

# Dijagnostička vrijednost određivanja adiponektina u procjeni rizika za pojavu diabetesa tip 2

---

**Bokunić, Ivan**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:025968>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Ivan Bokunić**

**DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST  
ODREĐIVANJA ADIPONEKTINA U  
PROCJENI RIZIKA ZA POJAVU  
DIJABETESA TIP 2**

**Diplomski rad**

**OSIJEK, 2020.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO  
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Ivan Bokunić**

**DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST  
ODREĐIVANJA ADIPONEKTINA U  
PROCJENI RIZIKA ZA POJAVU  
DIJABETESA TIP 2**

**Diplomski rad**

**OSIJEK, 2020.**

Rad je ostvaren na Zavodu za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

**Mentor rada:** doc. dr. sc. Vatroslav Šerić, mag. med. biochem., spec. med. biochem.

**Broj listova: 59**

**Broj slika: 16**

**Broj tablica: 19**

**Broj literaturnih navoda: 33**

## ZAHVALA

*Zahvaljujem svojim roditeljima Mirjani i Robertu na podršci i razumijevanju te što su mi omogućili završetak studija.*

*Hvala mojoj sestri Robertini što me je bodrila tijekom studiranja te bila veliki oslonac onda kad je bilo najpotrebnije.*

*Kolege, vama s kojima sam dijelio sate, dane i godine na fakultetu najviše zahvaljujem što ste me svojim prijateljstvom još više obogatili kao osobu a, unatoč velikim izazovima i teškoćama, bila mi je iskrena čast i veliko zadovoljstvom s vama gurati kroz sve prepreke.*

*Velike i najiskrenije zahvale mentoru doc. dr. sc. Vatroslavu Šeriću na vodstvu, usmjeravanju, suradnji te savjetima o oblikovanju istraživanja za diplomski rad.*

*Nadalje, zahvaljujem i osoblju Kliničkog bolničkog centra Osijek na velikodušnom pomaganju u prikupljanju uzoraka.*

*Izrazitu zahvalnost dugujem i iskazujem svojim profesorima, docentima i asistentima na utrošenom trudu, vremenu i strpljenju koji su tijekom pet godina nesebično dijelili i prenosili svoje bogato znanstveno, ali i životno iskustvo.*

S poštovanjem,

Ivan Bokunić

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. Šećerna bolest ( lat. <i>diabetes mellitus</i>)</b> .....	1
<b>1.2. Predijabetes</b> .....	2
<b>1.3. Klasifikacija šećerne bolesti</b> .....	3
<b>1.3.1. Glukometabolička klasifikacija šećerne bolesti</b> .....	4
<b>1.4. Epidemiologija dijabetesa u Republici Hrvatskoj</b> .....	5
<b>1.5. Inzulin i hormonska regulacija glukoze u krvi</b> .....	6
<b>1.6.1. Inzulinska rezistencija u mišićima i metabolizam glukoze</b> .....	8
<b>1.6.2. Inzulinska rezistencija u jetri i metabolizam glukoze</b> .....	8
<b>1.8. Adiponektin</b> .....	10
<b>1.8.1. Adiponektinski receptori AdipoR1/AdipoR2</b> .....	11
<b>1.8.2. Signalni proteini u signalnim putovima stimuliranim adiponektinom</b> .....	11
<b>1.8.3. APPL1 protein</b> .....	11
<b>1.8.4. APPL2 protein</b> .....	12
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	15
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	16
<b>3.1. Ustroj studije</b> .....	16
<b>3.2. Ispitanici</b> .....	16
<b>3.3. Statističke metode</b> .....	17
<b>3.4. Analitičke metode</b> .....	18
<b>3.5. Upute za pripremu ispitanika prije određivanja lipidnog statusa</b> .....	19
<b>3.5.1. Priprema uzorka</b> .....	20
<b>3.6. Mjerenje koncentracije glukoze</b> .....	21
<b>3.6.1. Mjerenje koncentracije adiponektina</b> .....	24
<b>3.6.2. Mjerenje koncentracije kolesterola</b> .....	25
<b>3.6.3. Mjerenje koncentracije triglicerida</b> .....	26
<b>3.6.4. Mjerenje koncentracije C-reaktivnog proteina</b> .....	27
<b>4. REZULTATI</b> .....	28
<b>4.1. Testiranje statističke značajnosti u razlici koncentracija izmjerenih varijabli između pacijenata i kontrolnih ispitanika</b> .....	30
<b>4.2. Regresijska analiza adiponektina s glukozom, CRP-om, kolesterolom, TG i dobi</b> .....	33
<b>4.3. Regresijska analiza tradicionalno određivanih varijabli u dijabetesu</b> .....	38
.....	38

<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>52</b>
<b>7. SAŽETAK.....</b>	<b>53</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>54</b>
<b>9. POPIS LITERATURE.....</b>	<b>55</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>59</b>

## POPIS KRATICA

**ApN** – adiponektin

**ADA** – Američka dijabetička asocijacija (engl. *American Diabetes Association*)

**ADP** – adenzin difosfat (engl. *adenosine diphosphate*)

**ATP** – adenzin trifosfat (engl. *adenosine triphosphate*)

**AMP** – adenzin monofosfat (engl. *adenosine monophosphate*)

**apM1 CDNA** – najzastupljeniji genski prijepis masnog tkiva 1-komplementarne DNA (engl. *Adipose most abundant gene transcript 1*)

**AdipoQ** – adiponektinQ gen

**Acrp30** – protein adipocita srodan komplementu veličine 30 kDa (engl. *Adipocyte complement related protein of 30 kDa*)

**AdipoR** – adiponektinski receptor (engl. *adiponectin receptor*)

**AdipoR1** – adiponektinski receptor 1 (engl. *adiponectin receptor 1*)

**AdipoR2** – adiponektinski receptor 2 (engl. *adiponectin receptor 2*)

**AMP/ATP** – adenzinmonofosfat / adenzintrifosfat omjer (engl. *adenosine monophosphate/adenosine triphosphate ratio*)

**AMPK kinaza** adenzin monofosfat kinaza (engl. *AMP activated protein kinase*)

**Appl1** adapterski proteinski gen11

**APPL1** – adapterski protein 1 (engl. *adaptor Protein 1*)

**APPL2** – adapterski protein 2 (engl. *adaptor protein 2*)

**Akt 2** – protein kinaza B (engl. *protein kinase B*)

**ACC1** – acetil-CoA karboksilaza 1 (engl. *Acetyl-CoA carboxylase 1*)

**AUC** – površina ispod krivulje (engl. *Area Under the ROC Curve*)

**4AAP** – 4-aminoantipirin (engl. *4-Aminoantipyrine*)



**BMP4** – koštani morfogogenetski protein 4 (engl. *bone morphogenetic protein 4*)

**BAR** – Bin-Amfizin-Rvs domena (engl. *Bin-Amphiphysin-Rvs domain*)

**CroDiab** – Hrvatski nacionalni registar osoba za šećernom bolešću (engl. *Croatian National Diabetes Registry*)

**CRP** – C-reaktivni protein (engl. *C-reactive protein*)

**C1q** – komponenta komplementa 1q (engl. *The complement component 1q*)

**cAPN** – kolagenska domena adiponektina (engl. *collagenous domain of adiponectin*)

**CHO-PAP** – kolesterol oksidaza peroksidaza antiperoksidaza (engl. *cholesterol oxidase peroxidase antiperoxidase*)

**CHO** – kolesterol oksidaza (engl. *cholesterol oxidase*)

**CHE** – kolesterol esteraza (engl. *cholesterol esterase*)

**DM** – dijabetes melitus (engl. *Diabetes mellitus*)

**FPG** – glukoza natašte (engl. *fasting plasma glucose*)

**fAPN** – adiponektin pune duljine (engl. *full length adiponectin*)

**FSH** – folikulostimulacijski hormon (engl. *follicle stimulating hormone*)

**GLUT4** – glukozni transporter 4 (engl. *glucose transporter 4*)

**GBP28** – želatinozno vezujući protein od 28 kilodaltona (engl. *Gelatin binding protein of 28 kDa*)

**gAPN** – globularni adiponektin (engl. *globular adiponectin*)

**GUK** – glukoza u krvi

**GPO-PAP** – glicerol fosfat oksidaza peroksidaza (engl. *glycerine phosphate oxidase peroxidase*)

**G-6P** – glukoza-6-fosfat (engl. *glucose 6-phosphate*)

**GK** – glukokinaza (engl. *glucokinase*)

**HDL** – lipoprotein visoke gustoće (engl. *high-density lipoprotein*)

**HK** – heksokinaza (engl. *hexokinase*)

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – vodikov peroksid (engl. *Hydrogen peroxide*)

**IGT** – oštećena tolerancija glukoze (engl. *Impaired Glucose Tolerance*)

**IQR** – interkvartilni raspon (engl. *interquartile range*)

**IRS1/2** – inzulinski receptorski supstrat 1/ 2 (engl. *insulin receptor substrate 1/2*)

**IFCC** – Međunarodna federacija kliničke kemije i laboratorijske medicine (engl. *International Federation of Clinical Chemistry*)

**IRS-1** – inzulinski receptorski signal 1 (engl. *insulin receptor substrate 1*)

**IL-6** – interleukin-6 (engl. *interleukin 6*)

**IGF-1** – čimbenik rasta sličan inzulinu 1 (engl. *insulin-like growth factor 1*)

**LIS** – Laboratorijski informacijski sustav (engl. *Laboratory information system*)

**LDL** – lipoprotein niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*)

**mmol/L** – milimol po litri (engl. *millimoles per litre*)

**Mg<sup>2+</sup>** – magnezijev ion (engl. *magnesium ion*)

**mRNA** – glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *messenger ribonucleic acid*)

**mg/L** – miligram po litri (engl. *milligrams per liter*)

**NAD<sup>+</sup>** – nikotinamid adenin dinukleotid, oksidirani oblik (engl. *nicotinamide adenine dinucleotide, oxidase*)

**NF-κB** – nuklearni čimbenik κB (engl. *nuclear factor-κB*)

**NDDG** – Međunarodna udruga koja objedinjuje skupine za istraživanje dijabetesa (engl. *National Diabetes Data Group*)

**N** – broj

**NADH** – nikotinamid adenin dinukleotid, reducirani oblik (engl. *nicotinamide adenine dinucleotide, reduced*)

**nm** – nanometar (engl. *nanometer*)

**OR** – omjer izgleda (engl. *odds ratio*)

**OTG-PP** – oštećena tolerancija glukoze postprandijalno (engl. *impaired glucose tolerance postprandial*)

**OGGT** – oralni test tolerancije na glukozu (engl. *oral glucose tolerance test*)

**3500o/min** – 3500 okretaja po minuti (engl. *3500 rotations per minute*)

**pat** – patološki (engl. *pathological*)

**PAI-1** – inhibitor aktivacije plazminogena 1 (engl. *plasminogen activator inhibitor-1*)

**P** – statistička značajnost (engl. *statistical significance*)

**P13 kinaza** – fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfataza 3-kinaza (engl. *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase*)

**PH** – domena pleckstrin homologije (engl. *pleckstrin homology domain*)

**PAQR1** – progesteronski receptor 1 (engl. *progesterin and adipoQ receptor-like protein 1*)

**PPAR** – receptori aktivirani peroksisom proliferatorom (engl. *peroxisome proliferator-activated receptors*)

**PG-NT** – plazmatska glukoza natašte

**PAQR2** – membranski progesteronski receptor 2 (engl. *progesterin and adipoQ receptor 2*)

**PAQR** – membranski progesteronski receptor (engl. *progesterin and adipoQ receptor*)

**PPAR- $\gamma$**  – peroksisomskim proliferatorom aktivirani receptor gama (engl. *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*)

**p38-MAP** – proteinska kinaza aktivirana mitogenom 38 (engl. *p38 mitogen-activated protein kinases*)

**PTB** – fosfotirozin vezujuće domene (engl. *phosphotyrosine binding domains*)

**Ref** – referentno (engl. *reference*)

**R1** – reagens 1 (engl. *reagent 1*)

**ROC** – krivulja primatelja–operatora (engl. *a receiver operating characteristic curve*)

**R2** – reagens 2 (engl. *reagent 2*)

**SD** – standardna devijacija (engl. *standard deviation*)

**SZO** – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*)

**TG** – trigliceridi (engl. *triglycerides*)

**T<sub>1/2</sub>** – vrijeme poluživota (engl. *half-life*)

**TNF $\alpha$**  – tumorski čimbenik nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor alpha*)

**7TM** – sedam transmembranska domena (engl. *7-Transmembrane receptors*)

**VLDL** – lipoprotein vrlo niske gustoće (engl. *very-low-density lipoprotein*)

(engl. *World Health Organization*)

**WNT** – grupa signalnih transdukcijskih putova (engl. *Wingless-related integration site*)

## POPIS TABLICA

<b>Tablica 1.</b> Etiološka klasifikacija glikemičnih poremećaja (27). .....	3
<b>Tablica 2.</b> Kriteriji za glukometaboličku klasifikaciju prema SZO-u i ADA-i(27). .....	4
<b>Tablica 3.</b> Tumačenje koeficijenta povezanosti prema Coltonu(28). .....	18
<b>Tablica 4.</b> Analitičke metode i popis učinjenih pretraga (orginal autora rada).....	18
<b>Tablica 5.</b> Preporučene koncentracije lipida u krvi (29). .....	19
<b>Tablica 6.</b> Uzorkovanje (orginal autora rada) .....	20
<b>Tablica 7.</b> Izmjerene koncentracije varijabli za pacijente .....	28
<b>Tablica 8.</b> Izmjerene koncentracije varijabli za kontrolne ispitanike.....	29
<b>Tablica 9.</b> Mann – Whitneyjev U test za adiponektin između skupina.....	30
<b>Tablica 10.</b> Mann – Whitneyjev U test za kolesterol i trigliceride između skupina .....	30
<b>Tablica 11.</b> Mann – Whitneyjev U test za glukozu i CRP između skupina .....	31
<b>Tablica 12.</b> Mann – Whitney U test za adiponektin i godine .....	31
<b>Tablica 13.</b> Vrijednosti korelacija adiponektina s kolesterolom, TG, glukozom i CRP-om te ostalih ispitivanih varijabli međusobno.....	32
<b>Tablica 14.</b> ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći glukozu kao referentni kriterij.....	44
<b>Tablica 15.</b> ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći CRP kao referentni kriterij .....	45
<b>Tablica 16.</b> ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći kolesterol kao referentni kriterij.....	46
<b>Tablica 17.</b> ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći trigliceride kao referentni kriterij.....	47
<b>Tablica 18.</b> Grupiranje ispitanika na temelju koncentracije adiponektina i glukoze u krvi ....	48
<b>Tablica 19.</b> Omjer izgleda .....	49

## POPIS SLIKA

<b>Slika 1.</b> Raspodjela pacijenata i kontrolnih ispitanika prema spolu .....	16
<b>Slika 2.</b> Regresijski pravac između varijabli adiponektin i glukoza .....	33
<b>Slika 3.</b> Regresijski pravac između varijabli adiponektin i CRP .....	34
<b>Slika 4.</b> Regresijski pravac između varijabli adiponektin i kolesterol.....	35
<b>Slika 5.</b> Regresijski pravac između varijabli adiponektin i trigliceridi.....	36
<b>Slika 6.</b> Regresijski pravac između varijabli adiponektin i dob ispitanika .....	37
<b>Slika 7.</b> Regresijski pravac između varijabli glukoza i CRP .....	38
<b>Slika 8.</b> Regresijski pravac između varijabli CRP i kolesterol .....	39
<b>Slika 9.</b> Regresijski pravac između varijabli glukoza i kolesterol .....	40
<b>Slika 10.</b> Regresijski pravac između varijabli CRP i trigliceridi .....	41
<b>Slika 11.</b> Regresijski pravac između varijabli trigliceridi i glukoza .....	42
<b>Slika 12.</b> Regresijski pravac između varijabli trigliceridi i kolesterol .....	43
<b>Slika 13.</b> Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći glukoza kao referentni kriterij.....	44
<b>Slika 14.</b> Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći CRP kao referentni kriterij.....	45
<b>Slika 15.</b> Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći kolesterol kao referentni kriterij.....	46
<b>Slika 16.</b> Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći trigliceride kao referentni kriterij.....	47

## 1. UVOD

### 1.1. Šećerna bolest ( lat. *diabetes mellitus*)

Šećerna bolest složen je endokrinološki poremećaj. Obilježena je kroničnom hiperglikemijom koju prate povišene koncentracije kolesterola i triglicerida u krvi (1). Porast kolesterola, triglicerida i slobodnih masnih kiselina odraz je pojačane lipolize, a inhibirane lipogeneze. Šećerna bolest razvija se kao posljedica lučenja autoantitijela na pojedine komponente  $\beta$ -stanica, molekulu inzulina ili zbog inzulinske rezistencije. Uslijed nemogućnosti inzulina da pravilno djeluje i smanjenog broja inzulinskih receptora, remeti se transport glukoze u mišićne stanice, adipocite i jetru. Zbog toga raste koncentracija glukoze u krvi, a gušterača lučenjem veće količine inzulina nastoji pojačati ulazak glukoze u stanice. Manjak aktivnog polipeptidnog hormona inzulina izlučenog iz  $\beta$ -stanica gušterače popraćen je poremećajem u metabolizmu ugljikohidrata, masti i proteina. Na genetičkoj razini uz osnovni molekularni poremećaj u lučenju inzulina i inzulinskoj rezistenciji, za predispoziciju šećerne bolesti vrlo su važni i epigenetički čimbenici poput okoliša, tjelesne aktivnosti i debljine. Debljina kao stanje prekomjernog nakupljanja masnog tkiva smatra se rizičnim čimbenikom za razvoj metaboličkih poremećaja kao što su inzulinska rezistencija i dislipidemija. S obzirom na patofiziologiju i tijekom šećerne bolesti, razlikujemo tip 1 i tip 2 (2).

U vrijeme dijagnoze oko 50 %  $\beta$ -stanica izgubilo je funkciju no gušterača ostaje funkcionalna i proizvodi smanjene količine inzulina. Kod djece i adolescenata kao jedan od učestalijih endokrinoloških poremećaja dominira šećerna bolest tipa 1, a kod odraslih pretežno se pojavljuje tip 2. Tip 2 šećerne bolesti najučestaliji je i 90 – 95 % oboljelih pripada toj skupini (3). U šećernoj bolesti može biti apsolutni ili relativni nedostatak inzulina, dakle smanjene koncentracije inzulina, ali to nije i ne mora biti pravilo. S obzirom na krivulju odgovora inzulina tijekom OGGT testa, definirana su tri tipa šećerne bolesti. Kod prvog tipa može se uočiti da inzulin raste razmjerno glukozi, drugi tip daje nerazmjeran porast inzulina s glukozom, a u trećem tipu u potpunosti izostaje povećanje inzulina. Višak glukoze u krvi na početku gušterača uspijeva djelomično kompenzirati i tu početnu fazu nazivamo oštećenom tolerancijom glukoze. Šećernoj bolesti tipa 2 prethodi predijabetes koji odlikuju tri oblika poremećaja homeostaze glukoze. Iznimno je važno uočiti fazu predijabetesa kako bismo spriječili nastanak šećerne i posljedično kardiovaskularne bolesti. Dugoročna hiperglikemija uzrokuje oštećenje krvnih žila i vitalnih organa. To dovodi do brojnih komplikacija poput retinopatije, nefropatije, neuropatije, dijabetičkog stopala i posljedično amputacije donjih ekstremiteta (4).

## 1.2. Predijabetes

Predijabetes je dio metaboličkog sindroma koji predstavlja prijelazni stupanj između normalnih vrijednosti glukoze i dijabetesa, ali ispod vrijednosti klinički izraženog dijabetesa. Često se pojavljuje bez ikakvih simptoma, a smetnje se javljaju 8 do 12 godina prije postavljanja dijagnoze. Svaki treći stanovnik boluje od predijabetesa, što dvostruko povećava rizik od kardiovaskularnih bolesti u odnosu na opću populaciju (5). Godišnja progresija predijabetesa u šećernu bolest prema novim kriterijima iznosi 2 % (6).

