od toga 4 u časopisima indeksiranima u *Current Contents* bibliografskoj bazi i oko pedesetak sažetaka na petnaestak kongresa, većinom europskih i svjetskih. Aktivan je u Mreži mladih istraživača Međunarodnog društva za hipertenziju. Usavršavao se iz epidemiologije na tečaju organiziranom od Europskog društva za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju. Član je Hrvatskog društva za hipertenziju i Međunarodnog društva za hipertenziju. Znanstveni i stručni interesi su mu hipertenzija, nefrologija i kardiovaskularna epidemiologija.