Očituje se u dvama glavnim oblicima, usko povezanim s pretilošću ili kao kombinacija istih:

- ❖ oštećena tolerancija glukoze natašte (PG-NT)
- ❖ oštećena tolerancija glukoze postprandijalno (OTG-PP)
- ❖ kombinirano oštećenje tolerancije glukoze (PG-NT + OTG-PP)

S obzirom na to da je predijabetes povezan s metaboličkim sindromom, rizični čimbenik za razvoj šećerne bolesti tipa 2 predstavljaju oba oblika predijabetesa, no najveći rizik pojavljuje se kod kombiniranog oblika. Nije utvrđen precizan mehanizam koji u pretilosti dovodi do razvoja predijabetesa i metaboličkog sindroma. Pretpostavlja se da inzulinska rezistencija predstavlja istu metaboličku podlogu, a da dodatan rizični čimbenik predstavljaju aseptične upale izazvane nagomilavanjem visceralnih adipocita. Endotelna disfunkcija, početni znak razvoja kardiovaskularnih bolesti, izravno je povezana s postprandijalnom hiperglikemijom koja je generator oksidativnog stresa i slobodnih radikala. Promjenom prooksidativne ravnoteže uslijed oksidativnog stresa stvaraju se biološka oštećenja, a kao rezultat nastaju oštećeni molekularni proizvodi koji predstavljaju biljege oksidativnog stresa. Inducirana hiperglikemijom, promjena u redoks statusu može se uočiti prije same dijagnoze dijabetesa. To upućuje da umjereno povišena glukoza ima utjecaj na patološke procese. Epidemiju dijabetesa svakako bi pomogli usporiti rano uočavanje predijabetesa specifičnim biomarkerima te njegovo rano liječenje. Niska razina adiponektina može biti nezavisni metabolički čimbenik koji ukazuje na povišeni rizik nastanka predijabetesa. Djelovanjem na jetru, mišićno tkivo i endotel utječe na inzulinsku osjetljivost te metabolizam glukoze i lipida. Budući da ApN posjeduje antiupalna i antiaterogena svojstva te da može utjecati na nastanak šećerne bolesti, korisnom bi se mogla smatrati primjena lijekova s učinkom na povišenje razine ApN-a već u predijabetesu (7).



### 1.3. Klasifikacija šećerne bolesti

Svrha je klasifikacije šećerne bolesti određivanje terapije. Udruženje NDDG 1979. godine objavljuje općeprihvaćenu i sustavnu klasifikaciju šećerne bolesti. Potvrdio ju je SZO 1980. godine. U klasifikaciji Svjetska zdravstvena organizacija korigira preporuke u publikaciji iz 1985. godine te zatim 1999. godine donosi novu i aktualnu klasifikaciju (8). Posljednja revizija objavljena je 2006. godine. Obuhvaća granice tzv. normalne tolerancije glukoze, kriterije za postavljanje dijagnoze šećerne bolesti te kriterije koji definiraju poremećaje glukoze smještene u „sivoj“ zoni između normoglikemije i dijabetesa (9).

*Tablica 1. Etiološka klasifikacija glikemičnih poremećaja (27).*

---

**Tip 1** (destrukcija  $\beta$  stanica, obično dovodi do potpunog nedostatka inzulina )

Autoimuni

Idiopatski

**Tip 2** ( rangiran od predominantno inzulinske rezistencije sa relativnim nedostatkom inzulina do predominantno sekretornim defektom sa ili bez inzulinske rezistencije )

**Ostali specifični tipovi**

Genetski defekti  $\beta$ -stanične funkcije

Genetski defekti u djelovanju inzulina

Bolesti egzokrinog pankreasa

Endokrinopatije

Dijabetes induciran lijekovima ili kemijskim subst.(npr.kortizon, BBs, tiazidi, anti-

Depresivi i sl.)

Infekcije

Rijetke forme imunološki posredovanog dijabetesa

Ostali genetski sindromi udruženi sa dijabetesom (npr.Down sy,

Friedreichsova ataksija, Klinefertov sy, Wolframov sy i sl. )

**Gestacijski dijabetes**

---

### 1.3.1. Glukometabolička klasifikacija šećerne bolesti

Zbog neophodne standardizacije glukoznih smjernica, plazma je preporučeni primarni uzorak. Glukometabolička klasifikacija šećerne bolesti uspostavljena je prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije. Temelji se na mjerenju koncentracije glukoze natašte i postprandijalne glikemije nakon 2 sata. Svjetska zdravstvena organizacija i NNDG uveli su novi termin, IGT, kategoriju između normalne glukozne tolerancije i dijabetesa. Normalni FPG zahtijeva sposobnost odgovarajuće bazalne inzulinske sekrecije i odgovarajuću hepatičnu inzulinsku osjetljivost koja kontrolira hepatično otpuštanje glukoze. Ekspertna grupa iz SZO-a preporučuje graničnu vrijednost od 6,1 mmol/L, donijeto 1999. godine na SZO konzultacijama (11).

**Tablica 2.** Kriteriji za glukometaboličku klasifikaciju prema SZO-u i ADA-i(27).

Glukometabolička Kategorija	izvor	Klasifikacijski kriterij (mmol/L /mg/dL)
Normalna glukoza regulacija (NGR)	WHO ADA (1997) ADA (2003)	FPG < 6,1 (110) + 2 h PG < 7,8 (140) FPG < 6,1 (110) FPG < 5,6 (100)
Oštećena tolerancija glukoze našte (IFG)	WHO	FPG ≥ 6,1 (110) i < 7,0 (126) i +2 h PG < 7,8 (140)
Povišena glikemija našte	ADA (1997) ADA (2003)	FPG ≥ 6,1 (110) i < 7,0 (126) FPG ≥ 5,6 (100) i < 7,0 (126)
Oštećena tolerancija glukoze (IGT)	WHO	FPG < 7,0 (126), +2 h PG ≥ 7,8 i < 11,1 (200)
Oštećena glukoza homeostaza (IGH)	WHO	IFG ili IGT
Diabetes mellitus (DM)	WHO ADA (1997) ADA (2003)	FPG ≥ 7,0 (126 ili 2 h PG ≥ 11,1 (200) FPG ≥ 7,0 (126) FPG ≥ 7,0 (126)

\*FPG – glikemija natašte; †SZO – Svjetska zdravstvena organizacija; ‡ADA – Američko udruženje za dijabetes, §PG – postprandijalna glikemija.

#### 1.4. Epidemiologija dijabetesa u Republici Hrvatskoj

Šećerna bolest predstavlja globalni epidemiološki problem. Prema dostupnim podacima oko 463 milijuna ljudi ima šećernu bolest, a njih više od pola nema ustanovljenu dijagnozu i ne prima liječenje. Za dobnu skupinu od 20 do 79 godina starosti, prema procjeni Međunarodne dijabetičke federacije u svijetu je za 2015. godinu prevalencija iznosila 8.8 %, a u Europi 9.1 %. U istoj dobnoj skupini prevalencija šećerne bolesti u Republici Hrvatskoj iznosila je 6.8 % za istu godinu. Broj osoba koji boluje od šećerne bolesti u dobi od 20 do 79 godina na području Europe iznosi 59 milijuna. Unutar europske regije šećerna bolest najčešća je u Turskoj i zemljama istočne Europe, a Hrvatska se nalazi u sredini. Odraslih, 46.5 % osoba koji boluju od šećerne bolesti još uvijek nema postavljenu dijagnozu te se prema procjenama očekuje porast broja osoba s intolerancijom glukoze na 418 milijuna do 2025. godine. Dijabetes tip 2 predstavlja rastući problem sa ubrzanim povećanjem prevalencije uslijed povećane pretilosti i većeg broja starijih ljudi. Smatrao se ranije problemom odraslih, no danas se sve češće dijagnosticira kod mlađe populacije i djece. Procjenjuje se da će globalna incidencija tipa 2 šećerne bolesti kod djece u sljedećih 15 godina povećati za 50 %. S ciljem utvrđivanja prevalencije, incidencije, mortaliteta te akutnih i kroničnih komplikacija šećerne bolesti 2000. godine osnovan je nacionalni registar osoba sa šećernom bolesti. Ideja njegovog osnivanja bila je smanjenje troškova zdravstvene zaštite, davanje više važnosti planiranju preventivnih aktivnosti te poboljšanje skrbi oboljelih. Razmjena podataka s bazom Centralnog zdravstvenog informacijskog sustava ostvarena je 2011. godine, a 2013. godine nacionalni registar postao je dio redovitih izvješća CroDiab registra. U Hrvatskoj ima više od 170 000 oboljelih od 18 do 65 godina, od čega se procjenjuje da 1/3 još uvijek nema otkrivenu šećernu bolest. U odrasloj populaciji od 2009. do 2014. godine prevalencija se povećala na 7,9 %, što znači da je broj osoba s dijagnozom šećerne bolesti porastao na 254 tisuće. Prema CroDiab registru u Hrvatskoj je 2018. godine registrirano 303 992 punoljetne osobe s dijagnozom šećerne bolesti. U 2018. godini s 5,4 % šećerna bolest se smjestila na 4. uzrok smrti u Hrvatskoj. U 2019. godini CroDiab registar i Centralni zdravstveni informacijski sustav zabilježili su 315 298 osoba s dijagnozom šećerne bolesti. Najznačajniji rizični čimbenici iz lipidnog statusa za razvoj kroničnih komplikacija bolesti bili su ukupni kolesterol  $6,27 \pm 7,07$  mmol/L, HDL-kolesterol  $1,30 \pm 0,37$  mmol/L, LDL-kolesterol  $3,36 \pm 3,54$  mmol/L i trigliceridi  $2,33 \pm 3,98$  mmol/L. Za 2019. godinu prevalencija šećerne bolesti od 20 do 79 godina iznosila je 8,54 %. Postavljenu dijagnozu prema prijašnjim istraživanjima ima 60 % oboljelih pa se stvaran broj procjenjuje na 500 tisuća (12).

### 1.5. Inzulin i hormonska regulacija glukoze u krvi

Inzulin je mala dvolančana bjelančevina. Po kemijskoj je građi polipeptidni hormon izgrađen od 51 aminokiseline. Sastoji se od dvaju lanaca aminokiselina, A (30) i B (21), povezana s dvama disulfidnim mostovima (4).

Tijekom evolucije molekula je visoko konzervirana. Inzulinske molekule rado stvaraju dimere i heksamere. Dimeri nastaju u vodenim otopinama preko vodikovih veza C-krajeva lanaca B, a heksameri u prisutnosti cinkovih iona te vrlo sporo difundiraju u krv, stoga su sporo djelotvorni. Biosintezom na mRNA sintetizira se jedinstveni lanac u komadu, stvarajući inzulinski preprohormon te se potom u endoplazmatskom retikulumu odjeljuje signalni slijed. Mikrosomalne oksidaze prevode ga u proinzulin koji se sastoji od 3 domene, lanaca A i B te polipeptida C. Razgrađuje se u Golgijevom aparatu cijepanjem na aktivni inzulin i polipeptid C. Inzulin se potom zapakiran u zrnima s proinzulinom i polipeptidom C egzocitozom izlučuje u krvotok. Odnos peptida C i inzulina je 1 : 1, izlučuje se 5/6 inzulina i 1/6 proinzulina. Inzulin se izlučuje kada raste koncentracija glukoze u krvi. Sve reakcije odvijaju se za samo jednu minutu. Glukoza ulazi olakšanom difuzijom u  $\beta$ -stanice neovisno o inzulinu. Uslijed porasta ATP-a dolazi do depolarizacije kočenjem kalijevih kanala. Povećava se utok kalcija kroz kanale regulirane naponom te kalcij stimulira egzocitozu sekrecijskih zrnaca s inzulinom. Inzulin se u plazmi prenosi nevezan s poluvremenom od 6 minuta (13).

Natašte je normalna koncentracija glukoze 4,5 do 5,5 mmol/L u krvi. Lučenje inzulina tada je najmanje, odnosno prisutna je bazalna sekrecija. Akutna glikemija dovodi do porasta koncentracije inzulina do 10 puta. Nakon početnog vrhunca, lučenje se opet povećava i dostiže još viši plato za 2 do 3 sata. Nakon normalizacije glukoze, normalizira se i lučenje inzulina za 3 do 5 minuta. Odstranjuje se vezanjem s receptorima u ciljnom tkivu i razgradnjom uglavnom u jetri, a manje u bubrezima i ostalom tkivu. Kontrolna funkcija inzulina u nadzoru nad glikemijom brzo se uključuje, ali i brzo isključuje (13). Inzulin na porast glukoze u krvi ima dvije faze:

**I. faza:** brza, održava otpuštanje pohranjenog hormona

**II. faza:** kasnija, održava i kontinuirano oslobađa pohranjeni hormon i njegovu sintezu.

Taj odgovor na koncentraciju glukoze u krvi poremećen je u šećernoj bolesti. U bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 nedostaje prva faza, a u bolesnika sa šećernom bolesti tipa 1 nedostaju obje faze (14).

## 1.6. Patofiziološka obilježja dijabetesa tipa 2

Tip 2 predstavlja kronični i progresivni metabolički sindrom. Hiperglikemija se na početku bolesti očituje kod većeg opterećenja glukozom, ali napretkom bolesti postaje sve izraženija i prisutna natašte (15). Uzrokovana je inzulinskom rezistencijom, odnosno nemogućnošću ulaska glukoze u mišićne stanice i adipocite ili nedostatnom funkcijom gušterače. Razvoju inzulinske rezistencije prethode dva mehanizma. Prvi je mogući način razvitka inzulinske rezistencije hipertrofija adipocita. Tim procesom ubrzava se bazalna i katekolaminima inducirana lipoliza te se povećava koncentracija slobodnih masnih kiselina. To može uzrokovati izravnu inzulinsku rezistenciju ili oštetiti  $\beta$ -stanice gušterače. Drugi put nastanka ostvaruje se tijekom upale. Tada postoji smanjen unos glukoze u adipocite. Najčešći je razlog inzulinske rezistencije visceralna pretilost. Visceralno masno tkivo promatra se kao izrazito aktivan endokrini organ koji sintetizira citokine i hormone. Ti citokini nazivaju se adipokini. Adipokini su skupina s više od 600 bioaktivnih molekula. Važni su za regulaciju različitih bioloških procesa čije se djelovanje očituje na masno tkivo, ali i udaljene organe. Masno tkivo, osobito visceralno imunološki je dinamično. Između imunih i metaboličkih stanica odvijaju se signalni putovi u svim glavnim metaboličkim organima. Signalni putovi BMP4 i WNT utječu na sposobnost diferencijacije i regrutacije prekursorskih stanica u adipocite. Disregulacija tih putova povezana je s oštećenom adipogenezom, a rezultat su toga disfunkcionalni adipociti sa smanjenim sadržajem GLUT4 receptora. Međuovisna dinamika upućuje da je metabolička upala patološki temelj za metaboličku disfunkciju izazvanu pretilošću. Citokini, IL-6, leptin, adiponektin, rezistin, TNF $\alpha$  i PAI-1 ubrajaju se u važnije citokine i njihovo djelovanje povezano je. TNF $\alpha$  iz visceralnog masnog tkiva i makrofaga stimulira IL-6 koji potiče stvaranje reaktanata akutne faze kao što su CRP, fibrinogen i PAI 1. Tim mehanizmom aktivira se proces upale. Oslobođeni TNF $\alpha$  iz visceralnog masnog tkiva potiče smanjeno preuzimanje glukoze u mišićne stanice te dovodi do povećane sinteze triglicerida i glukoneogeneze u jetri. Slobodne masne kiseline i TNF $\alpha$  uzrokuju inzulinsku rezistenciju potiskujući postreceptorski prijenos signala s inzulinskih receptora (17). Periferna tkiva pokazuju smanjenu osjetljivost na inzulin, a rezultat je toga teže iskorištavanje glukoze. Zbog toga započinje glukoneogeneza u jetri uzrokujući hiperglikemiju. Hiperglikemija potom potiče hiperinzulinemiju kako bi se održala fiziološka koncentracija glukoze u krvi, a s druge strane glukoza djeluje glukotoksično na tkiva. Visceralno masno tkivo nije jedini rizični čimbenik. Genski čimbenici jaki su, poligenski, a većina ih još nije poznata. Malena porođajna težina, pretilost i fizička inaktivnost mogu biti predispozicija razvoju inzulinske rezistencije (18).

### **1.6.1. Inzulinska rezistencija u mišićima i metabolizam glukoze**

Kao posljedica multiplog postreceptorskog defekta nastaje inzulinska rezistencija. Osobe koje nemaju šećernu bolest mogu imati rezistenciju na skladištenje glukoze u mišiće, stoga ona nije ograničena na osobe sa šećernom bolesti tipa 2. Odlikuje ju smanjena aktivacija inzulinskoga receptorskog supstrata 1 (IRS-1), fosfatidil inozitol 3-kinaze (PI3-kinaza), neodgovarajuća translokacija glukoznog transportera GLUT 4 i smanjena sinteza glikogena. Inzulinskoj rezistenciji pridonosi lipotoksičnost jer nakupljanje triglicerida u miocitima korelira sa smanjenim učinkom inzulina. Hiperglikemija i povišena razina neesterificiranih masnih kiselina smanjuju utilizaciju i skladištenje glukoze u mišićima. Na  $\beta$  podjedinici inzulinskog receptora, smanjenja je aktivnost tirozin-kinaze pa se smatra da promjena u vezanju inzulina ne postoji, a aktivnost je reverzibilna ako se smanji tjelesna težina (18).

### **1.6.2. Inzulinska rezistencija u jetri i metabolizam glukoze**

Nemogućnost inzulina u suprimiranju stvaranja i otpuštanja glukoze te stvaranje lipoproteina vrlo male gustoće (VLDL) obilježje je inzulinske rezistencije koja se javlja u jetri. Glukoneogenezu u jetri potiče povišena razina neesterificiranih masnih kiselina stimulirajući oksidaciju masnih kiselina do acetil-koenzima A te enzim piruvat karboksilazu. Time se uspostavlja pojačana sinteza glukoze iz piruvata. Na smanjenje učinaka inzulina u jetri kao važan čimbenik djeluje i nakupljanje triglicerida (18).

### 1.7. Laboratorijska medicina u dijagnostici šećerne bolesti

Na globalnom i nacionalnom planu kvalitetna i harmonizirana laboratorijska dijagnostika prepoznata je kao važan čimbenik zdravstvene zaštite za oboljele od šećerne bolesti. Program „Globalna kampanja IFCC“ o šećernoj bolesti pokrenut je 2003. godine. Objedinjuje aktivnosti za unapređenje kvalitetne laboratorijske dijagnostike vezane za šećernu bolest. Američko udruženje za kliničku kemiju u suradnji s Američkim dijabetološkim udruženjem izdalo je 2011. godine opširne smjernice i preporuke za laboratorijsku dijagnostiku u šećernoj bolesti. Ubrzo su postale globalno prihvaćenim standardom.

Dijagnostički kriteriji razlikuju se ako se glukoza mjeri u punoj krvi ili plazmi. U punoj krvi vrijednosti su niže 10 do 15 % u odnosu na one u plazmi. Značajan problem laboratorijskog mjerenja glukoze u punoj krvi predstavljaju predanalitičke varijacije. U uzorcima pune krvi gubitak glukoze koji nastaje kontinuiranim procesom glikolize invitro iznosi 5 do 7 %, što je 0,5 mmol/L glukoze/satu u punoj krvi. Upravo zbog mogućnosti brze separacije plazma je, a ne serum preporučeni uzorak za laboratorijsko mjerenje koncentracije glukoze. Najlakši i najčešće korišten test za postavljanje dijagnoze dijabetesa je određivanje nivoa glukoze u krvi natašte. Šećerna bolest potvrđuje se mjerenjem koncentracije glukoze u venskoj plazmi 8 do 12 sati nakon gladovanja. Osoba ne bi trebala imati povišenu tjelesnu temperaturu te bi prije davanja uzorka krvi trebala izbjegavati intenzivnu fizičku aktivnost (9). Referentne vrijednosti glukoze u krvi su od 4,4 do 6,4 mmol/L.

Ako osoba u najmanje 2 neovisna mjerenja ima:

**I.** vrijednost glukoze u krvi izmjerenu nakon 2 sata manju od 7,8 mmol/L, mogućnost da se radi o poremećaju tolerancije na glukozu i šećernoj bolesti isključena je.

**II.** vrijednost glukoze u krvi izmjerenu nakon 2 sata veću od 7,8 mmol/L, ali manju od 11,1 mmol/L, izmjerena vrijednost nije normalna i obilježava se kao poremećena tolerancija na glukozu (IGT). Na temelju nje ne možemo postaviti dijagnozu šećerne bolesti. to stanje povećava rizik od nastanka makroangiopatije i mikroangiopatije, pa je potrebno poduzeti korekcije navika i uvesti zdrave životne stilove.

**III.** vrijednost glukoze u krvi izmjerenu nakon 2 sata veću od 11,1 mmol/L, dijabetes je potvrđen (20).

## 1.8. Adiponektin

Humani adiponektin je 244-aminokiselinski protein koji proizvodi apM1 cDNA. Poznat je još i pod alternativnim nazivima AdipoQ, Acrp30 i GBP28. Gen koji kodira adiponektin otkriven je 1995. godine. Nalazi se na 3q27-om kromosomu i sadrži tri eksona i dva introna. Regulacija sinteze i sekrecije adiponektina odvija se u nekoliko mehanizama. Gen za adiponektin stimuliraju inzulin, IGF-1 i hipoglikemijski lijekovi koji potiču sekreciju adiponektina iz adipocita. Preko PPAR superobitelji nuklearnih receptora aktivacija se prenosi u jezgru adipocita. Prvo se adiponektin stvara kao monomer, a potom slijede posttranslacijske faze sazrijevanja. Procesima glikozilacije, sijalinizacije i hidroksilacije stvaraju se trimeri, heksameri i multimeri (21). Adiponektin uglavnom izlučuje bijelo masno tkivo. U serumu je prisutan u koncentraciji između 2 do 20  $\mu\text{g/mL}$  što čini 0,01 % ukupnih proteina u serumu (16). Multimerni je protein koji pokazuje strukturnu homologiju s komponentom komplementa C1q, kolagenom VIII i X. Na temelju primarne aminokiselinske sekvence i njezinih pojedinačnih domena, on je najbliži s C1q članom obitelji proteina ovisne o komplementima. Međutim, RTG loptaste domene utvrdio je homologiju s TNF $\alpha$ . Time se objašnjava njegova uloga u upali. Sastoji se od 4 strukturno različite domene:

- a) aminoterminalni signalni peptid
- b) varijabilna domena
- c) kolagenska regija koja se sastoji od 22 Gly-X-Y ponavljanja (cAPN)
- d) karboksilna terminalna loptasta domena (gAPN) koja se veže na AdipoR (21).

S različitim biološkim svojstvima javlja se u 5 izoformi. Globularni adiponektin (gAPN), adiponektin pune duljine (fAPN), adiponektin male molekularne mase, adiponektin srednje molekularne mase i adiponektin velike molekularne mase. Osim punog oblika s 4 domene, postoji i manji oblik veličine oko 18 kDa. Cijepanjem kolagenske domene punog oblika leukocitnom esterazom nastaje manji oblik adiponektina poznat kao globularni adiponektin. Čini oko 1 % ukupne koncentracije adiponektina. Njegova uloga nije u potpunosti shvaćena, no neka istraživanja pokazala su da ima ulogu u oksidaciji slobodnih masnih kiselina. Utvrđeno je da su izoforme adiponektina stabilne u cirkulaciji ( $T_{1/2}$  15 h) i da najvjerojatnije *in vivo* ne dolazi do transformacije tih oligomernih formi. Smatra se da je adiponektin visoke molekulske mase biološki najaktivnija forma uključena u homeostazu glukoze koja u najvećoj mjeri povećava osjetljivost perifernog tkiva na djelovanje inzulina (22).



### 1.8.1. Adiponektinski receptori AdipoR1/AdipoR2

Humani AdipoR1 gen smješten je na kromosomu 1 (q32.1). Kodira 37 kDa velik protein dužine 375 aminokiselina. Humani AdipoR2 gen nalazi se na kromosomu 12 (p13.33). On kodira 43 kDa velik protein koji sadrži 386 aminokiselina. Adiponektinski receptori uključuju dva nekonvencionalna heptahelička receptora koja su vezana i aktivirana adiponektinom. To su adiponektinski receptor 1 (AdipoR1, PAQR1) i adiponektinski receptor 2 (AdipoR2, PAQR2). Članovi su obitelji progesteronskih i adipoQ receptora (PAQR). Postoji visoka homologija između AdipoR1 i AdipoR2 receptora. Dijele strukturnu sličnost u sekvenci proteina od 66,7 % na razini aminokiselina (23).

AdipoR1 i AdipoR2 transmembranski su receptori kojima je C-terminalna domena smještena izvan stanične membrane, a N-terminalna intracelularno. AdipoR1 ima visoki afinitet za gAPN. Najviše se eksprimira u skeletnim mišićima (23). U mišićima djeluje lipolitički. Posredstvom AMP-aktiviranih protein kinaza stimulira  $\beta$ -oksidaciju masnih kiselina, što smanjuje količinu triglicerida prije svega u skeletnoj muskulaturi i time smanjuje inzulinsku rezistenciju. AdipoR2 je uglavnom ekspimiran u jetri. Povećanjem ekspresije PPAR- $\gamma$ , adiponektin popravlja inzulinsku osjetljivost povećavajući potrošnju energije. Ima srednji afinitet za obje ApN izoforme te smanjuje stvaranje glukoze u jetri, potiče oksidaciju masnih kiselina, smanjuje taloženje triglicerida i pojačava stvaranje HDL čestica. Odnos AdipoR1 i AdipoR2 receptora reguliran je nakupljanjem masnog tkiva i tjelovježbom. Smanjen izražaj receptora na stanicama dovodi do smanjene osjetljivosti na adiponektin i razvoja inzulinske rezistencije (24).

### 1.8.2. Signalni proteini u signalnim putovima stimuliranim adiponektinom

Adiponektin posreduje aktivaciju brojnih nizvodnih signala. Signalne molekule aktivirane adiponektinom uključuju: AMPK, p38-MAPK, PPAR $\alpha$  i NF- $\kappa$ B. Glavna je nizvodna komponenta signalizacije adiponektina AMPK kinaza. Djeluje kao senzor stanične energije u tijelu i normalno se aktivira kada dođe do povećanja unutarstaničnog AMP/ATP omjera. Ti aktivirajući signali prenose se adiponektinskim receptorima koji uključuju dva receptora transmembranske domene 7TM, AdipoR1 i AdipoR2 (25).

### 1.8.3. APPL1 protein

Humani Appl1 gen smješten je u regiji 3p14.3-21.1 i kodira 709-aminokiselina velik APPL1 protein. Adapter je protein s više funkcionalnih domena. Visoko hidrofilan APPL1 sastoji se od višestrukih strukturnih i funkcionalnih domena, uključujući: BAR, PH, PTB i zavojnicu CC.

Prvi je identificirani protein koji izravno komunicira s adiponektinskim receptorima (25). Dok stimuliranjem AdipoR1 receptora adiponektinom, COOH-terminalna domena AdipoR1 djeluje u interakciji s adiponektinom, unutarstanična NH<sub>2</sub>-terminalna domena AdipoR1 stupa u interakciju s fosfotirozin vezujućom domenom (PTB) adaptorskog proteina APPL. Izravno se veže na unutarstanične domene AdipoR1 i AdipoR2 preko C-terminala PTB i CC domena. Tako posreduje na djelovanje adiponektina u regulaciji energetskeg metabolizma i osjetljivosti na inzulin. Uloga APPL1 u aktivaciji IRS1/2 povezana je s inzulinskom osjetljivošću. IRS1/2 mora stvoriti kompleks s APPL1 kako bi se spojio s citoplazmatskom domenom inzulinskog receptora koji može regulirati inzulinsku osjetljivost kroz signalni put inzulinske rezistencije (26).

#### 1.8.4. APPL2 protein

Protein APPL2 je izoforma APPL1. Dijeli 54 % homologije u aminokiselinskom slijedu s APPL1 proteinom. Slično kao APPL1, APPL2 ima N-terminalnu BAR domenu, središnju PH domenu i C-terminalnu PTB domenu. Važan je za staničnu proliferaciju i embrionalni razvoj. U signalizaciji adiponektina predstavlja negativni regulator vežući se na unutarstaničnu domenu AdipoR1 protiv APPL1. Time blokira signalizaciju adiponektina u mišićnim stanicama. Prekomjerna ekspresija APPL2 sinergistički blokira adiponektin na aktiviranu inzulinom Akt aktivaciju. To ukazuje da APPL izoforme funkcioniraju kao dvostruki regulatori u signalizaciji adiponektina (26). Adiponektin u punoj duljini i globularna domena pokreću AMPK fosforilaciju, što dovodi do njezine aktivacije u skeletnim mišićima. Kod pacijenata s dijabetesom tipa 2 ili pretilih osoba fosforilacija AMPK-a kao odgovor na adiponektin značajno je smanjena. Kad se adiponektin veže na svoj receptor, aktivirajući AMP kinazu potiče unos glukoze u mišiće unutarstaničnom translokacijom GLUT4 transportera. Adiponektin smanjuje lipogenezu u jetri i povećava  $\beta$ -oksidaciju AdipoR1 posredovanom aktivacijom AMP protein kinaze. Kao senzor stanične energije, AMPK inhibira de novo lipogenezu fosforiliranjem enzima acetyl CoA karboksilaze-1. Potaknuto smanjenje aktivnosti ACC-1, smanjuje proizvodnju malonil CoA, čime se olakšava inhibicija aktivnosti karnitin palmitoil-transferaze-1 i pojačava transport masnih kiselina u mitohondrije kako bi se podvrgnule  $\beta$ -oksidaciji. Takva oslabljena signalizacija može uzrokovati rezistenciju na adiponektin. Drugi ključni put u metaboličkoj regulaciji je PPAR- $\alpha$ . U skeletnim mišićima adiponektin drastično povećava ekspresiju i aktivnost PPAR- $\alpha$ . On zauzvrat regulira acetyl CoA oksidazu, potičući na taj način oksidaciju masnih kiselina i potrošnju energije. Pokazalo se i da adiponektin povećava unos glukoze u jetri putem PPAR- $\alpha$ , poboljšavajući tako osjetljivost jetre na inzulin (25).

### 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je ispitati dijagnostičku vrijednost adiponektina kao novog, potencijalnog i ranog pokazatelja dijabetesa tipa 2 te procijeniti rizik za njegov nastanak.

#### **Specifični ciljevi rada:**

1. Ispitati postoji li statistički značajna razlika u koncentraciji adiponektina između kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2.
2. Ispitati postoji li statistički značajna razlika u koncentraciji kolesterola i triglicerida između kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2.
3. Ispitati postoji li statistički značajna razlika u koncentraciji CRP-a između kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2.
4. Ispitati povezanost izmjerene koncentracije adiponektina s varijablama: glukoza, kolesterol, trigliceridi, CRP, godine.
5. Ispitati povezanost:
  - a) kolesterola s trigliceridima, glukozom i CRP-om
  - b) triglicerida s glukozom i CRP-om
  - c) glukoze s CRP-om
6. Ispitati dijagnostičku vrijednost određivanja adiponektina računajući:
  - a) osjetljivost
  - b) specifičnost
7. Izračunati omjer izgleda za nastanka dijabetesa tipa 2.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječno istraživanje.

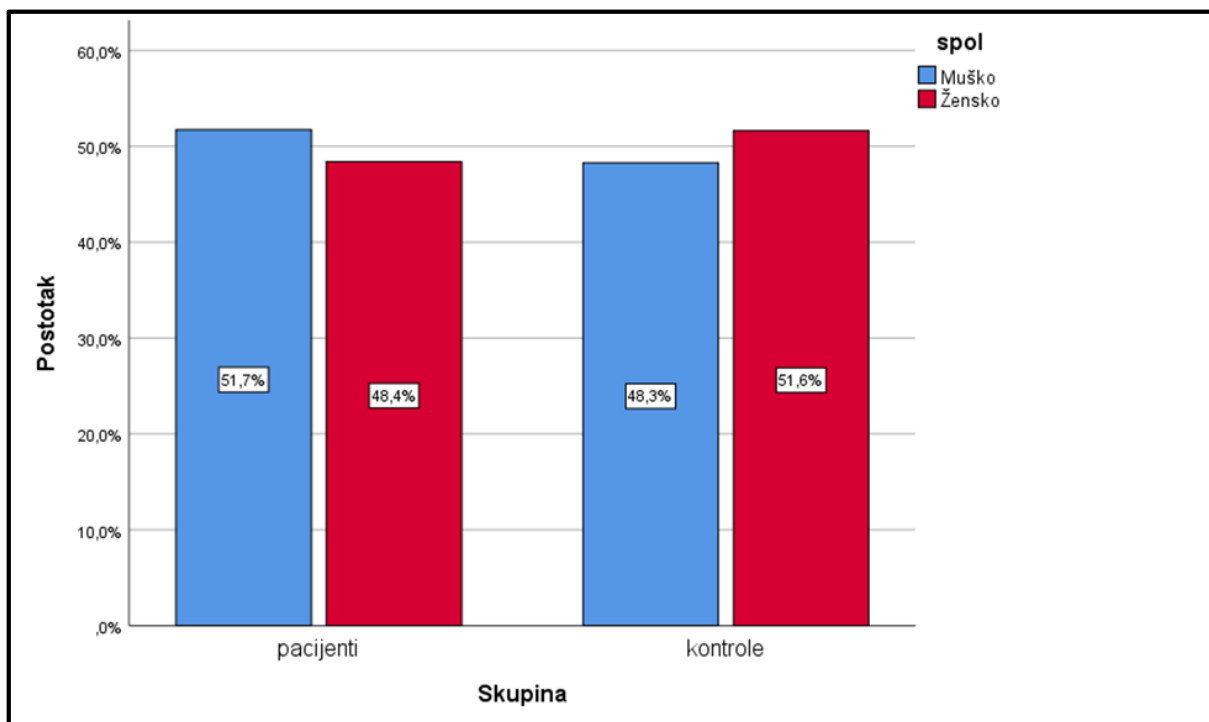
#### 3.2. Ispitanici

U istraživanje su bile uključene dvije skupine ispitanika:

1. Pacijenti (N = 30) s dokazanim dijabetesom tipa 2 sa Zavoda za endokrinologiju. Pacijenti su starosne dobi 17 – 75 godina. Medijan godina iznosi 59,50 (52,35 – 64,83).

2. Kontrolni ispitanici (N = 30) zaprimljeni na Zavodu za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Kontrolni ispitanici starosne su dobi 14 – 74 godine. Medijan godina iznosi 41,00 (35,18 – 44,83).

Odabir pacijenata i kontrolnih ispitanika odobren je 4. srpnja 2019. godine na temelju mišljenja i suglasnosti Etičkog povjerenstva Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku Medicinskog fakulteta Osijek (KLASA: 602-04/19-08/04;URBROJ: 2158-61-07-19-113).



*Slika 1. Raspodjela pacijenata i kontrolnih ispitanika prema spolu*

### 3.3. Statističke metode

Statistički program IBM® SPSS® Statistics 26.0 primijenjen je za statističku obradu podataka. Deskriptivna statistika poslužila je za prikaz podataka. Normalnost raspodjele ispitana je Kolmogorov-Smirnovljevim i Shapiro – Wilkovim testom. Podatci koji slijede normalnu raspodjelu prikazuju se kao srednje vrijednosti i pripadajuće standardne devijacije (SD), a podatci koji ne slijede normalnu raspodjelu prikazuju se kao medijani uz odgovarajuće interkvartilne raspone (IQR). Razlika između ispitivanih skupina testirana je odgovarajućim parametrijskim ili neparametrijskim testom (t-test ili Mann – Whitneyjev U test). Omjer izgleda (engl. *odds ratio*, OR) računao se u svrhu procjene rizika.  $P < 0,05$  predstavlja razinu značajnosti koja je korištena za ocjenu značajnosti dobivenih rezultata. Statistički program MedCalc, verzija 12.4.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) također je primijenjen za statističku obradu podataka. ROC analiza u statističkom programu MedCalc poslužila je za usporedbu specifičnosti i osjetljivosti adiponektina prema drugim analiziranim varijablama u dijagnosticiranju dijabetesa tipa 2.

Osjetljivost i specifičnost izračunate su pomoću sljedećih formula:

$$\text{osjetljivost} = \frac{\text{stvarno pozitivni}}{\text{stvarno pozitivni} + \text{lažno negativni}} (\%)$$

$$\text{specifičnost} = \frac{\text{stvarno negativni}}{\text{stvarno negativni} + \text{lažno pozitivni}} (\%)$$

Za izračun omjera izgleda koristila se sljedeća formula:

$$\text{omjer izgleda (OR)} = \frac{\text{bolesni i izloženi/ zdravi i izloženi}}{\text{bolesni i neizloženi/ zdravi i neizloženi}}$$

**Tablica 3.** Tumačenje koeficijenta povezanosti prema Coltonu(28).

Koeficijent korelacije	Povezanost
$r = 0$ do $\pm 0,25$	nema povezanosti
$r = 0,26$ do $\pm 0,50$	slaba povezanost
$r = 0,51$ do $\pm 0,75$	umjerena do dobra povezanost
$r = 0,76$ do $\pm 1$	vrlo dobra do izvrsna povezanost
$r = \pm 1$	matematička povezanost

### 3.4. Analitičke metode

**Tablica 4.** Analitičke metode i popis učinjenih pretraga (original autora rada)

Pretrage	Metoda	Proizvođač reagensa	Uređaj
GUK	enzimatska metoda s heksokinazom (HK)	Beckman Coulter	Beckman Coulter AU680
Adiponektin	imunoturbidimetrijska metoda	Randox	
Kolesterol	enzimatska metoda s kolesterol oksidazom-PAP (CHO-PAP)	Beckman Coulter	
Trigliceridi	enzimatska metoda s glicerofosfat oksidazom-PAP (GPO-PAP)	Beckman Coulter	
CRP	imunoturbidimetrijska metoda	Beckman Coulter	

\*GUK – glukoza u krvi; †CRP – c-reaktivni protein.

### 3.5. Upute za pripremu ispitanika prije određivanja lipidnog statusa

Koncentracija lipida i lipoproteina u plazmi promjenjiva je i na nju utječu obroci, pušenje, konzumiranje alkohola, promjena položaja tijela te različiti oblici stresa. Početno stanje i razvoj bolesti može se ocijeniti samo na temelju analize uzoraka koji su izvađeni u standardiziranim uvjetima. Katkad se analize moraju ponavljati više puta kako bi se mogla utvrditi dijagnoza. Uzorci se uzimaju pod sljedećim predanalitičkim uvjetima:

1. Bolesnik mora biti 12 sati natašte.
2. Prije ispitivanja bolesnik mora 2 tjedna biti na normalnoj, zdravoj prehrani i održavati konstantnu tjelesnu težinu.
3. Bolesnik ne smije biti izložen nikakvoj terapiji za snižavanje koncentracije lipida u krvi, osim kada se ona kontrolira.
4. Staza vene i položaj tijela utječu na koncentraciju lipoproteina kao i drugih velikih čestica. Koncentracije kolesterola u plazmi pri stajanju mogu biti za čak 10 % više nego pri ležanju, a koncentracije triglicerida mogu se još više mijenjati.
5. Koncentracije lipida mogu se promijeniti u stresu, zato testove lipidnog statusa treba odgoditi 3 mjeseca nakon infarkta miokarda, veće operacije ili teške bolesti.

*Tablica 5. Preporučene koncentracije lipida u krvi (29).*


Vrsta lipida	Spol	Koncentracija (mmol/L)
<b>Ukupni kolesterol</b>		<b>&lt; 5,00</b>
<b>HDL-kolesterol</b>	<b>Muški</b>	<b>&gt; 1,00</b>
	<b>Ženski</b>	<b>&gt; 1,20</b>
<b>LDL-kolesterol</b>		<b>&lt; 3,00</b>
<b>Trigliceridi</b>		<b>&lt; 1,70</b>

\*HDL – lipoprotein visoke gustoće; †LDL – lipoprotein niske gustoće

### 3.5.1. Priprema uzorka

U pravilu krv bolesnika treba uzeti ujutro između 7 i 10 sati, dok je bolesnik odmoran i prije nego što je podvrgnut terapijskim i dijagnostičkim postupcima. Važna je činjenica da se referentne vrijednosti dobivaju iz uzoraka krvi uzetih ujutro. Uzorak krvi uzima se u standardizirane epruvete s podtlakom. Nakon uzorkovanja uzorci su upisani u laboratorijski informacijski sustav (LIS) kako bi im se dodijelio jedinstveni barkod kojim se označava epruveta. Tako se smanjuje mogućnost zamjene uzorka te omogućava sigurna identifikacija uzorka tijekom analize. Epruveta s crvenim čepom koristila se za sve biokemijske pretrage u serumu. Centrifugiranje uzoraka krvi bez antikoagulansa provodilo se najmanje 30 minuta nakon uzorkovanja tijekom 10 minuta na 3500 o/minuti.

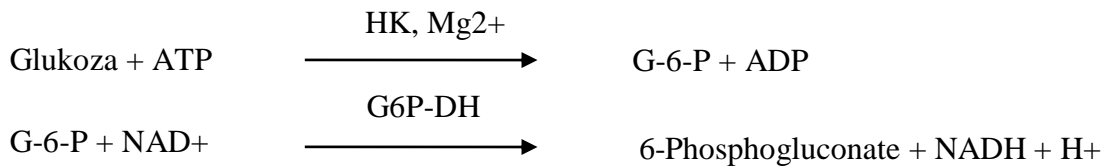
*Tablica 6. Uzorkovanje (original autora rada)*

EPRUVETA	PRETRAGA	NAPOMENA
	<b>Adiponektin</b>	obavezna visina i težina na uputnici
	<b>Glukoza</b>	pacijent mora biti natašte
	<b>Kolesterol</b> <b>Trigliceridi</b>	<b>12 sati prije uzimanja uzorka krvi:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ne uzimati hranu, piti alkohol, kavu ni pušiti (voda je dopuštena)</li> </ul>
	<b>CRP</b>	nije potrebna nikakva posebna priprema pacijenta za ovu analizu



### 3.6. Mjerenje koncentracije glukoze

Princip metode određivanja glukoze u krvi: Glukoza se fosforilira hekokinazom (HK) u prisutnosti adenzin trifosfata (ATP) i magnezijevih iona kako bi nastao glukoza-6-fosfat (G-6-P) i adenzin-difosfat (ADP). Specifično se enzimom glukoza-6-fosfat dehidrogenazom (G6P-DH) oksidira G-6-P do 6-fosfogluconata uz istodobnu redukciju nikotinamid adenin dinukleotida (NAD<sup>+</sup>) na nikotinamid adenin dinukleotid (NADH). Promjena apsorpcije na 340/380 nm proporcionalna je količini glukoze prisutne u uzorku (30).



#### Uzorak: serum

Reagensi

Konačne koncentracije reaktivnih sastojaka u testu:

PIPES-pufer	(pH 7.6) 24.0 mmol/L
NAD <sup>+</sup>	≥ 1.32 mmol/L
Heksokinaza	≥ 0.59 KU/L
ATP	≥ 2.0 mmol/L
Mg <sup>2+</sup>	2.37 mmol/L
G6P-DH	≥ 1.58 KU/L

Konzervansi (30).

#### Referentne vrijednosti:

Muškarci i žene: 4,4-6,4 mmol/L

**RANDEX****CE****ADIPONECTIN (ADPN)**

**IMMUNOTURBIDIMETRIC ASSAY**  
**BECKMAN COULTER AU 400/600/640**  
**BECKMAN COULTER AU 480/680/2700/5400/5800**

**FOR FULL PRODUCT DETAILS PLEASE REFER TO  
KIT INSERT.**

**INTENDED USE**

An Adiponectin test system is a device intended for the quantitative *in vitro* determination of adiponectin concentration in human serum or plasma. This product is suitable for use on the Beckman Coulter AU 400, AU480, AU 600, AU 640, AU 680, AU 2700, AU 5400 and AU 5800 analysers.

**Cat. No.**

AO 2799	R1. Assay Buffer	4 x 65 mL
4 x 464 tests	R2. Antibody-Latex Reagent	4 x 33.5 mL
AO2999	R1. Assay Buffer	2 x 15.8 mL
2 x 112 tests	R2. Antibody-Latex Reagent	2 x 8.4 mL

**SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

Serum or K<sub>2</sub> EDTA plasma are recommended.  
Serum is stable for 8 days, plasma is stable for 3 days when stored at +2 to +8°C. For longer storage, the specimen can be stored at ≤ -70°C.

**STABILITY AND PREPARATION OF REAGENTS****R1. Assay Buffer**

Contents ready for use. The reagent is stable up to the expiry date when stored at +2 to +8°C in the absence of contamination.

**R2. Antibody-Latex Reagent**

Contents ready for use. The reagent is stable up to the expiry date when stored at +2 to +8°C in the absence of contamination.

**MATERIALS PROVIDED**

Adiponectin Buffer R1  
Adiponectin Latex Reagent R2

**MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED**

Randex Adiponectin Control Level 2 (Cat. No. AO 2801)  
Randex Adiponectin Control Level 3 (Cat. No. AO 2802)  
Randex Adiponectin Calibrators (Cat. No. AO 2800)

**INSTRUMENT SETTINGS FOR  
AU400/480/600/640/680/2700/5400/5800**

TEST NUMBER			*
TEST NAME			ADN
SAMPLE TYPE			SER
SAMPLE VOLUME			2 µL
DILUENT VOLUME			0.0 µL
REAGENT VOLUME (R1)			140 µL
DILUENT VOLUME			0.0 µL
REAGENT VOLUME (R2)			70 µL
DILUENT VOLUME			0.0 µL
WAVELENGTH MAIN			570 nm
WAVELENGTH SUB			-
METHOD			FIXED
REACTION			+
POINT 1	FIRST		12
	LAST		23
POINT 2	FIRST		-
	LAST		-
LINEARITY	FIRST		-
	SEC		-
NO LAG TIME			NO
MINIMUM OD		L	-2.0
MAXIMUM OD		H	2.5
REAGENT O.D. LIMIT			
	FIRST	L	-2.0
		H	2.5
	LAST	L	-2.0
		H	2.5
DYNAMIC RANGE		L	0.50
		H	40.0
CORRELATION FACTOR		A	1.0
		B	0.0
ON BOARD STABILITY PERIOD			28

\* Data entered by operator

**CALIBRATION**

CALIBRATION TYPE			SAB
FORMULA			(SPLINE)
COUNT			3
PROCESS			
	CONC	Factor/ OD Range L	Factor/ OD Range H
POINT 1	0.00	[-2.0000]	[2.5000]
POINT 2	Lot Specific Value	[-2.0000]	[2.5000]
POINT 3	Lot Specific Value	[-2.0000]	[2.5000]
POINT 4	Lot Specific Value	[-2.0000]	[2.5000]
POINT 5	Lot Specific Value	[-2.0000]	[2.5000]

1 POINT CALIBRATION POINT		-
MB TYPE FACTOR		-
CALIBRATOR STABILITY PERIOD		28

**DATA CHECKS**

DATA CHECK - 1		YES
CHECK POINT 1		11
CHECK POINT 2		15
CHECK POINT 3		27
LIMIT - 1		0.4
LIMIT - 2		2
LIMIT - 3		0.1
FIRST POINT		11
LAST POINT		15
DATA CHECK - 2		NO
DATA CHECK - 3		NO

\* Data entered by operator

Randex Laboratories Limited, 55 Diamond Road, Crumlin, County Antrim, BT29 4QY, United Kingdom  
T +44 (0) 28 9442 2413 F +44 (0) 28 9445 2912 E applications@randox.com I www.randox.com

PAGE 1 OF 2

*Slika 2. Materijali korišteni za određivanje adiponektina str.1 (original autora rada)*

**RANDOX**

AU 400 AO 2799

**CALIBRATION**

Randox Adiponectin Calibrator should be used to calibrate this assay.

**QUALITY CONTROL**

Randox Adiponectin Controls Levels 2 and 3 are recommended for daily quality control. Two levels of controls should be assayed at least once a day. Values obtained should fall within a specified range. If these values fall outside the range and repetition excludes error, the following steps should be taken:

1. Check instrument settings and light source.
2. Check cleanliness of all equipment in use.
3. Check water. Contaminants, i.e. bacterial growth, may contribute to inaccurate results.
4. Check reaction temperature.
5. Check expiry date of kit and contents.
6. Contact Randox Laboratories Customer Technical Services, Northern Ireland +44 (0) 28 9445 1070 or USA +1 304 728 2890

**SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

The following performance characteristics were obtained using an AU series analyser.

**ASSAY RANGE**

The range of this assay is between 0.50 µg/mL and 40.0 µg/mL. Please note that this range may vary depending on the lot-specific values of the calibrators in use.

**PROZONE**

Antigen excess affects are not noted until Adiponectin levels approaching 178 µg/mL. High samples should be diluted in 0.9% (w/v) NaCl prior to analysis so as to lie in the range.

**PRECISION****Intra assay**

	Level 1	Level 2
Mean (µg/mL)	4.4	10.9
S.D	0.048	0.063
C.V(%)	1.1	0.60
n	10	10

**CORRELATION**

This method (Y) was compared with another commercially available method (X) and the following linear regression equation obtained:

$$Y = 1.008 X - 0.689$$

and a correlation coefficient of  $r = 0.998$

24 patient samples were analysed spanning the range 3.3 to 24.9 µg/mL.

13 Nov 14 ml

Randox Laboratories Limited, 55 Diamond Road, Crumlin, County Antrim, BT29 4QY, United Kingdom  
 T +44 (0) 28 9442 2413 F +44 (0) 28 9445 2912 E applications@randox.com I www.randox.com

PAGE 2 OF 2

*Slika 3. Materijali korišteni za određivanje adiponektina str.2 (original autora rada)*

### 3.6.1. Mjerenje koncentracije adiponektina

Princip metode određivanja adiponektina u serumu: Dodaje se uzorak u kivetu i pomiješa se s reakcijskim puferom R1. Nakon kratke inkubacije, test reagens R2, koji je suspenzija mikročestica obloženih antitijelom visoko specifičnim za adiponektin, dodaje se u kivetu i miješa. Prisutnost adiponektina u uzorku izaziva agregaciju imunoloških čestica. U kojoj je mjeri nastao agregat mikročestica kvantificira se količinom raspršivanja svjetlosti mjereno kao apsorpcija kemijskim analizatorom.

#### **Uzorak: serum**

Reagens1 (assay buffer): 140  $\mu$ L

Reagens 2 (Antibody-Latex Reagent): 70  $\mu$ L

Volumen uzorka: 2  $\mu$ L

Glavna valna duljina: 570 nm

Tip reakcije: Endpoint

Smjer: porast apsorbanca

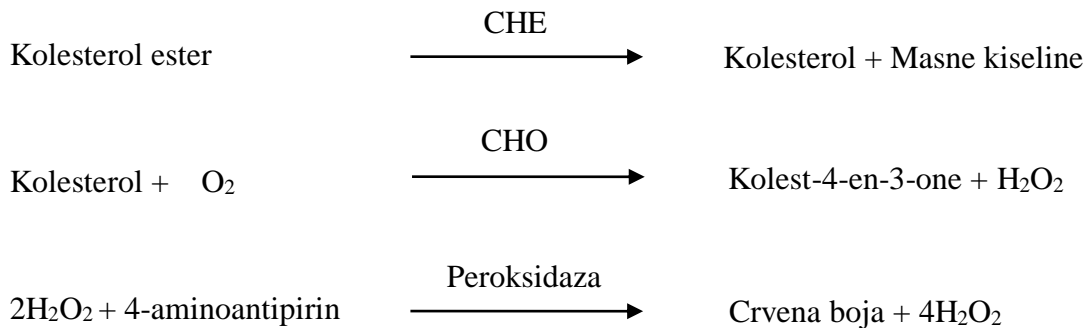
**Referentni raspon testa:**

Žene  $\geq$  4 mg/L

Muški  $\geq$  3.5mg/L

### 3.6.2. Mjerenje koncentracije kolesterola

Princip metode određivanja kolesterola: Esteri kolesterola u serumu hidroliziraju se kolesterol esterazom (CHE). Proizvedeni slobodni kolesterol oksidira se kolesterolom oksidazom (CHO) u kolest-4-en-3-on uz istodobnu proizvodnju vodikovog peroksida ( $H_2O_2$ ), koji se oksidativno povezuje s 4-aminoantipirinom i fenolom uz prisutnost peroksidaze da bi se dobila crvena boja. Nastala crvena kinoniminska boja mjeri se spektrofotometrijski na 540/600 nm kao povećanje apsorpcije (31).



#### Uzorak: serum

#### Reagensi

Konačne koncentracije reaktivnih sastojaka:

Fosfatni pufer (pH 6.5)	103 mmol/L	
Kolesterol esteraza (Candida/Pancreatic)	$\geq 0.2$ kU/L	(3.3 $\mu$ kat/L)
4-Aminoantipirin	0.31 mmol/L	
Kolesterol oksidaza (Brevibacterium)	$\geq 0.2$ kU/L	(3.3 $\mu$ kat/L)
Fenol	5.2 mmol/L	
Peroksidaza (Horseradish)	$\geq 10.0$ kU/L	(166.7 $\mu$ kat/L)

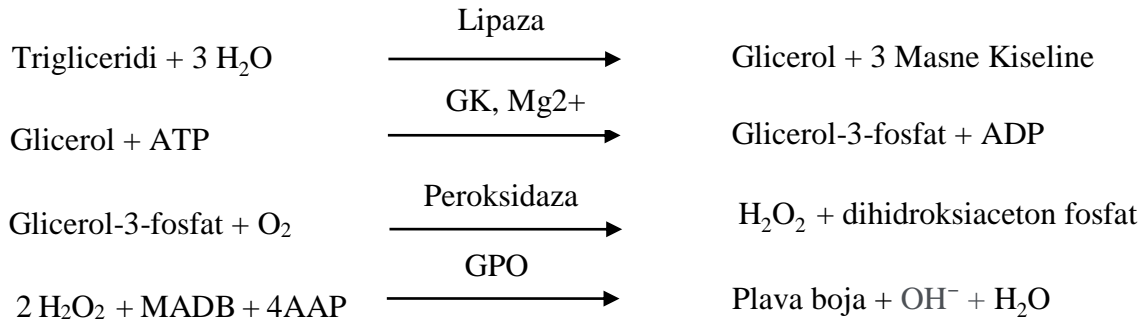
Konzervansi (31).

#### Referentne vrijednosti:

Muškarci i žene: (preporuka  $< 5,0$  mmol/L)

### 3.6.3. Mjerenje koncentracije triglicerida

Princip metode određivanja triglicerida: Trigliceridi u uzorku hidroliziraju se kombinacijom mikrobnih lipaza dajući glicerol i masne kiseline. Povećanje apsorpcije na 660/800 nm proporcionalno je sadržaju triglicerida u uzorku (32).



Reagensi

Konačne koncentracije reaktivnih sastojaka:

PIPES pufer (pH 7.5)	50 mmol/L
Lipaza (Pseudomonas)	≥ 1.5 kU/L (25 μkat/L)
Glicerol kinaza (Bacillus stearothermophilus)	≥ 0.5 kU/L (8.3 μkat/L)
Glicerol fosfat oksidaza (Pseudomonas)	≥ 1.5 kU/L (25 μkat/L)
Askorbat oksidaza (Curcubita species)	≥ 1.5 kU/L (25 μkat/L)
Peroksidaza (Horseradish)	≥ 0.98 kU/L (16.3 μkat/L)
ATP	1.4 mmol/L
4-Aminoantipirin	0.50 mmol/L
Magnezijev acetat	4.6 mmol/L
MADB	0.25 mmol/L
Konzervansi (32).	

<b>Referentne vrijednosti</b>
-------------------------------

Muškarci i žene: < 1,7 mmol/L
-------------------------------

### 3.6.4. Mjerenje koncentracije C-reaktivnog proteina

**Princip metode:** Imuni kompleksi formirani u otopini raspršuju svjetlost srazmjerno njihovoj veličini, obliku i koncentraciji. Turbidimetri mjere smanjenje upadnog svjetla zbog refleksije, apsorpcije ili raspršenja. U ovom postupku, mjerenje brzine smanjenja intenziteta svjetlosti koja se prenosi (povećanje apsorpcije) kroz čestice suspendirane u otopini rezultat je kompleksa formiranih tijekom imunološke reakcije između CRP-a pacijentovog seruma i zečjih anti-CRP protutijela kojim su obložene čestice lateksa (33).

#### **Uzorak: serum**

Reagensi

Konačne koncentracije reaktivnih sastojaka:

Glicinski pufer 100 mmol/L

Lateks obložen anti-CRP antitijelima < 0.5 %

Konzervansi (33).

<b>Referentne vrijednosti:</b>
--------------------------------

Muškarci i žene: < 5 mg/L
---------------------------

4. REZULTATI

Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine, pacijente i kontrolne ispitanike. Uključni kriterij za skupinu pacijenata bila je postavljena dijagnoza dijabetesa tipa 2, dok je za kontrolne ispitanike bio da nemaju utvrđenu dijagnozu dijabetesa tipa 2. Pacijente (N = 30) čine osobe s dokazanim dijabetesom tipa 2 sa Zavoda za endokrinologiju. Pacijenti su starosne dobi 17 – 75 godina. Medijan godina iznosi 59,50 (52,35 – 64,83). Kontrolne ispitanike (N = 30) čine osobe zaprimljene na Zavodu za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Kontrolni ispitanici starosne su dobi 14 – 74 godine. Medijan godina kontrolnih ispitanika iznosi 41,00 (35,18 – 44,83).

Tablica 7. Izmjerene koncentracije varijabli za pacijente

Pacijent	Spol	Godina rod.	Adiponektin [mg/L]	Kolesterol [mmol/L]	Trigliceridi [mmol/L]	Glukoza [mmol/L]	CRP [mg/L]
P1	M	1950.	2,20	6,74	2,70	8,5	4,3
P2	M	1989.	3,90	8,31	3,94	6,7	5,6
P3	Ž	1986.	4,10	6,62	3,12	7,2	6,3
P4	M	1955.	4,40	5,78	2,89	7,5	4,9
P5	Ž	1966.	4,50	5,74	1,98	6,8	7,1
P6	M	1968.	4,60	7,50	4,12	9,2	8,8
P7	Ž	2003.	6,50	7,20	3,94	7,1	6,4
P8	M	1971.	6,70	6,31	2,68	6,1	5,0
P9	M	1971.	7,40	5,50	2,21	8,3	6,3
P10	Ž	1980.	1,60	5,34	2,88	9,9	6,7
P11	M	1959.	3,10	6,62	3,21	7,9	7,2
P12	M	1946.	8,10	5,15	2,87	6,2	8,3
P13	Ž	1989.	3,80	7,41	2,55	7,8	7,5
P14	Ž	1964.	2,40	5,64	3,23	9,7	6,3
P15	Ž	1958..	3,60	5,73	3,89	9,5	7,0
P16	M	1953.	4,50	6,12	4,12	6,6	5,5
P17	Ž	1956.	2,80	5,98	3,67	5,9	6,2
P18	M	1957.	3,30	5,15	2,32	7,4	8,9
P19	Ž	1966.	4,10	7,24	3,45	6,3	7,3
P20	M	1971.	2,40	8,17	4,12	9,9	6,9
P21	Ž	1948.	6,50	6,23	3,23	8,6	9,7
P22	Ž	1972.	5,20	5,58	3,42	9,5	10,2
P23	M	1949.	3,70	6,07	2,98	7,5	8,4
P24	M	1951.	5,40	5,92	3,31	8,1	4,9
P25	M	1962.	6,40	6,15	3,28	6,9	3,8
P26	M	1956.	5,20	7,31	3,52	7,2	7,4
P27	Ž	1964.	7,20	5,97	2,43	7,7	6,9
P28	Ž	1955.	5,30	6,55	3,32	8,3	5,2
P29	Ž	1949.	2,40	5,64	2,87	6,4	4,8
P30	Ž	1945.	1,90	7,02	3,98	7,1	7,3



Tablica 8. Izmjerene koncentracije varijabli za kontrolne ispitanike

Kontrole	Spol	Godina rod.	Adiponektin [mg/L]	Kolesterol [mmol/L]	Trigliceridi [mmol/L]	Glukoza [mmol/L]	CRP [mg/L]
K1	Ž	1985.	9,80	5,11	2,10	4,2	0,5
K2	Ž	1979.	10,10	6,24	1,20	4,5	1,2
K3	Ž	2006.	11,90	4,21	1,77	4,9	2,3
K4	Ž	1965.	12,50	5,21	2,03	5,5	1,5
K5	Ž	1977.	13,10	4,99	1,66	5,3	3,2
K6	Ž	1975.	14,20	6,06	1,27	6,0	3,4
K7	Ž	1953.	14,70	4,78	1,21	4,0	4,1
K8	Ž	1987.	15,00	3,35	1,29	4,5	3,7
K9	Ž	1995.	15,10	3,98	1,12	3,9	0,9
K10	Ž	1990.	15,40	4,12	0,78	4,1	2,0
K11	Ž	1946.	29,50	5,76	2,14	4,4	2,4
K12	M	1978.	8,90	3,52	0,98	4,3	1,2
K13	Ž	1965.	19,20	4,89	1,12	5,5	3,4
K14	M	1984.	14,30	5,04	1,21	5,7	0,9
K15	M	1987.	17,80	3,99	0,77	5,2	2,1
K16	M	1971.	15,60	4,34	1,51	4,8	3,2
K17	M	1986.	17,30	5,43	0,87	3,9	4,1
K18	M	1966.	16,40	5,55	1,14	5,4	1,5
K19	M	1958.	10,50	4,87	1,23	6,1	3,2
K20	M	1976.	11,40	5,23	1,32	5,7	4,4
K21	Ž	1986.	12,40	4,67	1,15	5,2	2,3
K22	M	1979.	9,80	4,89	1,32	5,4	3,7
K23	M	1982.	10,30	4,51	0,98	4,3	2,6
K24	M	1980.	17,30	5,04	1,44	4,6	1,9
K25	M	1978.	14,20	4,34	0,97	4,0	3,2
K26	M	1991.	13,20	5,44	1,12	4,9	2,3
K27	M	1969.	11,30	4,21	0,88	4,2	0,8
K28	Ž	1988.	10,40	3,73	0,68	4,1	1,1
K29	Ž	1984.	14,10	5,15	1,17	5,1	3,4
K30	Ž	1969.	15,20	4,78	0,98	4,9	2,9

Na cijelom uzoraku dobivene vrijednosti testirane su Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Analiza podataka Kolmogorov – Smirnovljevim testom pokazala je da isti ne slijede normalnu razdiobu pa su sumarni statistički podatci prikazani kao medijan podataka s interkvartilnim rasponom, a za daljnju obradu su korišteni neparametrijski statistički testovi.

**4.1. Testiranje statističke značajnosti u razlici koncentracija izmjerenih varijabli između pacijenata i kontrolnih ispitanika**

Usporedba dvije neovisne skupine ispitanika, pacijenata i kontrola provedena je Mann – Whitneyjev U testom (tablica 9 do tablica 12).

*Tablica 9. Mann – Whitneyjev U test za adiponektin između skupina*

adiponektin [mg/L]	Skupina			P*
	pacijenti	kontrole	ukupno	
	Medijan (interkvartilni raspon)			
	4,25 (3,10 – 5,40)	14,15 (11,30 – 15,40)	8,50 (4,25 – 14,15)	<b>P&lt;0,001</b>

\* Mann – Whitneyjev U test

Analizom Mann – Whitneyjeva U testa, adiponektin je pokazao statistički značajnu razliku u koncentraciji između grupe pacijenata s dijabetesom tipa 2 i kontrolnih ispitanika. Pacijenti s dijabetesom tipa 2 imaju niže koncentracije adiponektina usporedno s kontrolnim ispitanicima što je vidljivo iz tablice 9.

*Tablica 10. Mann – Whitneyjev U test za kolesterol i trigliceride između skupina*

	Skupina			P*
	pacijenti	kontrole	ukupno	
	Medijan (interkvartilni raspon)			
kolesterol [mmol/L]	6,14 (5,73 – 7,02)	4,88 (4,21 – 5,21)	5,53 (4,88 – 6,19)	<b>P &lt; 0,001</b>
trigliceridi [mmol/L]	3,23 (2,87 – 3,67)	1,19 (,98 – 1,32)	2,12 (1,19 – 3,23)	<b>P &lt; 0,001</b>

\* Mann – Whitneyjev U test

Utvrđena je značajna razlika u koncentraciji kolesterola između dviju skupina ispitanika. Pacijenti imaju više koncentracije ukupnog kolesterola u odnosu na kontrolne ispitanike (tablica 10).

Postoji značajna razlika za trigliceride između skupina. Koncentracija u skupini pacijenta je viša u odnosu na ispitanike bez dijabetesa (tablica 10.).

**Tablica 11.** Mann – Whitneyjev U test za glukozu i CRP između skupina

	Skupina			P*
	pacijenti	kontrole	ukupno	
	Medijan (interkvartilni raspon)			
glukoza [mmol/L]	7,50 (6,80 – 8,50)	4,85 (4,20 – 5,40)	6,05 (4,85 – 7,50)	<b>P&lt;0,001</b>
CRP [mg/L]	6,80 (5,50 – 7,40)	2,35 (1,50 – 3,40)	4,20 (2,35 – 6,80)	<b>P&lt;0,001</b>

\* Mann – Whitneyjev U test

Varijabla glukoza pokazala je značajnu statističku razliku koncentracije između skupina ispitanika. Njezina koncentracija u skupini pacijenata izvan je gornje granice referentnog intervala dok je u skupini kontrolnih ispitanika unutar referentnog intervala (tablica 11).

Nadalje, za CRP utvrđena je značajna razlika u koncentraciji između pacijenta i kontrolnih ispitanike što je detaljno prikazano u tablici 11.

**Tablica 12.** Mann – Whitney U test za adiponektin i godine

adiponektin [mg/L]	Dob kategorije			P*
	0 – 60 godina	61 i više	ukupno	
	Medijan (interkvartilni raspon)			
	10,85 (6,40 – 14,30)	4,45 (3,10 – 6,50)	8,50 (4,25 – 14,15)	<b>0,002</b>

\* Mann – Whitneyjev U test

Statistički značaja razlika utvrđena je i po dobnim kategorijama. Za ispitanike od 0 – 60 godina adiponektin je prisutan u znatno višoj koncentraciji dok je u kategoriji 61 i više godina prisutna niska ili koncentracija unutar referentnog intervala (tablica 12).

**Tablica 13.** Vrijednosti korelacija adiponektina s kolesterolom, TG, glukozom i CRP-om te ostalih ispitivanih varijabli međusobno

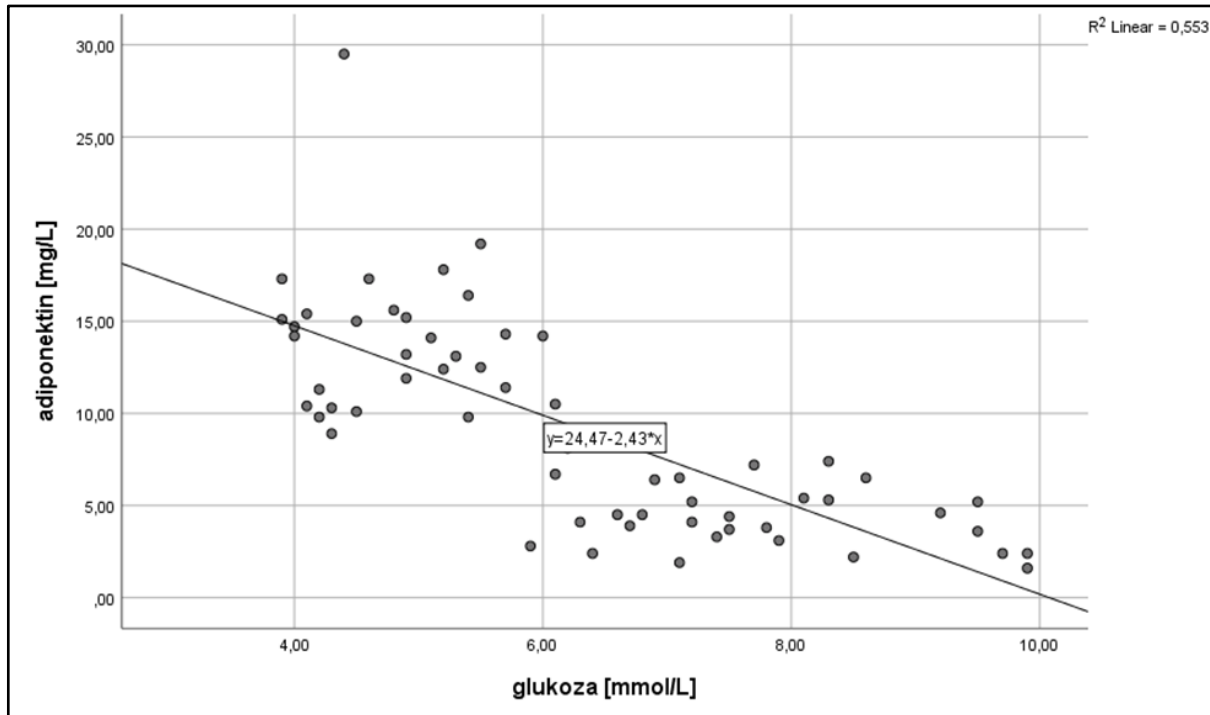
		adiponektin [mg/L]	kolesterol [mmol/L]	trigliceridi [mmol/L]	glukoza [mmol/L]	CRP [mg/L]
<b>adiponektin [mg/L]</b>	r	1,000	<b>-0,660**</b>	<b>-0,774**</b>	<b>-0,777**</b>	<b>-0,712**</b>
	p	.	0,000	0,000	0,000	0,000
	N	60	60	60	60	60
<b>kolesterol [mmol/L]</b>	r		1,000	<b>0,800**</b>	<b>0,705**</b>	<b>0,668**</b>
	p		.	0,000	0,000	0,000
	N		60	60	60	60
<b>trigliceridi [mmol/L]</b>	r			1,000	<b>0,798**</b>	<b>0,761**</b>
	p			.	0,000	0,000
	N			60	60	60
<b>glukoza [mmol/L]</b>	r				1,000	<b>0,796**</b>
	p				.	0,000
	N				60	60
<b>CRP [mg/L]</b>	r					1,000
	p					.
	N					60

\* r – Spearmanov koeficijent korelacije ranga; †p – statistička razina značajnosti; ‡N – broj ispitanika; §CRP – c-reaktivni protein; ||mg/L – miligram po litri; ¶mmol/L – milimol po litri.

Analizom korelacije ispitana je povezanost između cirkulirajućeg adiponektina i ostalih varijabli udruženih s dijabetesom tipa 2. Za ispitivanje povezanosti rezultata korišten je Spearmanov koeficijent korelacije.

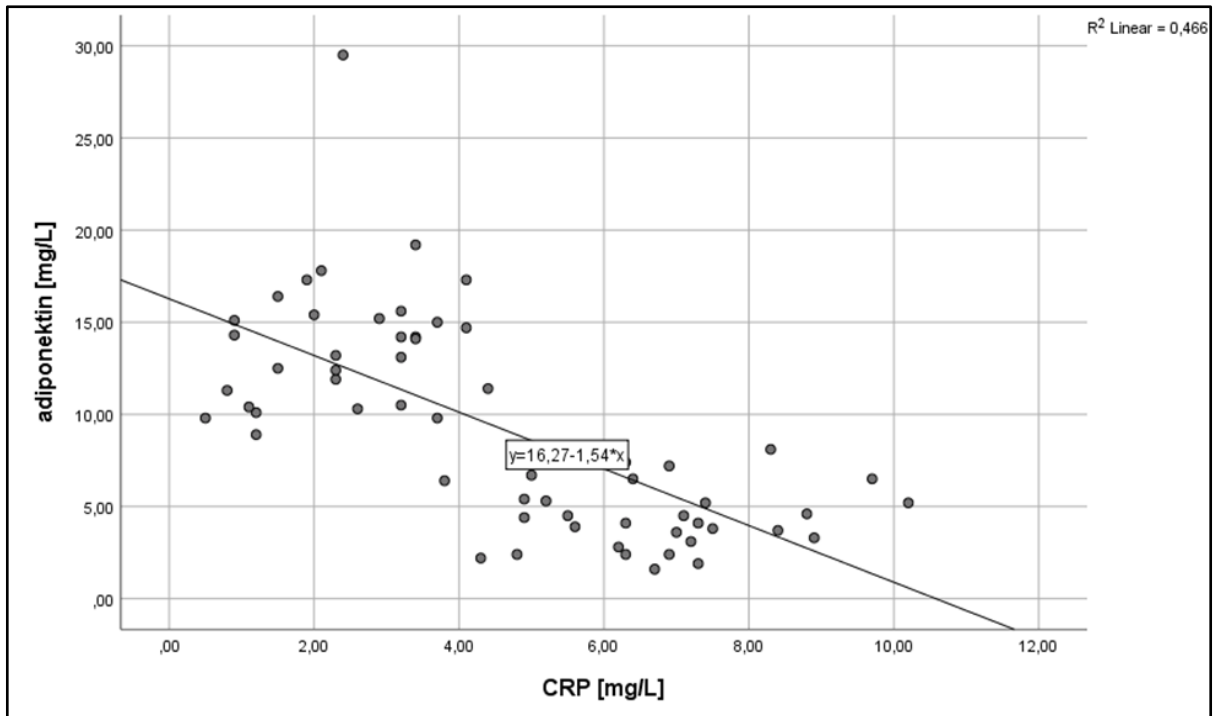
Za povezanost adiponektina i glukoze utvrđena je negativna visoka povezanost. Analizirajući vezu adiponektina i triglicerida također je utvrđena negativna visoka povezanost. Između varijabli adiponektina i kolesterola korelacijom ranga utvrđena je negativna, umjerena do dobra povezanost (tablica 13). Između varijabli kolesterola i triglicerida, triglicerida i glukoze, triglicerida i CRP-a te glukoze i CRP-a utvrđena je visoka pozitivna korelacija. Za varijable kolesterol i glukoza, kolesterol i CRP postoji umjereno do dobru povezanost na čije vrijednosti upućuje tablica 13.

4.2. Regresijska analiza adiponektina s glukozom, CRP-om, kolesterolom, TG i dobi



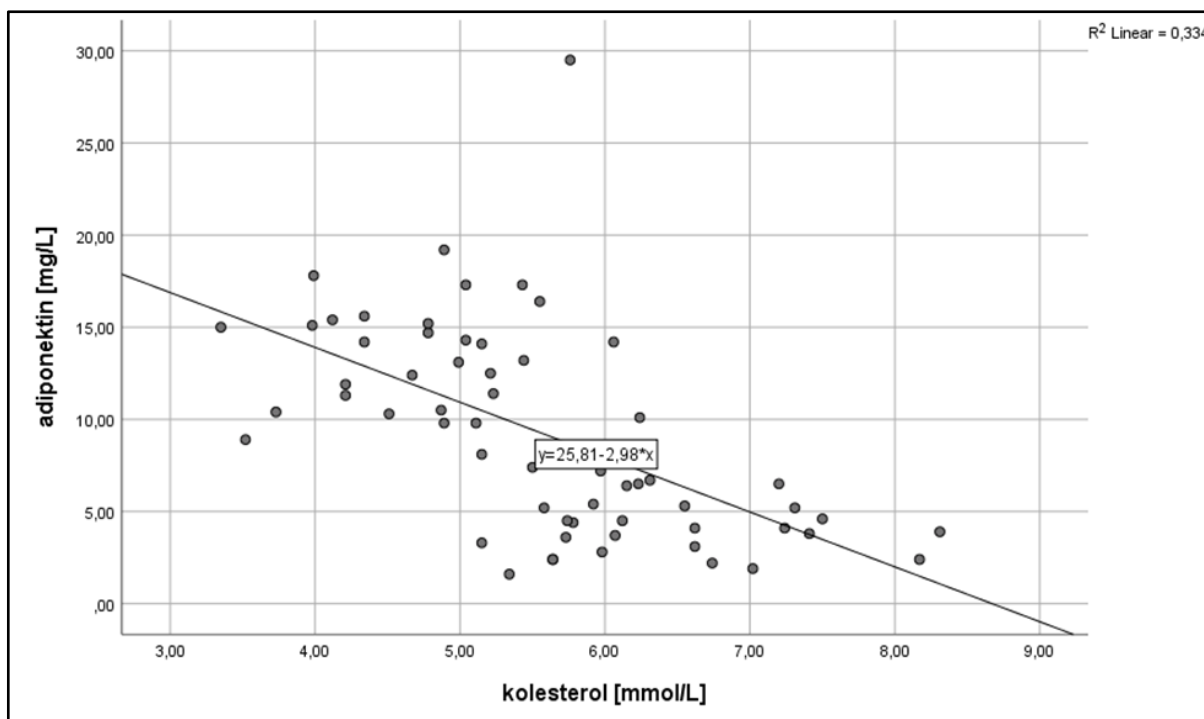
*Slika 2. Regresijski pravac između varijabli adiponektin i glukoza*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija adiponektina i glukoze izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Adiponektin i glukoza su u obrnutom odnosu. Negativan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom adiponektina pada koncentracija glukoze i obratno što je vidljivo na regresijskom pravcu (slika 2).



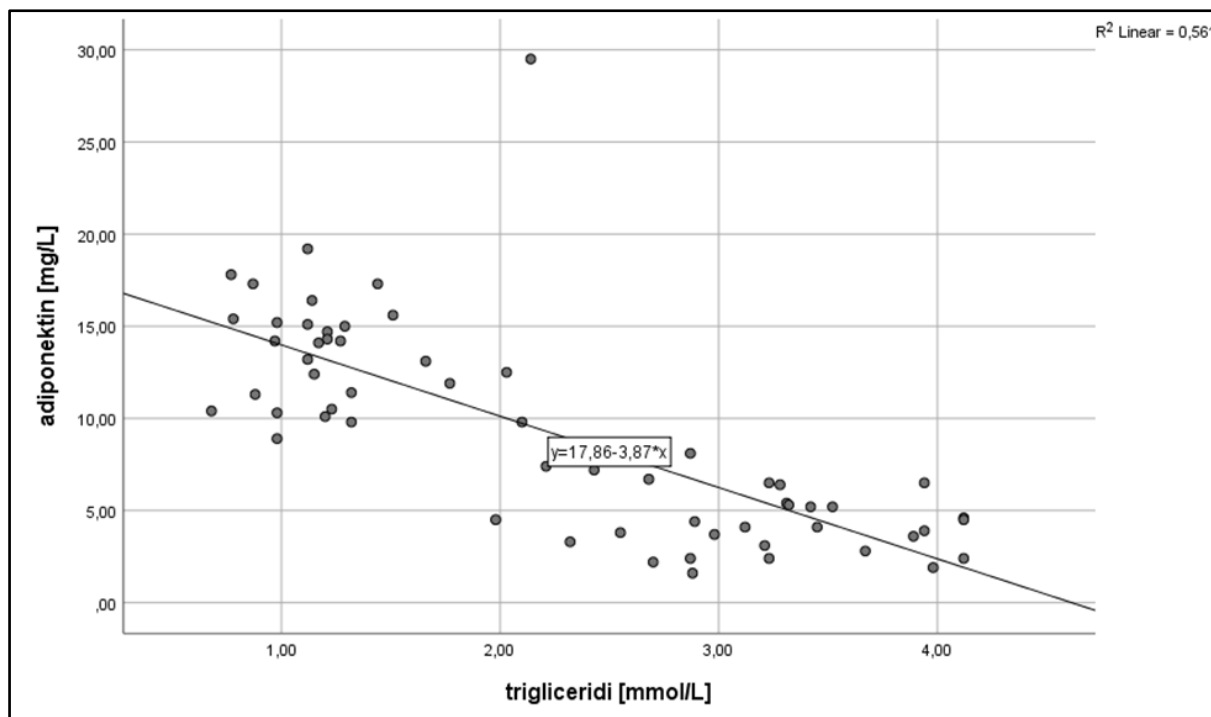
*Slika 3. Regresijski pravac između varijabli adiponektin i CRP*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija adiponektina i CRP-a izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Adiponektin i CRP su u obrnutom odnosu. Negativan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom adiponektina pada koncentracija CRP-a i obratno što je vidljivo na regresijskom pravcu (slika 3).



*Slika 4. Regresijski pravac između varijabli adiponektin i kolesterol*

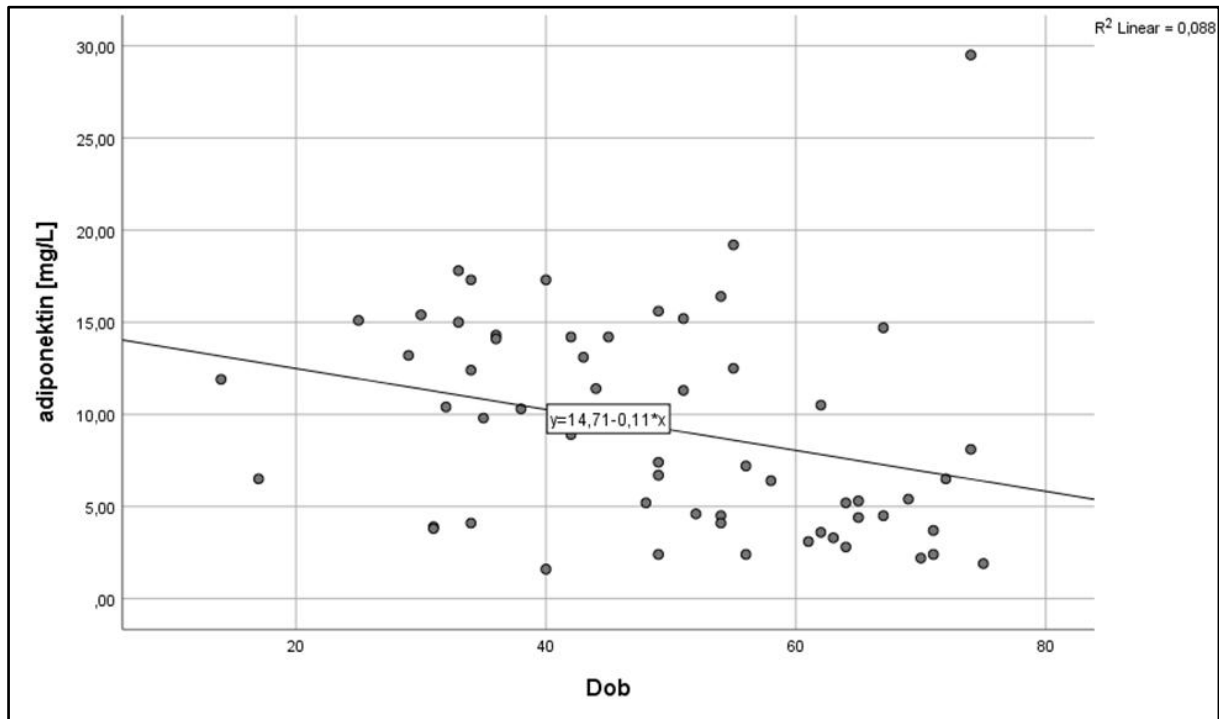
Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija adiponektina i kolesterola izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Adiponektin i kolesterol su u obrnutom odnosu. Negativan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom adiponektina pada koncentracija kolesterola i obratno što je vidljivo na regresijskom pravcu (slika 4).



*Slika 5. Regresijski pravac između varijabli adiponektin i trigliceridi*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija adiponektina i triglicerida izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Adiponektin i trigliceridi su u obrnutom odnosu. Negativan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom adiponektina pada koncentracija triglicerida i obratno što je vidljivo vidljivo na regresijskom pravcu (slika 5).

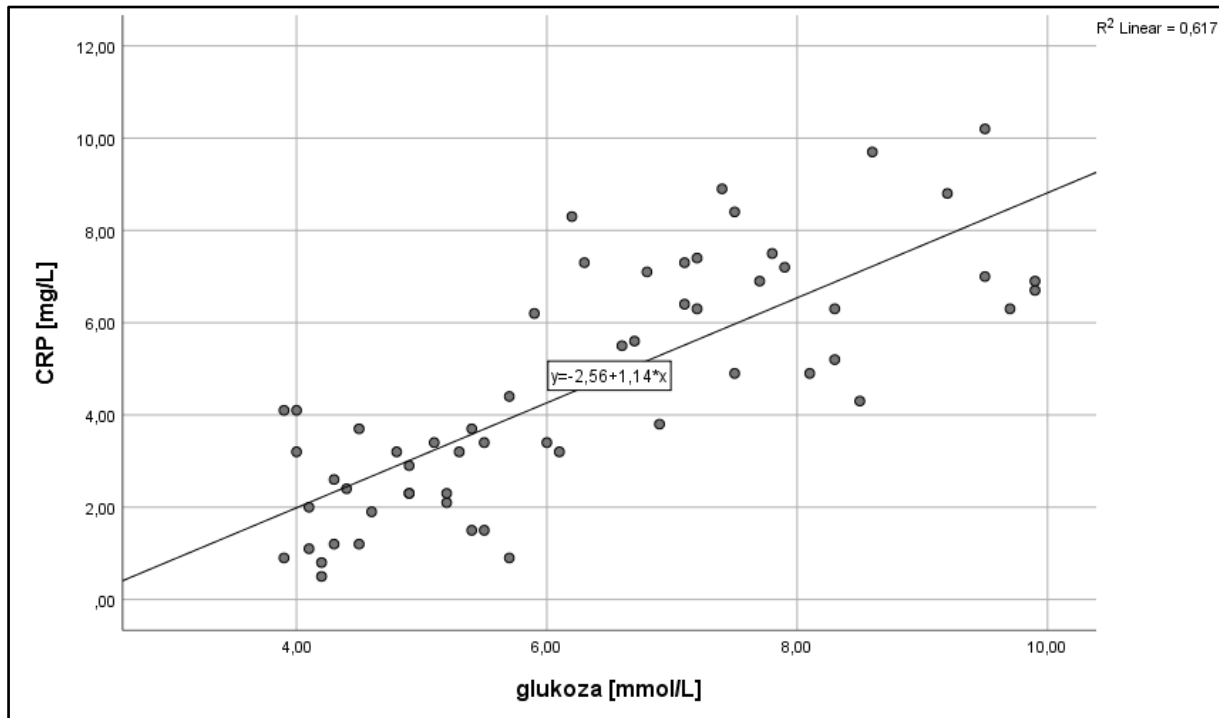




**Slika 6.** Regresijski pravac između varijabli adiponektin i dob ispitanika

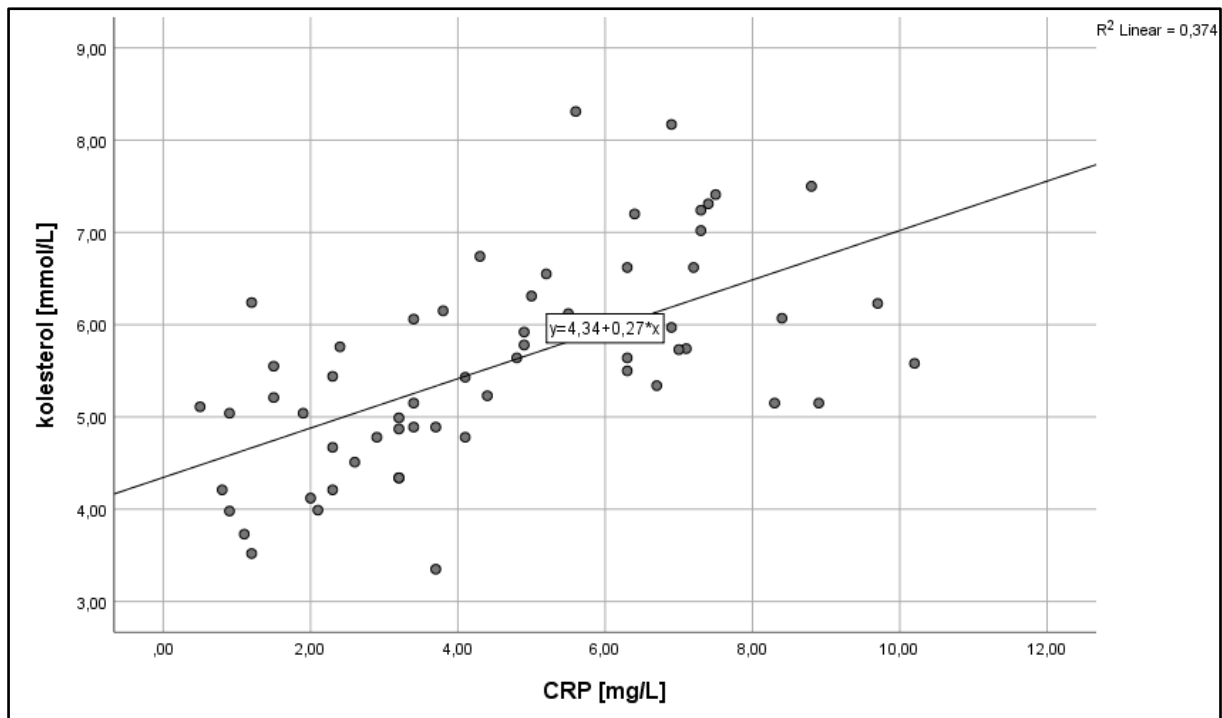
Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija adiponektina i dobi ispitanika: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Adiponektin i starosna dob su u obrnutom odnosu. Negativan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da adiponektin raste prema mlađoj dobnoj skupini, a koncentracija mu se značajno smanjuje prema dobnoj kategoriji 61 i više godina (slika 6).

4.3. Regresijska analiza tradicionalno određivanih varijabli u dijabetesu



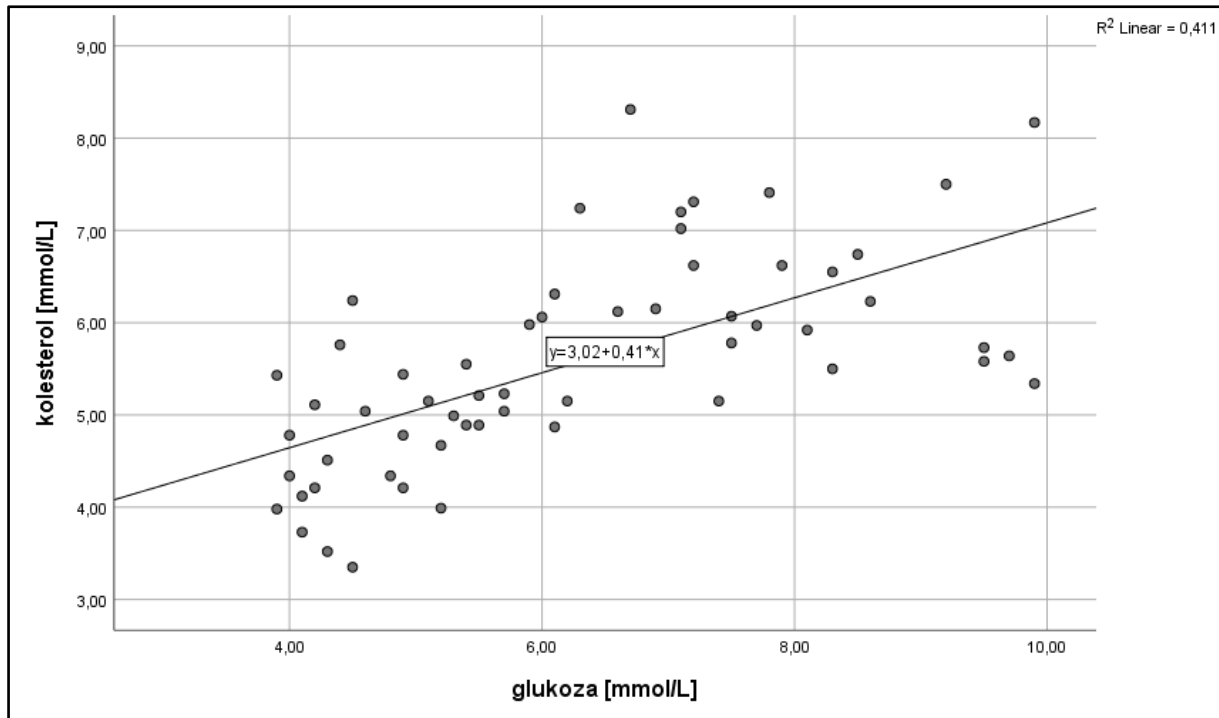
*Slika 7. Regresijski pravac između varijabli glukoza i CRP*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija glukoze i CRP-a izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Pozitivan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom koncentracije glukoze raste i C-reaktivni protein što je vidljivo vidljivo na regresijskom pravcu (slika 7).



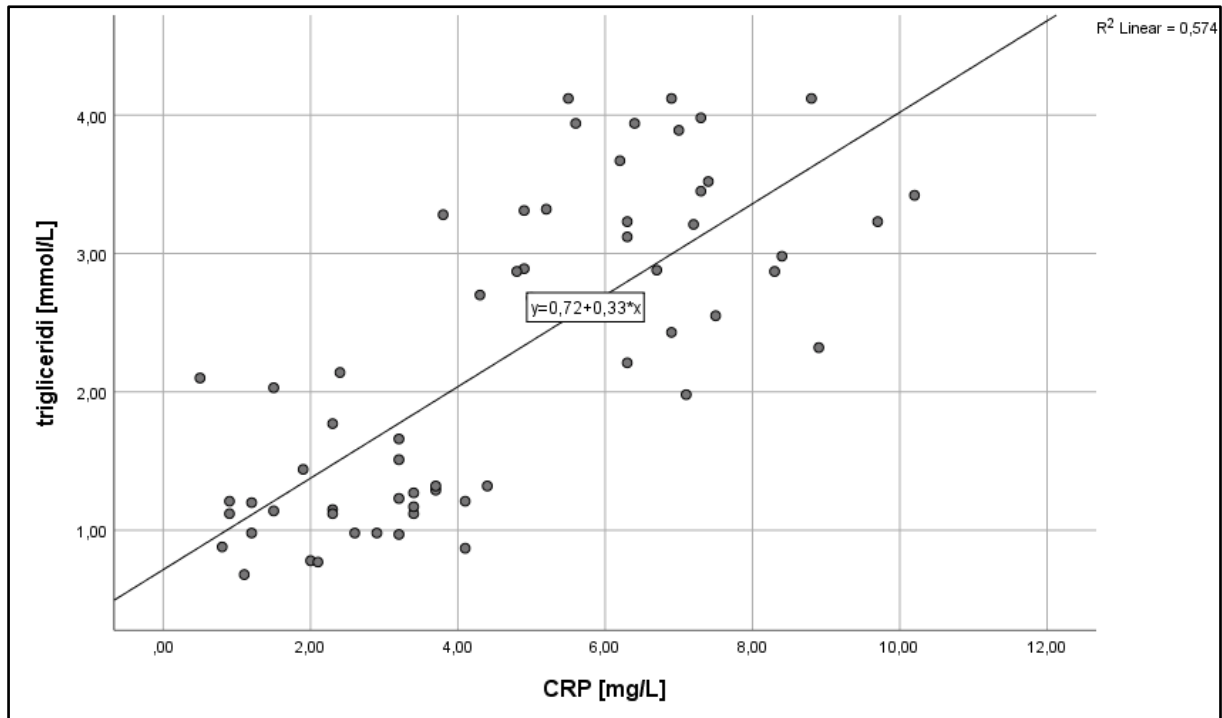
*Slika 8. Regresijski pravac između varijabli CRP i kolesterol*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija CRP-a i kolesterola izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Pozitivan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom koncentracije CRP-a raste i koncentracija kolesterola što je vidljivo na regresijskom pravcu (slika 8).



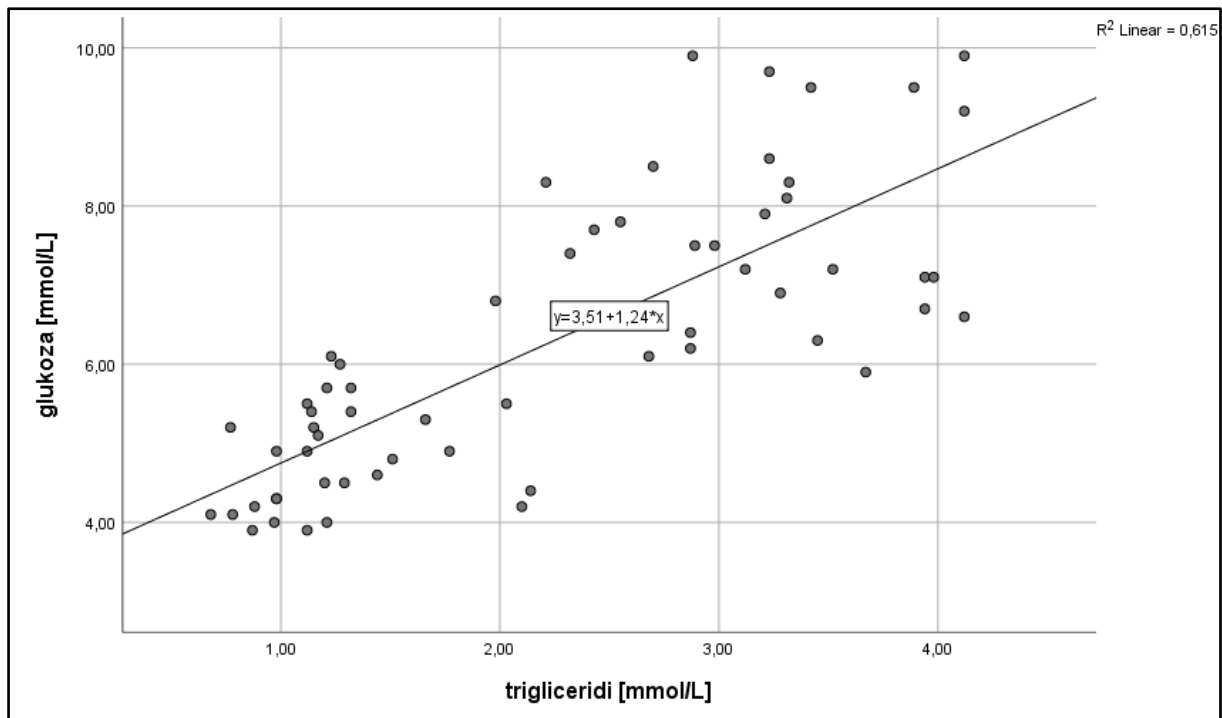
*Slika 9. Regresijski pravac između varijabli glukoza i kolesterol*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija glukoze i kolesterola izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Pozitivan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom koncentracije glukoze raste i koncentracija kolesterola što je vidljivo vidljivo na regresijskom pravcu (slika 9).



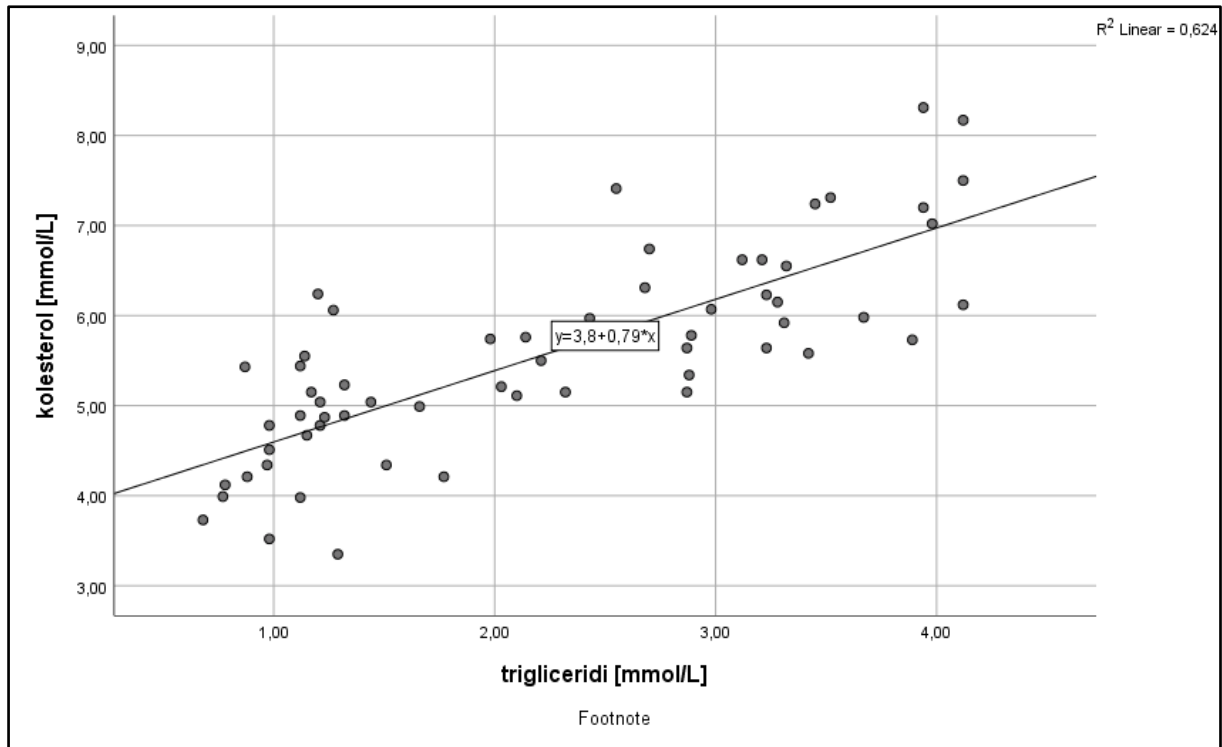
**Slika 10.** Regresijski pravac između varijabli CRP i trigliceridi

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija CRP-a i triglicerida izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Pozitivan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom koncentracije C-reaktivnog proteina raste i koncentracija triglicerida što je vidljivo vidljivo na regresijskom pravcu (slika 10).



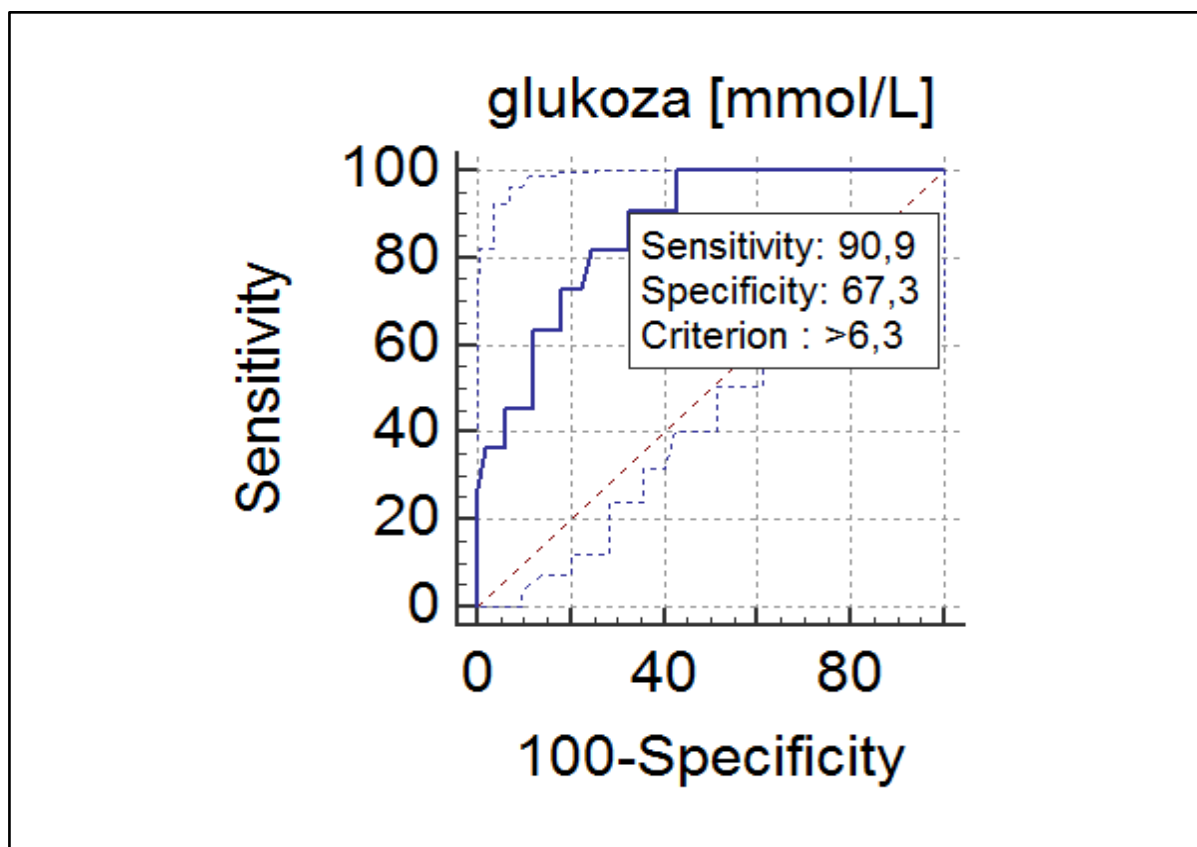
*Slika 11. Regresijski pravac između varijabli trigliceridi i glukoza*

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija triglicerida i glukoze izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Pozitivan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom koncentracije triglicerida raste i glukoza što je vidljivo vidljivo na regresijskom pravcu (slika 11).



*Slika 12.* Regresijski pravac između varijabli trigliceridi i kolesterol

Usporedba jednostavnom linearnom regresijom rezultata koncentracija triglicerida i kolesterola izmjerenih u serumu: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac. Pozitivan koeficijent smjera, odnosno koeficijent regresije ukazuje da porastom koncentracije triglicerida raste i koncentracija kolesterola što je vidljivo na regresijskom pravcu (slika 12).



**Slika 13.** Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći glukozu kao referentni kriterij

Na ROC krivulji, adiponektin prema glukozu pokazuje visoku osjetljivost te osrednju specifičnost.

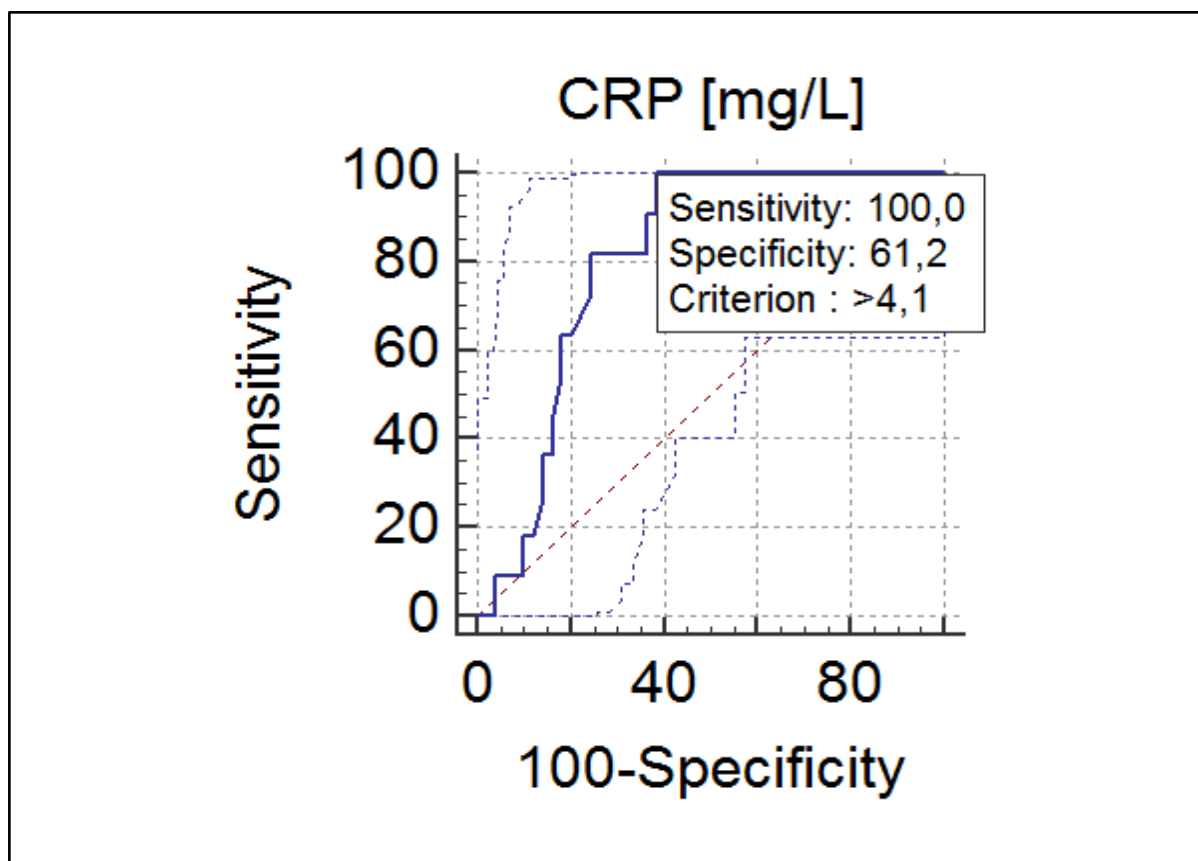
**Tablica 14.** ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći glukozu kao referentni kriterij

	Osjetljivost	Specifičnost	AUC	95 % CI	Granična vrijednost	P
	%	%				
Adiponektin [mg/L]	90,91	67,35	0,865	0,75 – 0,94	> 6,3	P < 0,001

\*AUC (*Area Under the Curve*) – površina ispod krivulje; †P – statistička razina značajnosti

Statistički procijenjena najbolja granična vrijednost za otkrivanje dijabetesa tipa 2 za glukozu iznosi > 6,3 za koju je pripadajuća osjetljivost i specifičnost adiponektina prikazana u tablici 14.





**Slika 14.** Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći CRP kao referentni kriterij

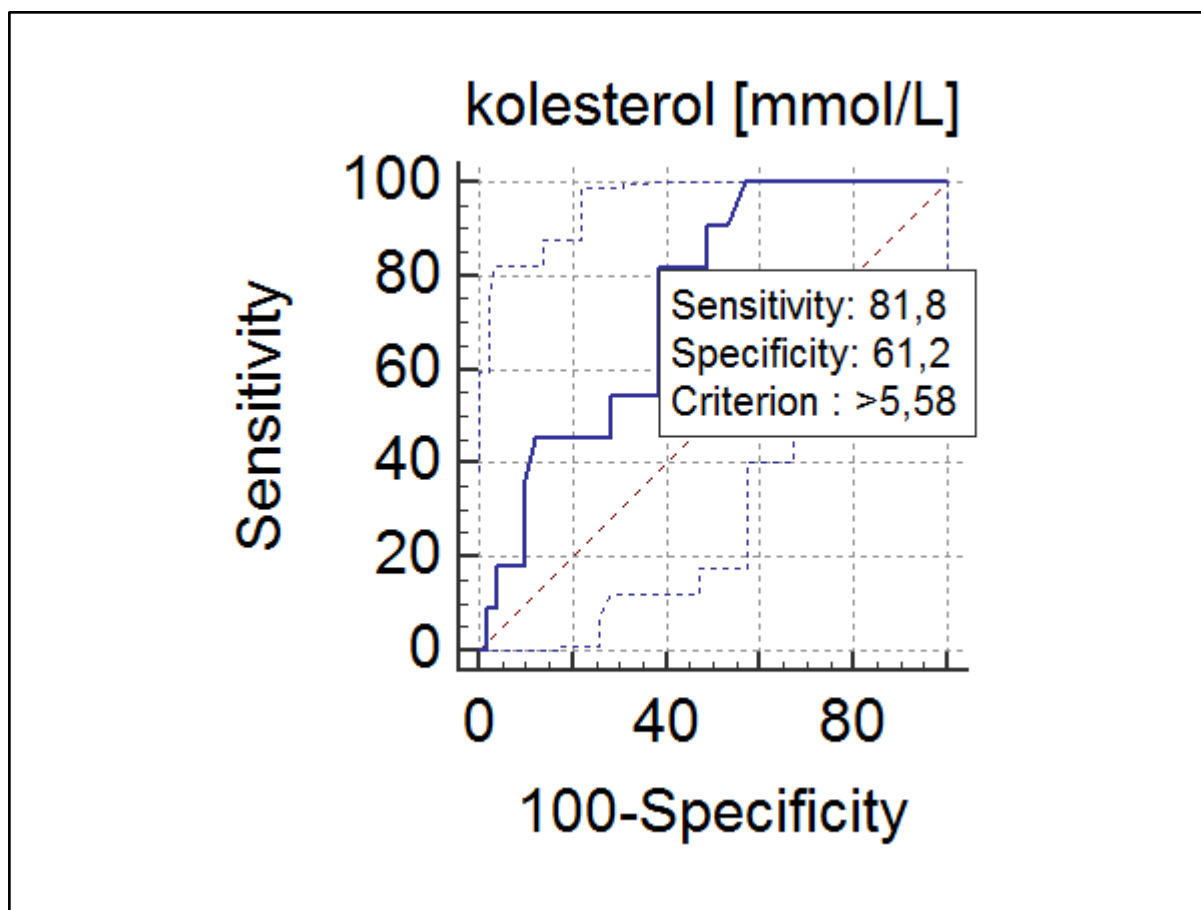
Na ROC krivulji, adiponektin prema C-reaktivnom proteinu pokazuje visoku osjetljivost te nisku specifičnost.

**Tablica 15.** ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći CRP kao referentni kriterij

	Osjetljivost	Specifičnost	AUC	95 % CI	Granična vrijednost	P
	%	%				
Adiponektin [mg/L]	100,00	61,22	0,803	0,68 – 0,81	> 4,1	P < 0,001

\*AUC (*Area Under the Curve*) – površina ispod krivulje; †P –statistička razina značajnosti

Statistički procijenjena najbolja granična vrijednost za otkrivanje dijabetesa tipa 2 za CRP iznosi > 4,1 za koju je pripadajuća osjetljivost i specifičnost adiponektina prikazana u tablici 15.



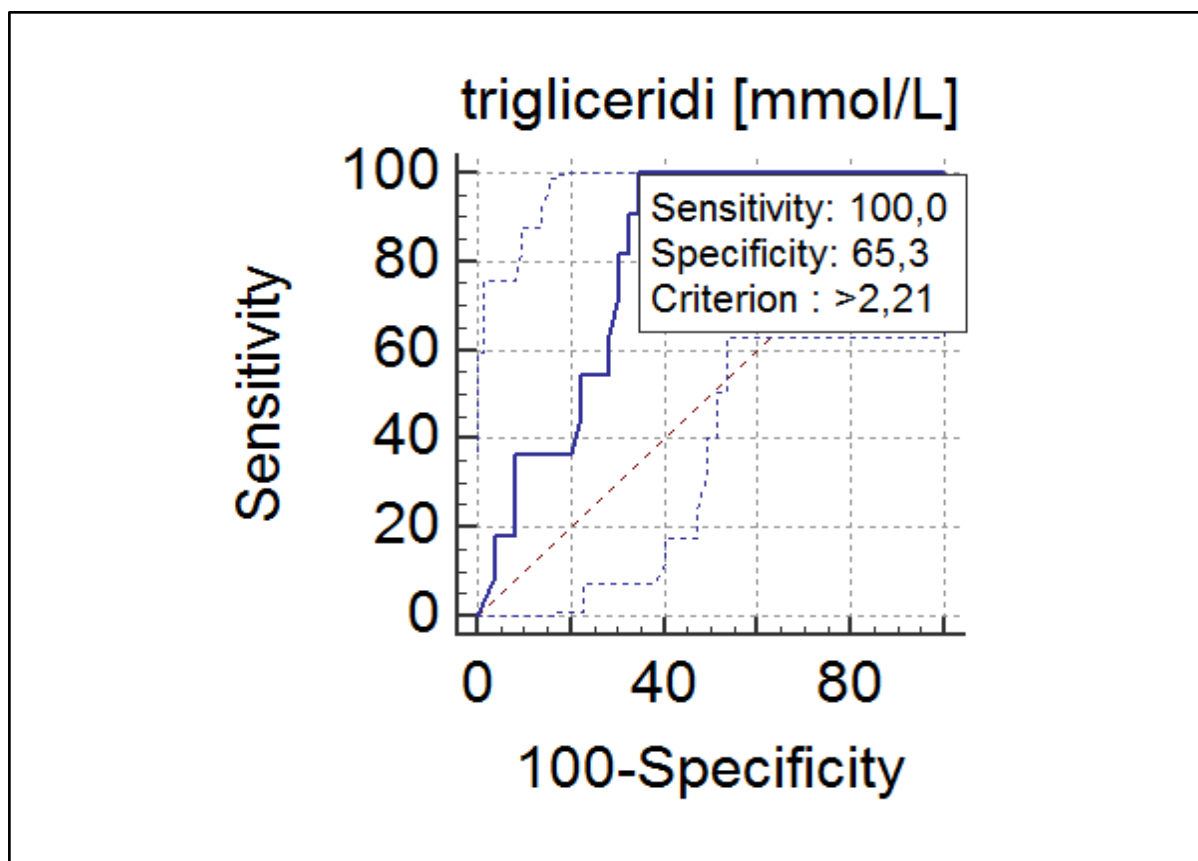
**Slika 15.** Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći kolesterol kao referentni kriterij

Na ROC krivulji adiponektin prema kolesterolu pokazuje nisku osjetljivost i nisku specifičnost.

**Tablica 16.** ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći kolesterol kao referentni kriterij

	Osjetljivost %	Specifičnost %	AUC	95 % CI	Gračna vrijednost	P
Adiponektin [mg/L]	81,82	61,22	0,739	0,61 – 0,84	> 5,58	P < 0,001

Statistički procijenjenja najbolja granična vrijednost za otkrivanje dijabetesa tipa 2 za kolesterol iznosi > 5 58, za koju je pripadajuća osjetljivost i specifičnost adiponektina prikazana u tablici 16.



**Slika 16.** Prediktivni kapacitet adiponektina za detekciju dijabetesa tipa 2 koristeći trigliceride kao referentni kriterij

Na ROC krivulji adiponektin prema triglicedridima pokazuje visoku osjetljivost i osrednju specifičnost.

**Tablica 17.** ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti adiponektina koristeći trigliceride kao referentni kriterij

	Osjetljivost %	Specifičnost %	AUC	95 % CI	Granična vrijednost	P
Adiponektin [mg/L]	100,00	65,31	0,798	0,67 – 0,89	> 2,21	P < 0,001

\*AUC (Area Under the Curve)-površina ispod krivulje; †P-statistička razina značajnosti.

Statistički procijenjena najbolja granična vrijednost za otkrivanje dijabetesa tipa 2 za trigliceridi iznosila je > 2,2 za koju je pripadajuća osjetljivost i specifičnost adiponektina prikazana u tablici 17.

4.4. Procjena rizika

Tablica 18. Grupiranje ispitanika na temelju koncentracije adiponektina i glukoze u krvi

			Glukoza (6,9) [mmol/L]		Ukupno
			Zdravi	Bolesni	
adiponektin [mg/L]	Visok	Broj	27	22	49
		(%) s glukozom (6,9) [mmol/L]	93,1%	71,0%	81,7%
	Nizak	Broj	2	9	11
		(%) s glukozom (6,9) [mmol/L]	6,9%	29,0%	18,3%
Ukupno		Broj	29	31	60
		(%) s glukozom (6,9) [mmol/L]	100,0%	100,0%	100,0%

\*Niske koncentracije adiponektina ukazuju na patološke procese.

Temeljem koncentracije adiponektina i glukoze u krvi utvrđen je broj bolesnih i izloženih niskim koncentracijama adiponektina, broj zdravih i izloženih niskim koncentracijama adiponektina, broj bolesnih i neizloženih niskim koncentracijama adiponektina te broj zdravih i neizloženih niskim koncentracijama adiponektina detaljno prikazan u tablici 18.

Tablica 19. Omjer izgleda

	Vrijednost	95% Interval pouzdanosti	
		Niža	Viša
Omjer izgleda za adiponektin (Zdravi / Bolesni)	5,52	1,080	28,253
Za kohortnu glukozu (6,9) [mmol/L] = Ref	3,031	0,844	10,887
Za kohortnu glukozu (6,9) [mmol/L] = Pat	0,549	0,362	0,833
N	60		

\*N- broj ispitanika; †Ref-referentno; ‡Pat-patološko

Izračunati omjer izgleda za nastanak dijabetesa tipa 2 veći je kod ispitanika s niskom koncentracijom adiponektina (tablica 19).

## 5. RASPRAVA

Temelj diplomskog rada bio je naglasiti važnost adiponektina te pokazati kako mijenjanje molekularnih mehanizama u metaboličkom sindromu može dovesti do razvoja dijabetesa tipa 2. Ova presječna studija pokazuje potencijalni klinički značaj mjerenja adiponektina u dijagnostici dijabetesa tipa 2. Istraživanje je bilo podijeljeno u dva segmenta. U prvom segmentu promatran je odnos adiponektina, novog biomarkera dijabetesa tipa 2 s lipidnim profilom i CRP-om. U drugom segmentu promatrano je u kakvom je odnosu glukoza, kao jedan od tradicionalnih markera dijabetesa, s lipidnim profilom i CRP-om. Naši rezultati potvrđuju i proširuju nekoliko studija koje su pokazale zaštitnu ulogu visoke razine adiponektina s nižim rizikom od dijabetesa tipa 2 i povezanost niske razine adiponektina s čimbenicima rizika za dijabetes tipa 2. Razina adiponektina u serumu značajno je niža u slučajevima (N = 30), nego u kontrolama (N = 30). U našem istraživanju utvrđena je značajna, negativna korelacija koncentracije serumskog adiponektina s koncentracijom glukoze, triglicerida, kolesterola i C-reaktivnog proteina. Iz toga proizlazi da su adiponektin, glukoza, trigliceridi i kolesterol međusobno snažno povezani prediktori metaboličkih promjena, odnosno dijabetes tipa 2. S obzirom na utvrđenu visoku pozitivnu korelaciju glukoze i CRP-a zaključuje se da je upala temelj za metaboličku disregulaciju i razvoj dijabetesa. Važna razlika za napomenuti je da je utvrđena pozitivna povezanost između varijabli glukoze i CRP-a u odnosu na slučaj s adiponektinom gdje su adiponektin i C-reaktivni protein negativno povezani. Naše otkriće da razine adiponektina u serumu mogu biti negativno povezane s razinama CRP-a ukazuje na potencijalna protuupalna svojstva adiponektina. Protuupalni učinci adiponektina mogu se posredno očitovati njegovim učincima na kontrolu glikemije i lipida u krvi. Sve značajne varijable koji se prate u dijagnostici dijabetesa pokazuju značajnu međusobnu povezanost. Gledajući povezanosti utvrdili smo koje varijable pokazuju najvišu dijagnostičku korisnost. Iz lipidnog statusa trigliceridi ukazuju na najveću razinu povezanosti s glukozom. Iz toga se zaključuje da su trigliceridi raniji prediktori metaboličkih promjena u odnosu na ukupni kolesterol, stoga je njihova dijagnostička korist veća u usporedbi s ukupnim kolesterolom. Adiponektin, hormon masnog tkiva i trigliceridi pokazuju najveću povezanost s glukozom. S tim u vezi zaključuje se kako je njihova dijagnostička korisnost najveća uz glukozu u dijagnostici dijabetesa tipa 2 u usporedbi s ostalim analiziranim varijablama.

Adiponektin generalno pokazuje snažan prediktivni kapacitet prema svima promatranim varijablama. S obzirom na to da je glukoza vrlo promjenjiv parametar i na njega utječe mnogo čimbenika, najteže je pronaći optimalnu graničnu vrijednost. Gledajući prediktivni kapaciteta

adiponektina prema glukozi uočena je visoka osjetljivost te osrednja specifičnost. Slična situacija je i s CRP-om, kolesterolom i trigliceridima. Svi odnosi pokazuju izuzetno visoku osjetljivost. Pomicanjem granice može se podesiti specifičnost i osjetljivost tako da odgovaraju dijagnostičkom problemu. U našem slučaju prednost ćemo dati osjetljivijem i manje specifičnom testu jer je lažno negativna dijagnoza dijabetesa ozbiljniji propust nego lažno pozitivna dijagnoza dijabetesa tipa 2. Visoka osjetljivost u odnosu na nižu specifičnost novog biomarkera ne predstavlja značajan nedostatak. Nabila A. Abdella i Olusegun A. Mojiminiyi u radu „Klinička primjena mjerenja adiponektina u dijabetesu tipa 2: probir, dijagnostika i biljeg kontrole dijabetesa“ (Clinical Applications of Adiponectin Measurements in Type 2 Diabetes Mellitus: Screening, Diagnosis, and Marker of Diabetes Control) bavili su se predikcijom adiponektina. Kao referentne dijagnostičke kriterije koristili su glukozu prema ADA-i i HbA1c. Na graničnoj točki od 7,5 µg/mL, dijagnostička osjetljivost iznosila je 88 %, a specifičnost adiponektina 51 % (27). Uspoređujući ta istraživanja i povezujući ih s našim rezultatima, zaključuje se da su vrijednosti specifičnosti i osjetljivosti adiponektina kao prediktora dijabetesa tipa 2 vrlo slične.

Za procjenu rizika razvoja dijabetesa tipa 2 ispitanici su grupirani na temelju koncentracije glukoze i adiponektina. Za kriterij prema kojem su razdvojeni patološke od referentnih nalaza uzeta je glukozu s vrijednosti 6,9 mmol/L. Razlog tomu je što se prema smjernicama SZO-a i ADA-e dijabetes potvrđuje na  $\geq 7$  mmol/L glukoze u krvi natašte. Rezultati koje smo dobili vrlo su značajni i smatram da su donijeli novi doprinos na polju istraživanja dijabetesa tipa 2 i adiponektina. Omjer izgleda za nastanak dijabetesa tipa 2 je 5,52 puta veći ako se koncentracija glukoze kreće do 6,9 mmol/L, a prisutna je istovremeno normalna koncentracija adiponektina ili koncentracija adiponektina ispod referentnih vrijednosti. Iz ovog istraživanja i dobivenih rezultata zaključuje se da rane i male promjene glikemije dugoročno stvaraju visok rizik za razvoj dijabetesa tipa 2 iz predijabetesa.

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Postoji statistički značajna razlika u koncentraciji adiponektina u skupini kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2.
2. Postoji statistički značajna razlika u koncentraciji kolesterola i triglicerida između skupina kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2.
3. Postoji statistički značajna razlika u koncentraciji C-reaktivnog proteina između skupina kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2.
4. Adiponektin pokazuje:
  - a) Visoku negativnu korelaciju s glukozom.
  - b) Visoku negativnu korelaciju s trigliceridima.
  - c) Umjerenu do dobru negativnu korelaciju s C-reaktivnim proteinom i kolesterolom.
  - d) Statistički značajnu negativnu korelaciju s dobi ispitanika.
5. Kolesterol pokazuje:
  - a) Visoku pozitivnu korelaciju s trigliceridima.
  - b) Umjereno do dobru pozitivnu korelaciju s glukozom.
  - c) Umjereno do dobru pozitivnu korelaciju s C-reaktivnim proteinom.

Trigliceridi pokazuju:

- a) Visoku pozitivnu korelaciju s glukozom.
- b) Visoku pozitivnu korelaciju s C-reaktivnim proteinom.

Glukoza pokazuje:

- a) Visoku pozitivnu korelaciju s C-reaktivnim proteinom.

6. Adiponektin ima visoku osjetljivost te osrednju specifičnost.
7. Rizik za nastanak dijabetesa tipa 2 je 5,52 puta veći kod ispitanika s niskom koncentracijom adiponektina.



## 7. SAŽETAK

**Ciljevi istraživanja:** Cilj istraživanja je ispitati dijagnostičku vrijednost adiponektina, novog potencijalnog i ranog pokazatelja dijabetesa tipa 2 te procijeniti rizik za njegov nastanak. Prvi cilj presječnom studijom bio je ispitati postoji li statistički značajna razlika u koncentraciji adiponektina u skupini kontrolnih ispitanika i pacijenata s dijabetesom tipa 2. Ispitalo se i postoji li statistički značajna razlika u koncentraciji kolesterola, triglicerida i CRP-a između skupina kontrolnih ispitanika i pacijenata. Nadalje, ispitalo se u kakvom je korelacijskom odnosu adiponektin s glukozom, kolesterolom, trigliceridima, CRP-om i dobi ispitanika. Odnos i povezanost promatao se i za kolesterol s TG, glukozom i CRP-om. Istim principom statistički se računao i korelacijski koeficijent za povezanost triglicerida s glukozom i CRP-om te glukoze i CRP-a. Dijagnostička vrijednost adiponektina ispitala se ROC analizom, računajući osjetljivost i specifičnost. Statistička procjena rizika za nastanak dijabetesa tipa 2 temeljila se na izračunu omjera izgleda.

**Ispitanici i metode:** Pacijenti (N=30) s dokazanim dijabetesom tipa 2 sa Zavoda za endokrinologiju. Kontrolni ispitanici (N=30) zaprimljeni na Zavodu za kliničko laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Za određivanje glukoze koristila se enzimatska metoda s HK. Za određivanje adiponektina i CRP-a koristila se imunoturbidimetrijska metoda. Za određivanje kolesterola upotrebljena je enzimatska metoda s CHO-PAP. Određivanje triglicerida učinjeno je enzimskom metodom s GPO-PAP.

**Rezultati:** Koncentracija adiponektina, kolesterola, triglicerida, glukoze i CRP-a između skupina je značajno različita ( $p < 0,001$ ). Adiponektin pokazuje negativan odnos s glukozom, kolesterolom, TG i CRP-om.

**Zaključak:** Izgled za nastanak dijabetesa tipa 2 je 5,52 puta veća kod ispitanika s niskom koncentracijom adiponektina.

**Ključne riječi:** adiponektin, dijabetes tipa 2, trigliceridi, kolesterol, glukoza, CRP.

## 8. SUMMARY

### **Diagnostic value of adiponectin determination in risk assessment for type2 diabetes.**

**Objectives:** The objective of the study was to examine the diagnostic value of adiponectin, a new potential and early indicator of type 2 diabetes, and to assess the risk for its occurrence. The first objective of the cross-sectional study was to examine that there was a statistically significant difference in adiponectin concentration in the group of control subjects and patients with type 2 diabetes. Furthermore, the exam is taken in correlation of adiponectin with glucose, cholesterol, triglycerides, CRP and I get the examiner. Relationship and association observed for cholesterol with TG, glucose and CRP. The correlation coefficient for the association of triglycerides with glucose and CRP and glucose and CRP is statistically calculated by the same principle. The diagnostic value of adiponectin is examined by ROC analysis, computational sensitivity and accuracy. Statistical assessment of the risk of developing type 2 diabetes is based on odds ratio.

**Materials and methods:** Patients (N = 30) with proven type 2 diabetes from the Department of Endocrinology. Control subjects (N = 30) were imprisoned in the Department of Clinical Laboratory Diagnostics of the Clinical Hospital Center Osijek. The enzymatic method with HK is used to determine glucose. An immunoturbidimetric method was used to determine adiponectin and CRP. An enzymatic method with CHO-PAP is used to determine cholesterol. Determination of triglycerides is actually an enzymatic method with GPO-PAP.

**Results:** The concentration of adiponectin, cholesterol, triglycerides, glucose and CRP between the groups was different ( $p < 0.001$ ). Adiponectin shows a negative relationship with glucose, cholesterol, TG and CRP.

**Conclusion:** The probability of developing type 2 diabetes is 5.52 times higher in subjects with low adiponectin concentrations.

**Key words:** adiponectin, type 2 diabetes, triglycerides, cholesterol, glucose, CRP.

## 9. POPIS LITERATURE

1. Baretić, Maja. Lipidni poremećaji šećerne bolesti: poremećaj triglicerida. Dostupno na: <https://www.bib.irb.hr/586156>. Datum pristupa: 5.8.2020.
2. Ivan Pavlović. Patofiziologija i komplikacije dijabetesa tipa II. Dostupno na adresi: <https://recipe-cpsa.com/patofiziologija-i-komplikacije-dijabetesa-tipa-ii/>. Datum pristupa: 5.8.2020.
3. Kajtar D. Prehrana i životne navike oboljelih od dijabetesa tipa 2 na području Baranje [Završni specijalistički]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek; 2015 [pristupljeno 05.08.2020.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:850752>.
4. Čvorišćec, D. i Čepelak, I., ur.: Štrausova Medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb, 2009.
5. Jasmina Čatić. Kako zaštititi srce ako imate predijabetes. Dostupno na: <https://blog.svkatarina.hr/hr/novost/kako-zastititi-srce-ako-imate-predijabetes/43>. Datum pristupa: 5.8.2020.
6. Vrca Botica M, Pavlić - Renar I. Kwartarna prevencija. Predijabetes: rizik, bolest ili suvišna dijagnoza? Bolesti koje ne donose veliku opasnost ne treba dražiti ljekarijama. (Platon, 5. st. pr. n. e. U: Timej: Matica hrvatska 2017., str. 27., prijevod Damira Barbarića). Liječnički vjesnik [Internet]. 2020 [pristupljeno 05.08.2020.];142(1-2):29-32. <https://doi.org/10.26800/LV-142-1-2-8>.
7. Kokić, Slaven. 76. dani dijabetologa – prehrana, tjelesna aktivnost, predijabetes i prevencija šećerne bolesti tipa 2. . Dostupno na: [http://www.kardio.hr/wp-content/uploads/2015/10/73-82\\_Info\\_Kokic.pdf](http://www.kardio.hr/wp-content/uploads/2015/10/73-82_Info_Kokic.pdf). Datum pristupa: 5.8.2020.
8. Poljičanin T, Metelko Ž. Epidemiologija šećerne bolesti u Hrvatskoj i svijetu. Medix [Internet]. 2009 [pristupljeno 05.08.2020.];15(80/81):82-88. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/68676>.
9. VUČIĆ LOVRENČIĆ M. Laboratorijska medicina u šećernoj bolesti: Conditio sine qua non kvalitetnog standarda zdravstvene zaštite. Hrvatski časopis za javno zdravstvo [Internet]. 2016 [pristupljeno 05.08.2020.];12(46):28-36. Dostupno na <https://bib.irb.hr/datoteka/809741.2259-8593-1-PB.pdf>.

10. Majić M. PROCJENA ZNANJA I STAVOVA O VLASTITOJ BOLESTI U PACIJENATA SA ŠEĆERNOM BOLESTI [Diplomski rad]. Split: Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet; 2017 [pristupljeno 02.08.2020.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:119431>.
11. Snježana Popović-Pejičić, Heljić, Bećir. Klinički vodič za dijabetes melitus Menadžment dijabetesa. Dostupno na: [http://www.akaz.ba/udoc/Vodic\\_za\\_dijabetes\\_site.pdf](http://www.akaz.ba/udoc/Vodic_za_dijabetes_site.pdf). Datum pristupa: 5.8.2020.
12. Poljičanin, Tamara, Švajda, Marija. IZVJEŠĆE ZA 2019. GODINU. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/03/Izvje%C5%A1%C4%87e-za-2019.-godinu.pdf>. Datum pristupa: 5.8.2020.
13. Tarad, Milan. INZULIN, GLUKAGON I ŠEĆERNA BOLEST. Dostupno na: [http://mef.unizg.hr/~mtaradi/nastava/fiziologija/seminari/endokrina/inzulin/inzulin\\_00/index.htm](http://mef.unizg.hr/~mtaradi/nastava/fiziologija/seminari/endokrina/inzulin/inzulin_00/index.htm). Datum pristupa: 5.8.2020.
14. Režić K. Povijest i razvoj inzulinske terapije [Završni specijalistički]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet; 2018 [pristupljeno 03.08.2020.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:848030>.
15. Boban K. MEDITERANSKA PREHRANA I DIJABETES TIP 2 [Diplomski rad]. Split: Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet; 2015 [pristupljeno 02.08.2020.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:487162>.
16. Grizelj D. Adiponektin i omentin u masnom tkivu vrata i serumu bolesnika s metaboličkim rizikom [Disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2019 [pristupljeno 02.08.2020.] Dostupno na: [http://medlib.mef.hr/3440/1/grizelj\\_danijela\\_disertacija\\_2019.pdf](http://medlib.mef.hr/3440/1/grizelj_danijela_disertacija_2019.pdf).
17. Kranjec T. Visceralno masno tkivo i metabolički sindrom [Diplomski rad]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2017 [pristupljeno 02.08.2020.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:411945>.
18. Metelko Ž., Crkvenčić N. Sindrom metaboličke inzulinske rezistencije i metabolizam ugljikohidrata. MEDICUS [Internet]. 2004 [pristupljeno 07.08.2020.];13 (2);41-49. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/18999>.
19. SAT Biology 4. Type 1 Diabetes Mellitus. Dostupno na adresi: . <https://www.toppr.com/ask/question/type-1-diabetes-mellitus-also-known-as-juvenile-diabetes-is-a-form-of-diabetes-that-2/>. Datum pristupa: 9.8.2020.

20. Dom zdravlja Bar. Kako se postavlja dijagnoza dijabetesa? Dostupno na:  
[http://www.domzdravljabar.com/kako-se-postavlja-dijagnoza-dijabetesa--\\_01371136378691.php](http://www.domzdravljabar.com/kako-se-postavlja-dijagnoza-dijabetesa--_01371136378691.php). Datum pristupa: 11.8.2020.
21. Radonjić, Vesna. Novi marker metaboličkog sindroma. Dostupno na:  
<https://medicalcg.me/9709/>. Datum pristupa: 11.8.2020.
22. Ivković V. Povezanost polimorfizama gena za adiponektin s arterijskim tlakom u osoba s normalnom bubrežnom funkcijom [Disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet; 2015 [pristupljeno 09.08.2020.]  
 Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:971201>.
23. Thundyil J, Pavlovski D, Sobey CG, Arumugam TV. Adiponectin receptor signalling in the brain. *Br J Pharmacol.* 2012;165(2):313-327. Dostupno na:  
<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1476-5381.2011.01560.x>.  
 Datum pristupa: 11.8.2020.
24. Sharma M, McClung JA, Nader GA Adiponectin A Mediator of Obesity, Insulin Resistance, Diabetes, and the Metabolic Syndrome. U: Aronow W., McClung JA. *Translational Research in Coronary Artery Disease*. Netherlands: Elsevier; 2016. str. 33-42.
25. Hong R., Lily Q. D. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *Journal of Molecular Cell Biology*. [Internet]. 2016 [pristupljeno 13.08.2020.];8 (2); 101-109. Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw014>.
26. Choi HM, Doss HM, Kim KS. Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in Inflammation and Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Feb 12;21(4):1219. doi: 10.3390/ijms21041219. PMID: 32059381; PMCID: PMC7072842.
27. Popović-Pejičić, Snježana, Heljić, Bećir. Klinički vodič za dijabetes melitus Menadžment dijabetesa. Dostupno na:  
[http://www.akaz.ba/udoc/Vodic\\_za\\_dijabetes\\_site.pdf](http://www.akaz.ba/udoc/Vodic_za_dijabetes_site.pdf). Datum pristupa: 12. 9. 2020.
28. Bilić-Zulle. Korelacija-predavanje. Dostupno na:  
[http://mi.medri.hr/assets/P6\\_Korelacija.pdf](http://mi.medri.hr/assets/P6_Korelacija.pdf). Datum pristupa: 12. 9. 2020.
29. <http://breyer.hr/>. Datum pristupa: Datum pristupa: 12. 9. 2020.
30. GLUCOSE. Dostupno na:  
[https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x21A/01/EN\\_GLU](https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x21A/01/EN_GLU). Datum pristupa: 13.9.2020.

31. CHOLESTEROL. Dostupno na:

[https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x16/%25%25/EN\\_CHOLESTEROLBAOSR6x16.pdf](https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x16/%25%25/EN_CHOLESTEROLBAOSR6x16.pdf). Datum pristupa: 13.9.2020.

32. TRIGLYCERIDES. Dostupno na:

[https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x118/%25%25/EN\\_TRIGLYCERIDES.pdf](https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x118/%25%25/EN_TRIGLYCERIDES.pdf). Datum pristupa: 13.9.2020.

33. C-REACTIVE PROTEIN. Dostupno na:

[https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x47/%25/EN\\_C-](https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/techdocs?docname=/cis/BAOSR6x47/%25/EN_C-). Datum pristupa: 13.9.2020.

## 10. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODACI:

- Ime i prezime: Ivan Bokunić
- Datum i mjesto rođenja: 30. svibnja 1995., Virovitica
- Adresa stanovanja: Miroslava Kraljevića 29, 33 000 Virovitica
- Kontakt: (+385) 98 9879 833
- E-mail: ivanbokunic305@gmail.com

### OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE:

- 2002. – 2010. Osnovna škola Ivane Brlić-Mažuranić, Virovitica.
- 2011. – 2014. Zdravstveno laboratorijski tehničar, Medicinska škola, Bjelovar.
- 2014. – 2017. Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek.
- 2017. – 2019. Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek.