

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

VANJA PLIBERŠEK

**POMEN DOLOČANJA ADIPONEKTINA PRI
BOLNIKI S SLADKORNO BOLEZNIJO TIPA II**

DIPLOMSKA NALOGA
UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, december 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

VANJA PLIBERŠEK

**POMEN DOLOČANJA ADIPONEKTINA PRI BOLNIKI S
SLADKORNO BOLEZNIJO TIPA II**

**THE IMPORTANCE OF DETERMINING ADIPONECTIN IN
PATIENTS WITH DIABETES TYPE II**

Ljubljana, december 2012

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Meritve so bile opravljene na različnih oddelkih Kliničnega inštituta za klinično kemijo in biokemijo (KIKKB) Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. Določitev koncentracije adiponektina in albumina, pa je potekala v Laboratoriju za analitiko hormonov in tumorskih označevalcev na istem inštitutu (KIKKB).

ZAHVALA

Prof. dr. Jošku Osredkarju, mag. farm., spec. med. biokem. se iskreno zahvaljujem za mentorstvo in za vse napotke pri pisanju diplomske naloge.

Posebna zahvala gre tudi moji družini, ki so mi stali ob strani ves čas mojega študija in pa vsem, ki so kakorkoli prispevali pri nastajanju moje diplomske naloge.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Joška Osredkarja, mag. farm., spec. med. biokem.

Vanja Pliberšek

Ljubljana, december 2012

Predsednica komisije: izr. Prof. dr. Lucija Peterlin Mašič

Mentor komisije: prof. dr. Joško Osredkar

Član komisije za zagovor: doc. dr. Simon Žakelj

KAZALO

1	UVOD	1
1.1	GLUKOSTATIČNI MEHANIZMI	1
1.2	SLADKORNA BOLEZEN	1
1.3	INZULIN	1
1.3.1	IZLOČANJE INZULINA IN PROŽENJE UČINKOV V TARČNIH CELICAH 1	
1.3.2	IZLOČANJE INZULINA IZ CELIC β	2
1.4	TIPI SLADKORNE BOLEZNI	3
1.4.1	SLADKORNA BOLEZEN TIPA 1	3
1.4.2	SLADKORNA BOLEZEN TIPA 2	4
1.4.3	SEKUNDARNA SLADKORNA BOLEZEN	5
1.4.4	SLADKORNA BOLEZEN V NOSEČNOSTI	5
1.4.5	MOTENA TOLERANCA ZA GLUKOZO	5
1.5	KLINIČNI ZNAKI SLADKORNE BOLEZNI	5
1.5.1	MEHANIZMI ZAPLETOV SLADKORNE BOLEZNI	5
1.5.2	AKUTNI ZAPLETI SLADKORNE BOLEZNI	5
1.5.3	KRONIČNI ZAPLETI SLADKORNE BOLEZNI	7
1.6	LABORATORIJSKI KRITERIJI V DIAGNOSTIKI SLADKORNE BOLEZNI	7
1.6.1	GLUKOZA V KRVI	7
1.6.2	ODKRIVANJE BOLNIKOV Z SB – PRESEJEVANJE	9
1.7	ANALIZNE METODE	9
1.7.1	PRENOSNI MERILCI KONCENTRACIJE GLUKOZE ALI GLUKOMETRI 10	
1.7.2	SAMOKONTROLA	10
1.7.3	ORALNI GLUKOZNI TOLERANČNI TEST – OGTT	11
1.7.4	GLUKOZA V URINU	11
1.7.5	KETONI	12
1.7.6	GLIKIRANI HEMOGLOBIN	12
1.7.7	GENETIČNI ONAČEVALCI	12
1.7.8	AVTOIMUNSKI OZNAČEVALCI	12
1.7.9	MIKROALBUMINURIJA	13
1.8	ZDRAVLJENJE SLADKORNE BOLEZNI	13
1.9	ADIPONEKTIN	13
1.9.1	ADIPONEKTIN IN RECEPTORJI	15
1.9.2	HMW ADIPONEKTIN IN INZULINSKA REZISTENCA	16
1.9.3	ADIPONEKTIN IN ADIPONEKTINSKI RECEPTORJI, KOT TERAPEVTSKE TARČE	16

2	NAMEN DELA	18
3	MATERIALI IN METODE	19
3.1	INSTRUMENTI ,OPREMA IN METODE DOLOČANJA	19
3.1.1	DOLOČANJE GLUKOZE	20
3.1.2	DOLOČANJE HOLESTEROLA	20
3.1.3	DOLOČANJE HDL-HOLESTEROLA	20
3.1.4	DOLOČANJE LDL-HOLESTEROLA	21
3.1.5	DOLOČANJE KREATININA	21
3.1.6	DOLOČANJE HbA1c	22
3.1.7	DOLOČANJE ALBUMINA V 24-URNEM VZORCU URINA	22
3.1.8	DOLOČANJE ADIPONEKTINA	22
4	EKSPERIMENTALNI DEL	24
4.1	REZULTATI	24
5	STATISTIČNA ANALIZA PODATKOV	35
5.1	KORELACIJA MED ADIPONEKTINOM IN OSTALIMI PARAMETRI	40
6	RAZPRAVA	42
7	SKLEP	46
8	LITERATURA	47

KAZALO SLIK

Slika 1: Diagrama na levi strani prikazuketa znižan adiponektin pri diabetesu in pri bolnikih z BMI 25 ali več. Grafa na desni strani pa prikazujeta signifikantno negativno korelacijo med adiponektinom in glukozo, ter med adiponektinom in BMI (8).....	15
Slika 2: Vezava tiazolidindionov na PPAR- γ receptorje v adipoznem tkivu (8).....	17

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Anabolni in antikatabolni učinki inzulina (2).....	3
Preglednica II: Merila za diagnozo sladkorne bolezni (2).....	8
Preglednica III: Vrednosti glukoze na tešče in po OGTT (2).....	11
Preglednica IV: Prikaz parametrov glukoze.....	26
Preglednica V: Prikaz parametrov HbA1c.....	27
Preglednica VI: Prikaz parametrov za kreatinin.....	28
Preglednica VII: Prikaz parametrov za albumin.....	29
Preglednica VIII: Prikaz parametrov za holesterol.....	30
Preglednica IX: Prikaz parametrov za HDL-holesterol.....	31
Preglednica X: Prikaz parametrov za LDL-holesterol.....	32
Preglednica XI: Prikaz parametrov za adiponektin.....	33
Preglednica XII: Parametri za adiponektin pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II in pri kontrolni skupini, ločeno po spolu.....	34
Preglednica XIII: Test normalnosti porazdelitve spremenljivk.....	35
Preglednica XIV: T-test dveh neodvisnih vzorcev.....	37
Preglednica XV: Mann Whitney U test.....	39
Preglednica XVI: Prikaz korelacij med parametri.....	41

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Porazdelitev bolnikov po spolu.....	25
Graf 2: Porazdelitev kontrolne skupine po spolu.	25
Graf 3: Kvartilni diagram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti glukoze ločeno po spolu.	26
Graf 4: Kvartilni diagram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti HbA1c ločeno po spolu...	27
Graf 5: Kvartilni digram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti kreatinina ločeno po spolu.	28
Graf 6: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti albumina v urinu pri bolnikih.	29
Graf 7: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti holesterola ločeno po spolu pri bolnikih.	30
Graf 8: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti HDL-holesterola ločeno po spolu.	31
Graf 9: Kvartilni diagram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti LDL-holesterola ločeno po spolu.	32
Graf 10: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti adiponektina pri bolnikih in pri kontrolni skupini.....	33
Graf 11: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti adiponektina pri bolnikih in kontrolni skupini, ločeno po spolu.	34
Graf 12: Histogram normalnosti porazdelitve glukoze.	36
Graf 13: Histogram normalnosti porazdelitve HbA1c.	36
Graf 14: Histogram normalnosti porazdelitve kreatinina.	36
Graf 15: Histogram normalnosti porazdelitve holesterola.	36
Graf 16: Histogram normalnosti porazdelitve HDL-holesterola.	36
Graf 17: Histogram normalnosti porazdelitve LDL-holesterola.	36
Graf 18: Histogram normalnosti porazdelitve adiponektina.	37
Graf 19: Korelacija med adiponektinom in glukozo.	40
Graf 20: Korelacija med adiponektinom in HbA1c.	40
Graf 21: Korelacija med adiponektinom in HDL-holesterolom.....	40
Graf 22: Korelacija med adiponektinom in LDL-holesterolom.	40
Graf 23: Korelacija med adiponektinom in kreatininom.....	40
Graf 24: Korelacija med adiponektinom in holesterolom.	40
Graf 25: Korelacija med adiponektinim in albuminom.....	41

POVZETEK

Adiponektin je protein, ki ga izloča adipozno tkivo. Adiponektin je udeležen v številne metabolne procese, vključno v metabolizem glukoze in katabolizem maščobnih kislin.

V diplomski nalogi, smo ugotavljali kako nam adiponektin lahko služi kot dodatna pomoč pri diagnostiki sladkorne bolezni. In kako nam lahko njegova koncentracija služi kot pomoč pri opredelitvi stopnje ledvične okvare. Pogledali smo, kako se porazdeljujejo vrednosti adiponektina pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II in pri kontrolni skupini, ter v kakšni medsebojni korelaciji je ta parameter z drugimi parametri, ki smo jih prav tako določili pri skupini bolnikov. V analizo smo vključili 58 bolnikov s potrjeno sladkorno boleznijo tipa II. Kontrolno skupino pa je sestavljalo 26 zdravih preiskovancev. Analizo so opravili v Univerzitetnem kliničnem centru Ljubljana, na Inštitutu za klinično kemijo in biokemijo. Vsem preiskovancem so v serumu izmerili naslednje parametre: glukoza, HbA1c, kreatinin, celokupni holesterol, LDL-holesterol, HDL-holesterol, adiponektin in albumin v urinu.

Povzamemo lahko, da je adiponektin protein, ki ima morda pomembno vlogo pri metabolizmu glukoze, vendar pa ne moremo postaviti diagnoze sladkorne bolezni in stopnjo ledvične okvare samo na podlagi koncentracije adiponektina v serumu, saj nanj vplivajo številni dejavniki.

ABSTRACT

Adiponectin is a protein secreted from adipose tissue and it modulates a number of metabolic processes, including glucose regulation and fatty acid catabolism.

In our research, we were assessing how can adiponectin helps us to establish the diagnosis of diabetes and how this parameter can be used to assist in defining the degree of renal impairment. We looked at the values of adiponectin and how adiponectin is distributed to the patients with type II diabetes and in the control group, and whether this parameter is in any correlation with other parameters, which we have also identified in patients. We included 58 patients with type II diabetes in our research. In the control group there were 26 healthy subjects. The studies were performed at the University Medical Centre Ljubljana, Institute of Clinical Chemistry and Biochemistry. Measurements were carried out in each patient and parameters identified were: glucose, HbA1c, creatinine, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, adiponectin and albumin in the urine.

Although adiponectin might play an important role in metabolism of glucose we cannot set the diagnosis of diabetes and degree of renal impairment only on the basis of its concentration, because it depends on many factors.

SEZNAM OKRAJŠAV

ADA – Ameriško združenje za sladkorno bolezen

AK - Aminokislina

AMPK – AMP-aktivirana protein kinaza

ATP – Adenin trifosfat

DKA – Diabetična ketoacidoza

DAHS – Diabetični aketotični hiperosmolarni sindrom

EDTA – Etilen-diamin-tetraocetna kislina

HbA1c – Glikirani hemoglobin

HDL – Lipoprotein visoke gostote

HLA – Humani levkocitni antigen

HMW – High molecular weight multimer

IFCC – Mednarodno združenje za klinično kemijo

IL-1 – Interlevkin 1

LDL – Lipoprotein nizke gostote

LMW – Low molecular weight multimer

MHC – Poglavitni histokompatibilni sistem

MMW – Medium molecular weight adiponectin

NADH – Reducirani nikotinamid adenin dinukleotid

NADPH – Reducirani nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

OGTT – Oralni glukozni tolerančni test

PPAR- γ – Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov γ

SB – Sladkorna bolezen

SB 1 – Sladkorna bolezen tipa 1

SB 2 – Sladkorna bolezen tipa 2

TZD – Tiazolidindion

TMB – 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin

WHO – Svetovna zdravstvena organizacija

1 UVOD

1.1 GLUKOSTATIČNI MEHANIZMI

Prva naloga presnovne homeostaze v človeškem organizmu je vzdrževati krvno koncentracijo glukoze nad mejo, pri kateri bi nastopile motnje zaradi nezadostne preskrbe živčevja z glukozo. Glukoza je namreč v normalnih razmerah edini vir energije za to tkivo. Glukostatični mehanizmi so urejeni tako, da po obrokih hrane viške glukoze spravijo iz krvi v ustrezna skladišča, ta pa omogočajo vzdrževanje normalne koncentracije glukoze tudi v obdobjih med obroki hrane. Prav to nalogo skladiščenja opravi presnovni hormon inzulin. Torej lahko sklepamo, da se motnje v delovanju glukostatičnih mehanizmov na eni strani kažejo kot nezmožnost preprečevanja hipoglikemije, na drugi strani pa kot nezmožnost skladiščenja glukoze. Slednjo motnjo poznamo pod skupnim imenom sladkorna bolezen (1).

1.2 SLADKORNA BOLEZEN

Sladkorna bolezen (diabetes mellitus) je opredeljena kot »skupina presnovnih motenj«, ki se kažejo kot hiperglikemija; po današnjih merilih pomeni to koncentracijo glukoze v krvi nad 7,0 mmol/l, merjeno na tešče (vsaj 8 ur brez kaloričnega vnosa), oziroma kadarkoli nad 11,1 mmol/l, ob prisotnosti kliničnih težav zaradi hiperglikemije z glukozurijo (žeja, občutek suhih ust, poliurija, utrujenost) oziroma posledic kroničnih zapletov sladkorne bolezni. To stanje nastane zaradi pomankanja inzulina ali rezistence na njegovo delovanje (1). Koncentracija glukoze v krvi zdravega človeka je zjutraj na tešče 3,8 do 6,0 mmol/l. Dve uri po hrani ali pijači, bogati z ogljikovimi hidrati je običajno od 6,7 do 7,8 mmol/l (2).

1.3 INZULIN

1.3.1 IZLOČANJE INZULINA IN PROŽENJE UČINKOV V TARČNIH CELICAH

Po patofiziološki opredelitvi te bolezni so vzroki za nastanek SB vsi tisti dejavniki, ki pripeljejo do pomankanja učinkov inzulina. Vzroki za pomankanje teh učinkov pa so različni. Lahko jih najdemo tako rekoč na vseh ravneh izločanja in delovanja inzulina, od vzdraženja celic β v Langerhansovih otočkih pa do molekularnih mehanizmov prek katerih inzulin proži svoje učinke v tarčnih celicah (1).

1.3.2 IZLOČANJE INZULINA IZ CELIC β

Glavna vloga inzulina v okviru glukostatičnih mehanizmov je uravnavanje privzema glukoze v jetrne, mišične in maščobne celice. V ostale celice poteka vstop glukoze z olajšano difuzijo s pomočjo membranskega transportnega proteina, razen v nevrone, ki so prepustni za glukozo. V procesih skladiščenja energije sodeluje inzulin preko spodbujanja procesov, ki vodijo k sintezi glikogena, trigliceridov in beljakovin (anabolni učinek) in prek zaviranja procesov, ki vodijo v razgradnjo teh snovi (antikatabolni učinek), kar je prikazano v spodnji preglednici. V katabolnih procesih sodelujejo katabolni hormoni, predvsem glukagon, adrenalin, rastni hormon in kortizol.

Pri SB je lahko vzrok za pomankljiv učinek inzulina na naslednjih ravneh:

- motnja v biosintezi inzulina v celicah β ,
- motnja v izločanju inzulina iz celic β ,
- motnja v potovanju inzulina po krvnem obtoku,
- motnja v delovanju inzulina na tarčno celico.

Biosinteza inzulina poteka v celicah β Langerhansovih otočkov trebušne slinavke (pankreas), kjer se iz preproinzulina sintetizira najprej biološko neučinkovit proinzulin. Sestavljen je iz dveh polipeptidnih verig, ki sta med seboj povezani še z dvema disulfidnima mostovoma in še z veznim C-peptidom. V Golgijevem aparatu se tvorijo vezikli v katerih se pod vplivom endopeptidaz odcepi C-peptid in nastaneta ekvimolarni količini dvoverižnega hormona inzulina in C-peptida, ki se z eksocitozo izločita v izvencelično tekočino. Inzulin je lahko neučinkovit, če se sintetizira nepravilna molekula inzulina ali, če je pretvorba proinzulina v inzulin nepopolna (1).

Izločanje inzulina iz celic β je uravnavano s koncentracijo glukoze v krvi, ki z olajšano difuzijo, s pomočjo prenašalca glukoze (GLUT-2) prehaja v celice β . Zvišana koncentracija glukoze spodbudi zvečano izločanje inzulina iz zrnca. Poleg glukoze pospešujejo izločanje inzulina še aminokisliline (še posebno arginin in levcin), proste maščobne kisline, ketoni, hormoni prebavnega trakta, β_2 agonisti in vagus. Stanja, ki spodbujajo simpatik (hipoksija, hipotermija, opekline, kirurški posegi) pa zavirajo izločanje inzulina prek α_2 adrenergičnih receptorjev. Hitrost izločanja inzulina je sorazmerna hitrosti presnove glukoze v celicah β . Razpolovni čas inzulina je normalno 5-6 minut. Izločanje inzulina je zavirto, če je zvišan nivo inzulinu nasprotno učinkujočih hormonov (1).

Potovanje inzulina po krvnem obtoku do tarčnih celic je lahko moteno, če so v krvi prisotna protitelesa proti inzulinskim receptorjem (1).

Motnje v delovanju inzulina na tarčne celice lahko razdelimo na več možnih ravni:

- motnje v vezavi inzulina na receptor,
- zmanjšano število receptorjev za inzulin,
- motnje v glukoznem transportu,
- motnje v postreceptorskem dogajanju (1,2).

	JETRA	MAŠČEVJE	MIŠICE
ANABOLNI UČINKI	↑glikogeneza ↑sinteza PMK	↑sinteza glicerola ↑sinteza PMK	↑vstop AK ↑sinteza beljakovin ↑glikogeneza
ANTI-KATABOLNI UČINKI	↓glikogenoliza ↓glukoneogeneza ↓sinteza ketonov	↓lipoliza	↓razgradnja beljakovin ↓izplavljanje AK
Legenda	↑-pospešen proces	↓-upočasjen proces	PMK-proste maščobne kisline AK-aminokisline

Preglednica I: Anabolni in antikatabolni učinki inzulina (2).

1.4 TIPI SLADKORNE BOLEZNI

1.4.1 SLADKORNA BOLEZEN TIPA 1

Ponavadi se pojavi pri mlajših bolnikih in se manifestira nenadoma s ketoacidozno komo.

Količina celic β in inzulina je zmanjšana, zato so bolniki odvisni od inzulina. Vzrok bolezni je uničenje celic β pankreasa, ki je avtoimunski proces. K nastanku avtoimunskega procesa prispevajo tako vplivi iz okolja, kot tudi genetska nagnjenost, ki pa je manjša kot pri SB2. Med dejavniki okolja se pogosto omenja virusna okužba trebušne slinavke, okužba z virusi mumpsa, hepatitisa, infekcijske mononukleoze, rdečk in še nekaterih.

Virusna okužba trebušne slinavke naj bi sprožila SB1 po dveh mehanizmih: povzročila naj bi okvaro celic Langerhansovih otočkov in sprožila naj bi imunski odgovor na antigene v vnetišču. Tako naj bi virusna okužba celic β izpostavila skrite antigene imunskemu sistemu

in tako sprožila avtoimunski odgovor. Protitelesa, ki jih odkrijejo v krvi bolnikov, so usmerjena proti različnim beljakovinam celic β kot so npr. inzulin, proinzulin, glutamat-dekarboksilaza. Ob avtoimunskega napada naj bi imeli pomembno vlogo pri propadanju celic β tudi citokini, ki se pojavijo v vnetišču. Celice β , so za razliko od celic α zelo občutljive za toksične učinke citokinov kot so TNF- α , interferon G, IL-1. Bolezen se klinično ne pokaže takoj. Propadanje celic β je proces, ki navadno traja nekaj let in ko pride do klinično izražene SB1, je uničenih že 75 do 80% teh celic (1,2).

1.4.2 SLADKORNA BOLEZEN TIP 2

Simptomi se pojavijo postopoma in bolezen ponavadi odkrijejo slučajno na zdravniškem pregledu v srednjih ali poznih letih (3). Bolniki so večinoma debeli in imajo v 80-90 % presnovni sindrom, kar pa pomeni, da imajo poleg hiperglikemije še hipertenzijo, zvišano razmerje LDL/HDL in hipertrigliceridemijo (1). Količina celic β je normalna, količina inzulina pa je lahko normalna, povečana ali zmanjšana. Vzrok bolezn je ponavadi neodzivnost receptorjev (zmanjšano število ali aktivnost receptorjev), nezadostno izločanje inzulina, spremenjena presnova maščob, povečana sinteza glukoze v jetrih, včasih pa tudi nenormalna struktura inzulina. (3) Toda glavno vlogo pri samem razvoju SB2 imata zagotovo zmanjšana odzivnost na inzulin v tarčnih celicah in okvarjeno izločanje inzulina. Vpliv dednosti je tukaj zelo močan (pri enojajčnih dvojčkih je sopojava SB2 od 70 do 90%), k povečanemu tveganju pa prispevajo tudi dejavniki okolja, med katerimi je na prvem mestu abdominalna debelost. Zvečana masa maščevja vodi k zvišani krvni koncentraciji PMK. Zvečana koncentracija PMK pa zmanjšuje porabo glukoze v perifernih tkivih, pospešuje izplavljanje glukoze iz jeter in okvarja celice β . Poleg PMK se iz maščevja izloča še vrsta drugih dejavnikov, ki povzročajo zmanjšano odzivnost na inzulin, npr. hormon rezistin. Prav tako se iz tega istega tkiva izločajo tudi dejavniki, ki povečujejo odzivnost na inzulin, kot je npr. adiponektin, a je pri debelostnikih to izločanje zmanjšano, kar dodatno prispeva k zmanjšani odzivnosti na inzulin (1).

Nezadostno izločanje inzulina, opredeljeno kot patološko stanje, kjer je hitrost s katero spodbujene celice β izločajo inzulin, manjša, kot bi jo pričakovali glede na jakost dražljaja. Razlag je več. Ena od njih za okvaro celic β vključuje tudi 37 aminokislin dolg polipeptid amilin. Amilin se iz teh celic izloča skupaj z inzulinom. Pri SB2 so našli nalaganje amiloida, katerega glavna sestavina je amilin, v Langerhansovih otočkih. Pomembno vlogo torej igra čezmerno izločanje inzulina iz celic β , kar pa povzroči prek hkratno izločenega amilina zmanjšano odzivnost tarčnih celic na inzulin, nalaganje amiloida v trebušni

slinavki in končno propad celic β . Zdravljenje poteka z dieto in peroralnimi antidiabetiki, v napredovalnih fazah bolezni pa tudi z inzulinom (1,2).

1.4.3 SEKUNDARNA SLADKORNA BOLEZEN

Nastane kot posledica neke druge primarne bolezni; bolezni, ki povzročijo znižanje koncentracije inzulina (bolezni pankreasa) ali zvišanje koncentracije antagonistov inzulina (akromegalija, Cushingov sindrom, tumorji). Sem spada tudi jatrogena sladkorna bolezen zaradi administracije določenih zdravil (3).

1.4.4 SLADKORNA BOLEZEN V NOSEČNOSTI

Tukaj gre za zmanjšanje tolerance za glukozo med nosečnostjo. Po porodu se stanje običajno normalizira, vendar pa se pri 39% žensk, ki so imele sladkorno bolezen v nosečnosti kasneje lahko razvije sladkorna bolezen tipa 2 (3).

1.4.5 MOTENA TOLERANCA ZA GLUKOZO

V to skupino spadajo osebe, ki imajo glukozo na tešče od 5,6 do 7,0 mmol/l (govorimo o mejni bazalni glikemiji) oz. pri obremenilnem testu z glukozo (OGTT) od 7,8 do 11,0 mmol/l (govorimo o moteni toleranci na glukozo). Pri nekaterih je to stanje prehodno, nekateri pa kasneje razvijejo sladkorno bolezen (3).

1.5 KLINIČNI ZNAKI SLADKORNE BOLEZNI

Klinični znaki sladkorne bolezni se pojavijo, ko glukosa v krvi naraste nad 10 mmol/l. Takrat se glukosa začne izločati z urinom, kar lahko dokažemo z ustreznimi testnimi lističi. Tipična simptoma sladkorne bolezni sta poliurija – povečano izločanje vode iz telesa in polidipsija – huda žeja. Prav tako, je pri teh bolnikih opaziti slabo počutje, zaspanost, utrujenost, zmanjšana odpornost, pojavi se lahko nejasen vid, ter ne zmorejo težjih telesnih odporov. Rane se težje celijo in so bolj nagnjene k okužbam (4).

1.5.1 MEHANIZMI ZAPLETOV SLADKORNE BOLEZNI

Sladkornega bolnika neposredno ne ogroža hiperglikemija, ki je sicer osrednji znak te bolezni, ampak zapleti, ki se pri tej bolezni pojavljajo. Te delimo na akutne, ki se lahko pri bolniku s sladkorno boleznijo pojavijo občasno in so kratkotrajni, a zelo ogrožujoči, in na kronične, ki sicer počasi, vendar pa brez prestanka kopičijo okvare v organizmu in so danes glavna težava sladkornih bolnikov (1).

1.5.2 AKUTNI ZAPLETI SLADKORNE BOLEZNI

Akutne zaplete delimo na diabetično ketoacidozo in na diabetični aketotični hiperosmolarni sindrom (1).

- **DIABETIČNA KETOACIDOZA**

DKA je življenje ogrožujoče stanje presnovne iztirjenosti, ki se običajno razvije v časovnem razponu 24 ur in se tudi danes lahko konča s smrtnim izidom, če bolnik ne dobi pravočasne pomoči. Kot akutni zaplet je DKA tipična za SB1. Zaradi pomankanja inzulina in ob povišani koncentraciji katabolnih hormonov nastane povečana glukoneogeneza in glikogenoliza v jetrih, istočasno pa periferna tkiva (pomankanje inzulina in neodzivnost katabolnih hormonov) ne privzemajo glukoze. To pomeni, da je v krvi zelo povišana koncentracija glukoze. V ledvicah nastane osmotska diureza, kar vodi v dehidracijo in izgubo elektrolitov. Pomankanje hormonov istočasno povzroči še lipolizo v maščobnih tkivih. Ta izplavljajo v kri proste maščobne kisline. Slednje so substrat za ketogenezo v jetrih, ki se vrši večinoma pri SB 1. Ker izločanje ketonskih teles prek ledvic, ki je v takih razmerah sicer povečano, ne zadošča za normalizacijo stanja, se njihova koncentracija v krvi močno zviša, posledica pa je huda metabolična acidoza. Tako najdemo v krvi znižan pH in znižano koncentracijo bikarbonatnega iona. Kot posledica kompenzatorne hiperventilacije, ki jo pri DKA vidimo kot značilno Kussmaulovo dihanje se zniža tudi parcialni tlak ogljikovega dioksida (P_{CO_2}). Zaradi zvišane koncentracije ketonskih teles ima bolnik zadah po acetonu, ki nastaja iz acetoacetata v pljučih. Značilna za DKA sta navzea in bruhanje, ki ju spremlja huda abdominalna bolečina, ki spominja na akutni pankreatitis (1,5).

- **DIABETIČNI AKETOTIČNI HIPEROSMOLARNI SINDROM**

Kot pove ime, pri diabetičnem aketotičnem hiperosmolarnem sindromu bolnika ne ogroža ketoacidoza, ampak hiperosmolarost s posledično osmotsko diurezo in dehidracijo, ki se lahko stopnjuje do hipovolemičnega šoka. Medtem ko je DKA kot akutni zaplet bolj značilna za SB1, srečamo DAHS pretežno pri bolnikih s SB2. Ker gre pri DAHS za starejše bolnike, je prognoza še slabša kot pri DKA, tako da je pri tej akutni motnji delež vseh primerov, ki se končajo s smrtjo večji. Osnovni mehanizem nastanka DAHS se ne razlikuje od mehanizma nastanka DKA, tudi tukaj gre za hormonsko neuravnovešenost, ki se kaže kot prevlada antagonistov inzulina. Ketoacidoza navadno tukaj ni prisotna, saj je koncentracija glukoze v krvi v primerjavi z DKA v povprečju višja. Sorazmerno odpornost do ketoacidoze pri bolnikih s SB2 si tolmačijo z višjo koncentracijo inzulina v krvi, ki obliva hepatocite. Ker je koncentracija inzulina v portalni krvi že sicer višja od koncentracije v sistemskega obtoku, menijo, da je ta koncentracija pri bolnikih s SB2 dovolj visoka, da v hepatocitih upočasni presnovo PMK v ketonska telesa (1,5).

1.5.3 KRONIČNI ZAPLETI SLADKORNE BOLEZNI

Čeravno sta oba akutna zapleta še danes smrtno nevarna, pred odkritjem inzulina pa sta se praviloma končala s smrtjo bolnika, predstavljata danes, ko je na voljo ustrezno zdravljenje, le manjši delež med vzroki smrti sladkornih bolnikov. Med temi vzroki so danes na prvem mestu kronični zapleti, ki so tudi sicer vzrok najštevilnejšim težavam teh bolnikov. Tako največ sladkornih bolnikov danes umre zaradi miokardnega infarkta in drugih srčnožilnih bolezni, medtem ko so akutni zapleti vzrok smrti pri manj kot 1% bolnikov. V patofiziološkem smislu razdelimo kronične zaplete na:

- Makroangiopatije ali žilne okvare velikih in srednje velikih žil. Pri teh gre za napredujočo aterosklerozo, ki je pri sladkornih bolnikih zgodnejša, bolj razširjena in hitreje potekajoča. Kažejo se kot koronarna bolezen, okluzivna arterijska bolezen in cerebrovaskularne motnje.
- Mikroangiopatije ali žilne okvare arteriol in kapilar. Pri teh gre za specifično diabetično okvaro, ki je osnova diabetične nefropatije in retinopatije.
- Diabetične nevropatije ali okvare živčevja. Te prizadenejo vse tri sisteme perifernega živčevja: senzoričnega, avtonomnega in motorični, pri čemer sta primarno prizadeta prva dva.
- Okvare drugih organov. Sem spadajo zapleti, ki jih najdemo pri sladkornih bolnikih in ki prizadenejo gastrointestinalni in genitourinarni trakt, povzročajo spremembe na koži, infekcije, katarakto in tudi glavkom (1,5).

1.6 LABORATORIJSKI KRITERIJI V DIAGNOSTIKI SLADKORNE BOLEZNI

Diagnoza sladkorne bolezni mora biti zanesljiva, ker ima pomembne posledice za posameznika. Zahteve za diagnostično potrditev diagnoze so različne glede na to, ali ima bolnik simptome in visoko hiperglikemijo ali je brez simptomov in le z zmerno zvišano ravno glikemije. Diagnoza sladkorne bolezni pri bolniku brez simptomov vedno zahteva dve vrednosti glikemije v diagnostičnem območju na dva različna dneva, ki ju lahko določimo na tešče, naključno ali dve uri po začetku OGGT. Če so pri bolniku prisotni značilni klinični znaki sladkorne bolezni (predvsem akutni), ponovna meritev koncentracije glukoze ni potrebna (2).

1.6.1 GLUKOZA V KRVU

Povečana koncentracija glukoze v plazmi je ključni kriterij za postavitve diagnoze SB (2).

Referenčne vrednosti za koncentracijo glukoze v plazmi so:

- Za otroke so v območju 3,3-5,6 mmol/l
- Za odrasle so v območju 4,1- 5,9 mmol/l

Pri odraslih koncentracija glukoze v plazmi na tešče narašča s starostjo od 30. do 60. leta, po tem obdobju pa ne več značilno. Po obremenitvi z glukozo je porast koncentracije glukoze značilno večji pri starejših, kar kaže na naraščajočo inzulinsko rezistenco.

Za postavitev diagnoze SB se uporablja kriterije ADA (2).

	Sladkorna bolezen zanesljiva	Sladkorna bolezen možna (potrebno izvesti OGTT)	Sladkorna bolezen ni verjetna	Motena toleranca za glukozo
Glukoza na tešče	več kot 7,0 mmol/L	5,6 – 6,9 mmol/L	manj kot 5,6 mmol/L	
Glukoza kadarkoli	več kot 11,1 mmol/L	5,6 – 11,1 mmol/L	manj kot 5,6 mmol/l	
Glukoza 2 uri po OGTT	več kot 11,1 mmol/L			7,8 – 11,0 mmol/L

Preglednica II: Merila za diagnozo sladkorne bolezni (2).

Kriteriji za postavitev diagnoze SB so:

- Prisotni simptomi sladkorne bolezni in koncentracija glukoze v plazmi več ali enako 11,0 mmol/L, ne glede na čas predhodnega obroka hrane.
- Koncentracija glukoze v plazmi na tešče več ali enako 7,0 mmol/L; tešč najmanj 8 ur (dovoljeno je pitje vode).
- Koncentracija glukoze v plazmi več ali enako 11,0 mmol/L dve uri po OGTT (obremenilni test z glukozo).

Kri se odvzame z antikoagulantom (EDTA ali Li-heparinat ali K-okalat ali citrat).

Plazma mora biti ločena od celic v 60 minutah, sicer je potrebno dodati inhibitor glikolize Na-fluorid (2,5 mg/ml krvi) ali Li-jodoacetat (0,5 mg/ml krvi). Kljub temu, da je dodan inhibitor, koncentracija glukoze v prvi uri pade za 5-7%. Pri levkocitozah je glikoliza ojačana, kljub prisotnosti inhibitorja. Koncentracija glukoze v plazmi je približno 5% nižja, kot v serumu, verjetno zaradi vpliva antikoagulantov (prehod vode iz eritrocitov v plazmo).

Če je katerikoli od prvih treh kriterijev izpolnjen, je za potrditev diagnoze potrebna ponovitev testiranja, vendar ne istega dne. Ponavljanje testov ni nujno, če ima bolnik nedvoumno hiperglikemijo kombinirano z akutnimi metabolnimi zapleti. Čeprav je OGTT vključen v diagnostični kriterij, ni priporočen v rutinski klinični diagnostiki, razen pri nosečnicah (2).

1.6.2 ODKRIVANJE BOLNIKOV Z SB – PRESEJEVANJE

Priporočeno je presejevanje na SB pri tistih osebah, ki so rizične za razvoj SB:

- Pri starosti več ali enako 45 let: če je koncentracija glukoze v plazmi na tešče manj ali enako 6,1 mmol/L, je testiranje potrebno ponavljati v 3-letnih intervalih; če je koncentracija glukoze v plazmi na tešče 5,8 – 6,9 mmol/L, se priporoča ponovitev testiranja (zaradi velike biološke variabilnosti analita znotraj osebk).
Če je koncentracija glukoze v plazmi na tešče 5,3-5,7 mmol/L, je zaradi velike biološke variabilnosti analita znotraj osebk zaželeno ponavljati testiranje v krajših obdobjih od 3 let. Pogostejše testiranje se priporoča pri koncentracijah na tešče 5,8-6,9 mmol/L, vendar tudi v tem primeru njeno pogostnost ni natančneje opredeljena.
- Pri starosti manj kot 45 let, če so prisotni rizični dejavniki za razvoj SB.
- Pri otrocih več ali enako 10 let, ki so predebeli in imajo še dva rizična dejavnika: družinska obremenitev, rasa/etična skupina, znaki inzulinske rezistence. Testiranje je potrebno ponavljati vsake 2 leti (2).

1.7 ANALIZNE METODE

Koncentracijo glukoze se meri skoraj izključno z encimskimi metodami, ki so dobro standardizirane. Večina laboratorijev uporablja heksokinazno ali glukoza-oksidadno metodo in le majhen delež glukoza-dehidrogenazno (2).

HEKSOKINAZNA METODA:

1. Glukoza + ATP \longrightarrow glukoza-6-fosfat + ADP
2. Glukoza-6-fosfat + NADP⁺ \longrightarrow 6-fosfoglukonat + NADPH + H⁺

Prvo reakcijo katalizira encim heksokinaza, drugo pa glukoza-6-fosfat dehidrogenaza.

Je referenčna metoda. Priporočljiva je meritev slepe vrednosti vzorca, saj tako zmanjšamo vpliv hemoglobina, bilirubina in lipemije. Obvezen je dodatek Mg²⁺ ionov, saj le ta kompleksira ATP. Samo ATP v obliki kompleksa lahko vstopa v reakcije. Reagirata tudi fruktoza in manoz, a zanemarljivo malo (6).

GLUKOZA-OKSIDAZNA METODA:

1. Glukoza + O₂ + H₂O \longrightarrow glukonska kislina + H₂O₂
2. 2H₂O₂ + 4-aminofenazon + fenola \longrightarrow H₂O + 4-(p-benzokinon-monoimino)-fenazon

Prvo reakcijo katalizira glukoza-oksidadaza, drugo pa peroksidaza. Ta reakcija je specifična za β-D-glukozo, po izomerizaciji tudi za α obliko. Askorbinska kislina, bilirubin, hemoglobin, glutation, kreatinin in sečna kislina motijo potek same reakcije, saj dajejo lažno prenizke vrednosti (6).

GLUKOZA-DEHIDROGENAZNA METODA

1. Glukoza + NAD⁺ \longrightarrow glukonolakton + NADH + H⁺

Ta reakcija je zelo specifična, katalizira pa jo encim glukoza-dehidrogenaza (6).

1.7.1 PRENOSNI MERILCI KONCENTRACIJE GLUKOZE ALI GLUKOMETRI

Priporočeni so glukometri, ki merijo glukozo v plazmi. Nekateri glukometri imajo vgrajeno porozno membrano, ki odstrani krvne celice in tako omogočajo merjenje glukoze v polni krvi. Na testnem traku poteče encimska reakcija s heksokinazo ali glukoza-oksidadzo in nastali reakcijski produkt običajno izmerimo z refleksijsko spektrometrijo.

Uporablja jih zdravstveno osebje ali bolniki v naslednjih primerih:

- pri bolniku ob bolnikovi postelji na bolniškem oddelku, za orientacijo v akutnih ali kroničnih stanjih,
- v zdravniških ordinacijah oziroma ambulantah,
- za samokontrolo na bolnikovem domu, na delu, v šoli (2).

1.7.2 SAMOKONTROLA

ADA predpisuje samokontrolo:

- za nadzor glikemije pri vseh bolnikih, ki so na inzulinskem zdravljenju (pri SB tipa 1 vsaj 3-krat dnevno), in pri zdravljenju s sulfanilureo ali drugimi spodbujevalci izločanja inzulina → samokontrola omogoča ustrezno odmerjanje inzulina ali drugih zdravil,
- za preprečevanje in zaznavanje hipoglikemije,
- za preprečevanje resne hiperglikemije,
- za prilagajanje na spremenjen stil življenja,
- za zaznavanje potrebe po uvedbi inzulinskega zdravljenja pri nosečnosti SB.

Bolniki in drugi, ki uporabljajo glukometre, morajo biti seznanjeni s pravilno uporabo letih, izvajati morajo nadzor kakovosti rezultatov in v rednih intervalih primerjati svoje rezultate z rezultati, izmerjenimi v akreditiranem laboratoriju (2).

1.7.3 ORALNI GLUKOZNI TOLERANČNI TEST – OGTT

Priporočila WHO za izvedbo OGTT

WHO priporoča izvedbo OGTT, kadar je koncentracija glukoze v plazmi na tešče v območju 6,1 mmol/L do 7,0 mmol/L:

- preiskovanec je 3 dni na normalni prehrani, pred obremenitvijo je 8-14 ur tešč,
- vzame se kri (čas 0h), nato v 5 minutah spiše 75 g brezvodne glukoze raztopljene v 250-300 mL vode ali čaja,
- če je preiskovanec otrok je doza 1,75 g/kg telesne teže oz. največ 75 g,
- po 2 urah se vzame kri in v obeh vzorcih (0h in 2h) izmeri koncentracijo glukoze (2).

Interpretacija	Koncentracija glukoze v plazmi mmol/L	
	0h	2h
Neustrezna glukoza na tešče	$\geq 6,1$ do $\leq 7,0$	$< 7,8$
Neustrezna toleranca	$< 7,0$	$\geq 7,8$ do $< 11,1$
SB	$\geq 7,0$	$\geq 11,1$

Preglednica III: Vrednosti glukoze na tešče in po OGTT (2).

1.7.4 GLUKOZA V URINU

Semikvantitativno določanje glukoze v urinu se je uporabljalo predvsem za samokontrolo diabetičnih bolnikov na domu. Ker glukoza v urinu ne odseva prave koncentracije glukoze v plazmi, poleg tega pa se v urinu normalno pojavi samo pri visokih koncentracijah v plazmi (≥ 10 mmol/L), ni več priporočena za rutinsko spremljanje bolnikov s SB, ki imajo pri dobrem vodenju koncentracijo glukoze v plazmi običajno < 10 mmol/L.

V primerih, ko bolniki niso sposobni sami kontrolirati glukoze v plazmi, so priporočeni testni trakovi s specifično reakcijo na glukozo (glukozaoksidazni test) v priložnostnem vzorcu urina (2).

1.7.5 KETONI

Določanje ketonov v urinu ali krvi (v bolnišnici, ambulantni ali doma) je pomembna dodatna preiskava tako pri diagnozi, kot sledenju diabetične ketoacidoze. Ketoni (acetoacetat, β -hidroksibutirat in aceton) so katabolni produkti trigliceridov oziroma prostih maščobnih kislin. Prva dva dominirata in sta v ekvimolarnih koncentracijah, medtem ko je acetona zelo malo in je produkt spontane dekarboksilacije acetoacetata. ADA priporoča testiranje ketonov v urinu pri bolnikih s SB, še posebej pri tipu SB 1, pri nosečnosti SB, v akutnih stanjih bolezni, stresu, daljši hiperglikemiji ($> 16,7$ mmol/L) in simptomih diabetične ketoacidoze (2).

1.7.6 GLIKIRANI HEMOGLOBIN

Merjenje odstotka glikiranih proteinov, predvsem glikiranega hemoglobina, predstavlja veliko pridobitev za spremljanje metabolne urejenosti sladkornega bolnika za daljše preteklo časovno obdobje, za načrtovanje prihodnjega terapevtskega režima in za oceno tveganja za razvoj kroničnih zapletov SB. Glikirani proteini nastanejo postranslacijsko s počasno neencimsko kovalentno vezavo glukoze (in presnovkov glikolize) na amino skupino proteinov. Za hemoglobin velja, da je stopnja, oziroma hitrost sinteze GHb funkcija koncentracije glukoze, ki so ji izpostavljeni eritrociti. Študije so pokazale, da koncentracija GHb odraža povprečno glikemijo zadnjih 60-120 dni, medtem ko glikirani plazemski proteini (fruktozamin) odražajo povprečno glikemijo zadnjih 15-30 dni. ADA priporoča merjenje GHb najmanj dvakrat letno pri SB1 in SB2 ali štirikrat letno, če smo spremenili režim zdravljenja (2).

1.7.7 GENETIČNI ONAČEVALCI

Genetični označevalci ali markerji lahko dajejo prognostične informacije in omogočijo genetsko svetovanje. HLA-DR/DQ tipizacija, analiza gena za inzulin in analiza CTLA-4 gena so uporabni označevalci tveganja za razvoj SB1 in za pojasnitev SB nejasne etiologije. Pri SB2, ki je heterogena poligenska bolezen, je genotipizacija zelo kompleksna. Fenotip SB je rezultat interakcije genetskih dejavnikov z dejavniki okolja in z molekularno genetiko lahko pojasnimo le malo primerov (2).

1.7.8 AVTOIMUNSKI OZNAČEVALCI

Pri SB1, ki je avtoimunska povzročena bolezen, so prisotna različna avtoprotitelesa; proti citoplazmi celic β , proti inzulinu, proti GAD65 in proti dvema tirozin-fosfatazama. Tudi 10-15 % odraslih bolnikov s SB2 ima avtoprotitelesa proti celicam β , predvsem proti

GAD65, kar napoveduje inzulinsko odvisnost. Vendar za rutinsko obravnavo bolnikov s SB1, ali za testiranje sorodnikov bolnikov, ali za presejevanje populacije, dokazovanje avtoprotiteles ni priporočeno. Priporočeno pa je za presejevanje sorodnikov bolnika s SB1, ki želijo darovati del pankreasa za transplantacijo bolniku v končni fazi bolezni (2).

1.7.9 MIKROALBUMINURIJA

Merjenje mikroalbuminurije je test za zgodnje odkrivanje diabetične nefropatije. Ker je sladkorna bolezen vodilni vzrok končne ledvične odpovedi. ADA priporoča periodično (enkrat letno) merjenje koncentracije albumina v urinu pri vseh bolnikih s SB brez proteinurije (2). Z izrazom mikroalbuminurija označujemo rahlo povišano koncentracijo albumina v urinu (nad 20 mg/L), ki je zgodnji pokazatelj blažje okvare glomerulov ledvic (7). Za odkrivanje mikroalbuminurije uporabljamo zelo občutljive teste, semikvantitativne in kvantitativne (testne trakove), ki zaznajo koncentracije v območju 20-50 mg/L in v primeru pozitivnega testa mora biti testiranje ponovljeno s kvantitativnimi metodami (2).

1.8 ZDRAVLJENJE SLADKORNE BOLEZNI

Sladkorna bolezen se zdravi s pravilno prehrano, s hujšanjem in telesno dejavnostjo. Ko ti ukrepi niso zadostni, se zdravnik odloči za zdravljenje z zdravili. Poskušamo vplivati na osnovne bolezenske procese, ki so pripeljali do zvišane koncentracije glukoze v krvi (hiperglikemije). Zdravljenje poteka z enim zdravilom ali smiselno kombinacijo zdravil, ki izboljšajo porabo glukoze na periferiji -v glavnem v mišičju in maščevju- (bigvanidi, tiazolidindioni), pospešijo izločanje inzulina (sulfonilsečnine, glitinidi), zavirajo razgradnjo di-, oligo- in polisaharidov in s tem zmanjšajo prehod glukoze iz črevesja v kri (zaviralci alfa glukozidaz v črevesju npr. akarboza). V primeru nezadovoljive učinkovitosti zdravljenja s tabletami nadomeščamo inzulin (4).

1.9 ADIPONEKTIN

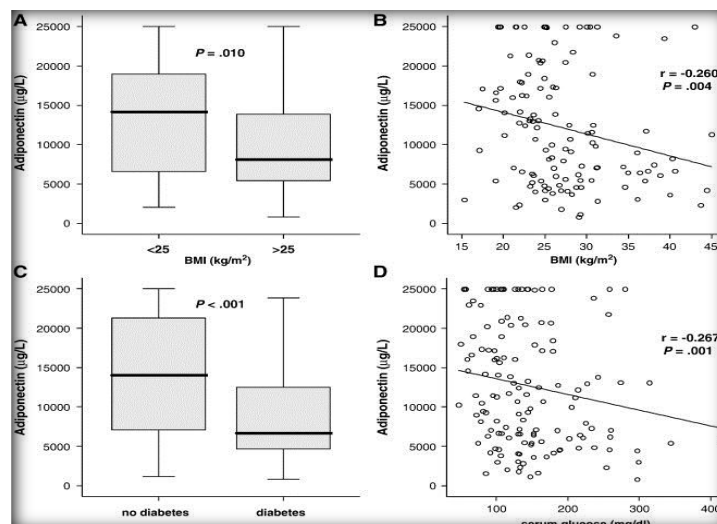
Adiponektin je adipokin, ki se izloča iz maščobnega tkiva (tudi iz placente v nosečnosti) v krvni obtok in igra pomembno vlogo pri inzulinski rezistenci. Je 244 aminokislin dolg polipeptid. Sestavljajo ga štiri različne domene. Prva domena je signal, ki je pomembna za izločanje hormona izven celice, sledi kratka regija, ki razlikuje med vrstami, tretja 65 aminokislin dolga domena je podobna beljakovini kolagena, zadnja pa je globularna domena (8).

Molekule adiponektina se samozdružujejo v večje strukture. Globularna oblika adiponektina obstaja kot trimer, medtem ko obstajajo še vsaj tri vrste multimerov:

- LMW trimer
- MMW heksamer
- HMW multimer

Predstavlja približno 0,01% vseh beljakovin v plazmi. Raven hormona je v obratno sorazmerna s količino telesne maščobe pri odraslih, medtem, ko je pri dojenčkih in manjših otrocih ta povezava manj izražena. Znižana raven adiponektina (hipoadiponektemija) je neodvisni dejavnik tveganja za razvoj metaboličnega sindroma in inzulinske rezistence. Plazemski nivo adiponektina je znižan pri debelejših ljudeh, predvsem pri tistih z trebušno debelostjo, in je v obratnem sorazmerju z inzulinsko občutljivostjo. Dolgotrajne študije so pokazale, da znižani plazemski nivoji adiponektina so v povezavi z razvojem diabetesa, predvsem z razvojem diabetesa tipa 2. Prav tako so odkrili spolni dimorfizem pri nivojih adiponektina v krvnem obtoku. Ugotovili so, da imajo ženske višje nivoje adiponektina v krvnem obtoku, kot pa moški, kar nakazuje, da imajo tudi spolni hormoni nekakšen vpliv na plazemski nivo adiponektina (8).

Hipoadiponektemija ali znižana raven adiponektina je dokazano neodvisno povezana tudi z razvojem presnovnega sindroma, dejansko bolj kot katerikoli drugi protivnetni marker. Opazili so tudi, da so znižane ravni adiponektina pogosto povezane ne samo z razvojem odpornosti proti inzulinu, temveč tudi z razvojem bolezni srca in ožilja, ter hipertenzije. Spodnja slika nam prikazuje eno študijo, ki nekako potrjuje naše hipoteze o adiponektinu. Slika spodaj nam prikazuje korelacijo med BMI in koncentracijo adiponektina, ter med koncentracijo adiponektina in koncentracijo glukoze. Serumski nivoji hormona adiponektina so signifikantno višji pri pacientih z BMI manj kot 25 kg/m^2 , kot pri debelejših bolnikih ($P=0,010$, Mann-Whitney U test). Slika B nam prikazuje, da serumske koncentracije adiponektina obratno sorazmerno korelirajo z BMI ($r= -0,260$, $P= 0,004$, Spearmanov korelacijski test). Slika C prikazuje, da so serumske koncentracije adiponektina signifikantno večje pri pacientih brez diabetesa, kot pri pacientih z diabetesom ($P<0,001$, Mann-Whitney U test). Na zadnji sliki D pa lahko vidimo kako koncentracije adiponektina obratno sorazmerno korelirajo z nivojem glukoze ($r= -0,267$, $P=0,001$) (8).



Slika 1: Diagrama na levi strani prikazujeta znižan adiponektin pri diabetesu in pri bolnikih z BMI 25 ali več. Grafa na desni strani pa prikazujeta signifikantno negativno korelacijo med adiponektinom in glukozo, ter med adiponektinom in BMI (8).

1.9.1 ADIPONEKTIN IN RECEPTORJI

Adiponektin se veže na številne receptorje. Najbolj raziskana sta receptorja AdipoR1 in AdipoR2. Receptor AdipoR1 se nahaja pretežno v skeletnih mišicah, medtem ko se receptor AdipoR2 nahaja pretežno v jetrih (8).

Receptorja AdipoR1 in AdipoR2 naj bi vsebovala 7 transmembranskih domen. Receptor AdipoR2 kaže kar 66,7% podobnosti v aminokislinskem zaporedju z receptorjem AdipoR1 (8).

S supresijo receptorja AdipoR1 zmanjšamo vezavo globularne oblike adiponektina, medtem ko s supresijo receptorja AdipoR2 zmanjšamo vezavo multimerov tega proteina na receptor. Globularna oblika adiponektina ima relativno nizko afiniteto do receptorjev AdipoR2. Z aktivacijo teh dveh receptorjev pride do aktivacije signalnih molekul kot so: PPAR α , AMPK in p38 MAPK. Preko teh signalnih molekul se aktivira privzem glukoze v mišicah, oksidacija maščobnih kislin v jetrih in mišicah, ter se zmanjša glukoneogeneza v jetrih. Zaviranje izražanja AMPK in PPAR α zmanjša z adiponektinom stimulirano oksidacijo maščobnih kislin. Če pa zaviramo izražanje AMPK ali p38 MAPK zmanjšamo z adiponektinom stimuliran privzem glukoze (9).

Znižanje koncentracije adiponektina je lahko posledica interakcije genetskih dejavnikov in dejavnikov okolja (tj. način življenja, ki povzroča debelost, prehrana z visoko vsebnostjo maščob in sedeč način življenja). Ravno to zmanjšanje ravni adiponektina pa se zdi, da igra

pomembno vlogo pri razvoju odpornosti na inzulin, diabetesa tipa 2 in metaboličnega sindroma, s tem pa posredno povzročata aterosklerozo (8).

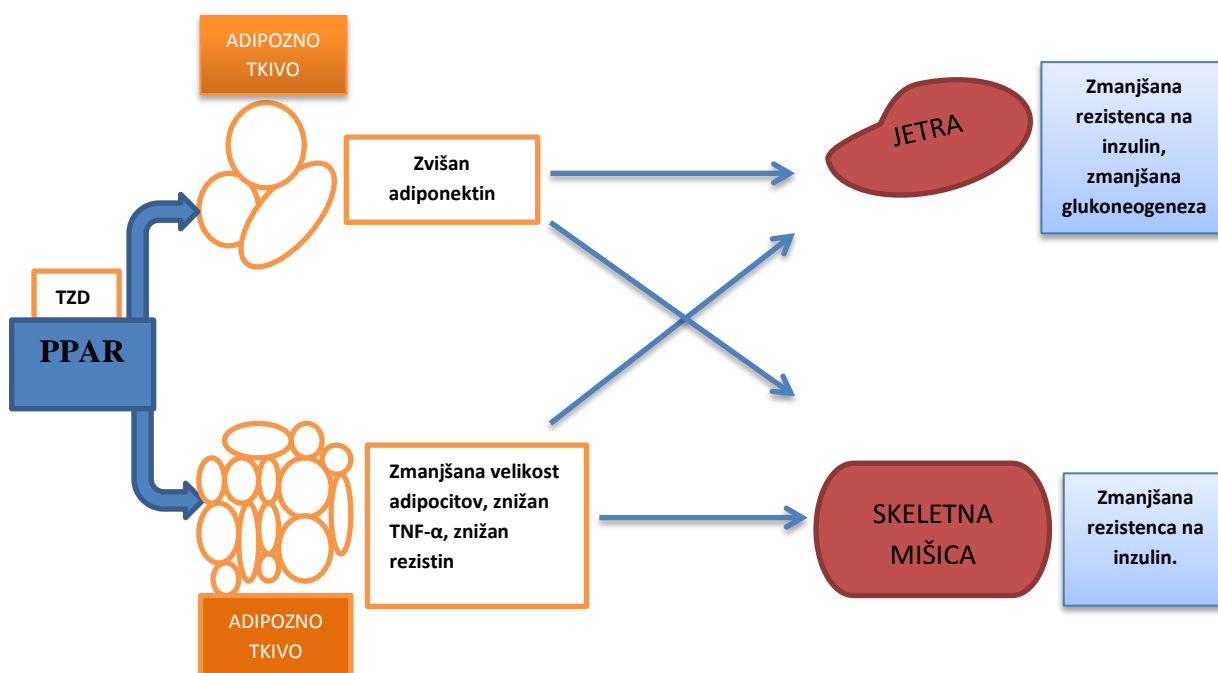
1.9.2 HMW ADIPONEKTIN IN INZULINSKA REZISTENCA

Vse več študij podpira hipotezo, da je HMW adiponektin bolj aktivna oblika beljakovine in ima pomembnejšo vlogo pri občutljivosti na inzulin, ter posledično zaščito pred razvojem sladkorne bolezni. Bile so odkrite redke mutacije (G84R in G90S) v domeni kolagena, ki so tesno povezane s sladkorno boleznijo tipa 2. Ugotovljeno je bilo, da osebe, ki imajo vsaj eno od teh dveh mutacij imajo izjemno nizek nivo HMW adiponektina. Prav tako nam na to namiguje povečanje plazemskega razmerja HMW adiponektin/adiponektin, ki je pri zdravljenju diabetesa s TZD v boljši korelaciji z samim povečanjem občutljivosti na inzulin, medtem ko, povečanje ravni celotnega plazemskega adiponektina ne kaže dobre korelacije z izboljšanjem občutljivosti za inzulin med zdravljenjem s TZD na individualni ravni. Kaže, da so lahko spremembe v plazemski ravni adiponektin HMW bolj pomembne za napovedovanje inzulinske rezistence, kot so skupne spremembe nivoja adiponektina v plazmi. Prav tako so tudi z uporaba sistema ELISA za selektivno merjenje HMW adiponektina ugotovili, da ima razmerje HMW adiponektin/adiponektin, bistveno boljše moči za napovedovanje inzulinske rezistence in metabolični sindrom pri ljudeh. Tako je lahko raven HMW adiponektin boljši biomarker za odpornost proti inzulinu, za razvoj presnovnega sindroma in diabetesa tipa 2 (8).

1.9.3 ADIPONEKTIN IN ADIPONEKTINSKI RECEPTORJI, KOT TERAPEVTSKE TARČE

Po naših hipotezah, so terapevtske strategije za zdravljenje inzulinske rezistence, diabetesa tipa 2, metaboličnega sindroma in bolezni srca ter ožilja, lahko povečanje nivoja adiponektina v plazmi, povečanje aktivnosti/števila adiponektinskih receptorjev. TZD (tiazolidindioni) so PPAR γ agonisti in tako povečajo plazemski nivo adiponektina. Znano je, da izboljšajo sistemsko občutljivost za inzulin, z debelostjo povezano inzulinsko rezistenco in diabetes. To storijo s povečanjem privzema glukoze v skeletne mišice in zaviranjem glukoneogeneze v jetrih. TZD so se pogosto uporabljali kot terapevtska sredstva za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2. TZD so izboljšali odpornost na inzulin, saj se vežejo na in aktivirajo PPAR γ v maščobnem tkivu, s čimer spodbujajo diferenciacijo adipocitov, ki so bolj občutljivi na inzulin. TZD torej povzročijo povečanje plazemske ravni adiponektina, predvsem pa oblike HMW (8).

TZD naj bi izboljšali občutljivost na inzulin po dveh različni poteh, po odvisni in neodvisni poti. Po eni poti pride do povečanja ravni adiponektina, kar povzroči aktivacijo signalnih molekul AMPK in pride do zmanjšanja glukoneogeneze v jetrih. Druga pot, neodvisna od adiponektina, pa poteka preko s TZD povzročenim zmanjšanjem velikosti adipocitov, zmanjšanjem serumske koncentracije maščobnih kislin, ter zmanjšanjem izražanja TNF- α in rezistina, kar pripomore k izboljšanju inzulinske rezistence v skeletnih mišicah (8).



Slika 2: Vezava tiazolidindionov na PPAR- γ receptorje v adipoznem tkivu (8).

2 NAMEN DELA

V okviru laboratorijske diagnostike bolnikov s sladkorno boleznijo določamo koncentracije glukoze in glikiranega hemoglobina, redkeje fruktozamina.

V okviru diplomske naloge bomo ovrednotili pomen adiponektina pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II. Zanimalo nas bo v kakšnem medsebojnem odnosu je ta parameter z drugimi parametri, ki smo jih prav tako določili v serumu bolnikov. Ugotavljali bomo, kako nam nivo adiponektina v serumu služi kot pomoč pri opredelitvi stopnje okvare ledvic.

V ta namen bomo izbrali skupino bolnikov s potrjeno diagnozo diabetesa tipa II, ki so že na terapiji z inzulinom in antihipertenzivnimi zdravili (manidipin, delapril) in, ki že imajo zmanjšano ledvično funkcijo. Pridobljene podatke bomo nato primerjali s kontrolno skupino.

Če bomo ugotovili pomembnost adiponektina pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II, bi nam le ta lahko služil kot dodatna pomoč pri diagnostiki in napredovanju diabetesa.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 INSTRUMENTI ,OPREMA IN METODE DOLOČANJA

Vrednosti koncentracije glukoze, celokupnega holesterola, LDL-holesterola, HDL-holesterola, kreatinina in HbA1c smo pridobili na analizatorju Advia 1800.

Biokemični analizator Advia 1800 je v laboratoriju namenjen za določanje, elektrolitov, encimov in metabolitov v serumu, plazmi, urinu ali likvorju, z namenom pridobiti podatke za postavitev diagnoze, zdravljenje in preprečevanje bolezni pri bolnikih ali zdravih posameznikih. Analizator opravlja analize iz vzorcev, ki jih pipetira iz avtomatiziranega laboratorijskega sistema ali pa iz svojega krožnika za vzorce. Analizator je priključen na informacijski vmesnik, s katerim izmenjuje podatke v zvezi z naročilom analiz in nato s pošiljanjem rezultatov. Analizator opravlja meritve elektrolitov z metodo indirektna potenciometrije in meri po spektrofotometričnem principu vse ostale teste (9).

V spektrofotometričnem delu lahko določamo več vrst kolorimetričnih testov: z detekcijo končne točke absorbance, kinetičnih kolorimetričnih testov ali dvotočkovne kinetične reakcije. Igla, ki pipetira vzorec iz krožnika za vzorce v dilucijski krožnik ima senzorje, ki zaznajo premajhen volumen vzorca, strdek v vzorcu ali trdo površino (npr. zamašek na epurveti). V dilucijskem krožniku se vzorec razredči s fiziološko raztopino. Reakcijski krožnik z 221 merilnimi kivetami je osrednji del analizatorja in je termostatiran v posebni oljni kopeli na 37°C, kjer potekajo fotometrične meritve. V eno merilno kiveto se odmeri najprej reagent 1 iz reagentnega krožnika 1. Krožnik se obrne za pol obrata in v merilno kiveto igla doda razredčen vzorec. Merilna kiveta se premakne pod mešalec, ki reakcijsko zmes premeša. Spektrofotometer pa nato glede na vrsto testa odčitava absorbance vsakih 6 sekund v odvisnosti od vrste testa pri eni od 14 različnih valovnih dolžin od 340 nm do 884 nm. Izvor svetlobe je 12 V halogenska žarnica. V primeru, da je v merilno kiveto potrebno po določenem času inkubacije dodati še reagent iz reagent krožnika 2, se reakcijski krožnik premakne na mesto za dodajanja reagenta 2. Nova reakcijska zmes pa se znova premeša. Po končanih vseh odčitkih absorbance se kiveta spere z vodo, kontrolira se njena slepa vrednost in kiveta je pripravljena za nov test. Analizator ima možnost avtomatične ponovitve analize v primeru izmerjenih koncentracij izven linearnega območja analizatorja, prav tako pa ima tudi možnost meritve serumskih indeksov (hemoliza, lipemičnost, ikteričnost) (9,10).

3.1.1 DOLOČANJE GLUKOZE

Določanje koncentracije glukoze temelji na encimski metodi. Glukoza se fosforilizira v prisotnosti adenozin trifosfata (ATP) in heksokinaze v glukozo 6-fosfat. Glukoza 6-fosfat v prisotnosti glukoze 6-fosfat dehidrogenaze, reducira NAD v NADH. Absorbanco merimo pri 340/410 nm (11).

Interference: Ikterični vzorci ($> 428 \mu\text{mol/L}$), hemoliza ($> 5,0 \text{ g/L}$), lipemija ($> 5,7 \text{ mmol/L}$) (11).

Vzorec: serum, plazma (Li - heparin) (11).

Stabilnost vzorca: do 24 ur pri $18 - 28^\circ \text{C}$, 7 dni pri $2 - 8^\circ \text{C}$ in do 1 leta pri -18°C (10).

PODAJANJE REZULTATOV

Linearno območje: *Advia 1800* : $0 - 38,9 \text{ mmol/L}$ (11).

Orientacijske referentne vrednosti za odrasle:

serum, plazma: $3,6 - 6,1 \text{ mmol/L}$, likvor (CSF): $2,5 - 3,9 \text{ mmol/L}$ (11).

3.1.2 DOLOČANJE HOLESTEROLA

Določanje koncentracije holesterola temelji na encimski metodi. Pod vplivom holesterolne esteraze, holesterolni estri hidrolizirajo do prostega holesterola in prostih maščobnih kislin. Sledi oksidacija holesterola do holest-4-en-3-ona z encimom holesterol oksidazo. Nastane vodikov peroksid, ki reagira pod vplivom peroksidaze z 4-aminoantipirinom in fenolom, da nastane obarvan kompleks. Absorbanco končnega produkta reakcije merimo pri valovni dolžini 505/694 nm (12).

Interference: Ikterični vzorci ($> 513 \mu\text{mol/L}$), hemoliza ($> 5,25 \text{ g/L}$), lipemija ($> 0,73 \text{ mmol/L}$), citrat, oksalat, fluorid (12).

Vzorec: serum, plazma (litijev heparin) (12).

Stabilnost vzorca: 5 do 7 dni pri $2 - 8^\circ \text{C}$, 3 mesece pri -15 do -25°C (12).

PODAJANJE REZULTATOV

Linearno območje: $0 - 17,48 \text{ mmol/L}$.

Orientacijske referentne vrednosti za odrasle: serum: $4,0 - 5,2 \text{ mmol/L}$ (12).

3.1.3 DOLOČANJE HDL-HOLESTEROLA

Tako kot pri LDL-holesterolu se tudi tukaj najprej z holesterol esterazo in holesterol oksidazo eliminirajo hilomikroni, VLDL-holesterol in LDL-holesterol. Vodikov peroksid, ki nastane z oksidacijo se odstrani z katalazo (13).

Po končani prvi reakciji se katalaza inhibira z natrijevim azidom (13).

Druga reakcija je specifična za HDL –holesterol. Pod vplivom holesterolne esteraze se holesterolni estri hidrolizirajo do prostega holesterola in prostih maščobnih kislin. Sledi oksidacija holesterola do holestenona z encimom holesterol oksidazo. Nastane vodikov peroksid, ki reagira pod vplivom peroksidaze z 4-aminoantipirinom in fenolom, da nastane kinonimin. Absorbanco končnega produkta reakcije merimo pri valovni dolžini 596 nm (13).

Interference: Ikterični vzorci (Bu > 513 $\mu\text{mol/L}$), hemoliza (> 5,0 g/L), lipemija (> 11,3 mmol/L) (13).

Vzorec: Serum, plazma (litijev heparin, 2Na EDTA) (13).

Stabilnost vzorca: 7 dni pri 2 – 8° C in 30 dni pri -70° C (13).

PODAJANJE REZULTATOV

Linearno območje: 0,1 – 3,0 mmol/L (13).

Orientacijske referentne vrednosti za odrasle: serum: 1,4 – 2,8 mmol/L (13).

3.1.4 DOLOČANJE LDL-HOLESTEROLA

Najprej se z holesterol esterazo in holesterol oksidazo eliminirajo hilomikroni, VLDL-holesterol in HDL-holesterol. Vodikov peroksid, ki nastane z oksidacijo se odstrani z katalazo. Po končani prvi reakciji se katalaza inhibira z natrijevim azidom (14).

Druga reakcija je specifična za LDL–holesterol. Pod vplivom holesterolne esteraze se holesterolni estri hidrolizirajo do prostega holesterola in do prostih maščobnih kislin. Sledi oksidacija holesterola do holestenona z encimom holesterol oksidazo. Nastane vodikov peroksid, ki reagira pod vplivom peroksidaze z 4-aminoantipirinom in TOOS, da nastane kinonimin. Absorbanco končnega produkta reakcije merimo pri valovni dolžini 596 nm (14).

Interference: Ikterični vzorci (> 342 $\mu\text{mol/L}$), hemoliza (> (8,1 g/L), lipemija (11,4%) interferenca pri 4,9 mmol/L), askorbat (> 50 mg/dL) (14).

Vzorec: serum, plazma (litijev heparin) (14).

Stabilnost vzorca: 7 dni pri 2 – 8° C in 30 dni pri -70° C (14).

PODAJANJE REZULTATOV

Linearno območje: 0,0 do 25,9 mmol/L (14).

Orientacijske referentne vrednosti za odrasle: serum: 2,0 – 3,5 mmol/L (14).

3.1.5 DOLOČANJE KREATININA

Princip metode-Jaffejeva reakcija

Kreatinin reagira s pikrinsko kislino v alkalnem mediju, nastali rdeče obarvan kompleks merimo pri 505/571 nm. Ta reakcija ni specifična, ker lahko pikrinska kislina reagira še z drugimi substancami seruma. Ta Jaffejeva metoda je modificirana tako, da se s korekcijo slepe (vpliv bilirubina) temu vplivu izognemo (15).

Interference: Ikterični vzorci ($> 513 \mu\text{mol/L}$), hemoliza ($> 10 \text{ g/L}$), lipemija ($> 11,3 \text{ mmol/L}$) (15).

Vzorec: serum, plazma (litijev heparin) (15).

Stabilnost vzorca: 7 dni pri $2 - 8^\circ \text{C}$, nedorečeno pri -20°C (15).

PODAJANJE REZULTATOV

Linearno območje: Advia 1800: 8,84 do 2210 $\mu\text{mol/L}$ (15).

Orientacijske referentne vrednosti za odrasle: serum: 44 – 97 $\mu\text{mol/L}$ (15).

3.1.6 DOLOČANJE HbA1c

Z uporabo avtomatiziranega sistema Dimension® Xpand smo določili relativni odstotek HbA1c v vzorcih polne krvi z inhibicijsko imunoturbidimetrično metodo (TINIA). Princip metode je ta, da molekule HbA1c v vzorcu reagirajo s specifičnimi monoklonalnimi HbA1c protitelesi v prvem reagentu. Na specifične epitope-HbA1c molekul HbA1c se vežejo protitelesa, in tvori se topen imunski kompleks. Polihapteni, dekstranski nosilci, v drugem reagentu, imajo številna vezavna mesta za protitelesa. Vezava protiteles na polihaptenske produkte povzroči agregacijo, ki jo merimo kot povečano motnost pri 340 nm. Rezultati so izraženi v odstotkih HbA_{1c}, na eno decimalno enoto, glede na celokupni hemoglobin. Mejne vrednosti so 4.4 – 6.4% (10,16).

3.1.7 DOLOČANJE ALBUMINA V 24-URNEM VZORCU URINA

Albumin iz 24-urnega vzorca urina so določili z imunokemično reakcijo s pomočjo Simens Nephelometer Analyzer ProSpec. Specifična protitelesa iz reagenta se vežejo z antigeni (albuminom) iz vzorca, nastanejo imunski kompleksi, ki sipajo svetlobo. Intenziteta sipane svetlobe je odvisna od koncentracije albumina v vzorcu, ki jo aparat poda na osnovi izračuna iz umeritvene krivulje (17).

3.1.8 DOLOČANJE ADIPONEKTINA

Kvantitativno določevanje adiponektina v serumu pa smo opravili s pomočjo encimsko-immunskega testa (ELISA). V vdolbinice, kjer so imobilizirana protitelesa proti adiponektinu, odpipetiramo standarde in vzorec (serum). Adiponektin se veže na imobilizirana protitelesa. Nato speremo in zopet dodamo protitelesa proti človeškemu

adiponektinu. Nevezana protitelesa speremo in dodamo barvilo streptavidin. Nato zopet speremo barvilo in dodamo raztopino TMB substrata. Po dodatku TMB substrata pride do obarvanja. Koncentracija adiponektina je sorazmerna intenziteti obarvanja. Nato dodamo žveplovo kislino, ki spremeni barvanje iz modre v rumeno. Intenziteto barvanja izmerimo pri valovni dolžini 450 nm (18).

- **Reagenti za določanje koncentracije adiponektina**

1. Mikroploščica: 96 vdolbinic, prevlečenih s človeškimi protitelesi proti Adiponektinu.
2. Pufer za spiranje: 25 ml 20 × koncentrirane raztopine.
3. Standardi: 2 viali rekombinantnega človeškega Adiponektina.
4. Raztopina A: 2 steklenički, ki vsebujeta 30 ml razredčenega pufera in 0,09% natrijev azid kot konzervans.
5. Raztopina C: 2 steklenički, ki vsebujeta 15 ml razredčenega pufera.
6. Raztopina B: 15 ml 5× koncentriranega pufera. Za detekcijo protiteles in reagenta HRP-Streptavidin.
7. Detekcija protiteles proti Adiponektinu (raztopina F): 2 viali biotiniziranih protiteles proti človeškemu Adiponektinu.
8. Koncentrat HRP-Streptavidina: 200 µl 80× koncentriranega HRP-konjugiranega streptavidina.
9. Reagent TMB: 12 ml 3,3', 5,5'-TMB v raztopini pufera.
10. "Stop" raztopina: 8 ml 0,2 M žveplove kisline (18).

- **Postopek določanja adiponektina**

1. Priprava vseh reagentov, vzorcev in standardov .
2. Dodatek 100 µL standarda ali vzorca v vsako vdolbinico na mikro ploščici.
Inkubacija pri sobni temperature 2,5 h ali čez noč pri 4°C.
3. Dodatek 100 µL pripravljenega biotiniziranega protitelesa v vsako vdolbinico.
Inkubacija 1 h pri sobni temperaturi.
4. Dodatek 100 µL pripravljene raztopine streptavidina.
Inkubacija 45 minut pri sobni temperaturi.
5. Dodatek 100 µL TMB reagent v vsako vdolbinico.
Inkubacija pri sobni temperaturi 30 minut.
6. Dodatek 50 µL raztopine "Stop".
Meritev intenzitete jakosti svetlobe pri 450 nm (18).

4 EKSPERIMENTALNI DEL

Pridobljene podatke smo obdelali s pomočjo statističnih programov SPSS verzija 20.0 in Microsoft Excel. Podatke smo statistično ovrednotili s pomočjo grafov in izračunali vrednosti statističnih parametrov. Nato smo preverili normalnost porazdelitve posameznih spremenljivk s pomočjo Kolmogorov-Smirnovega testa.

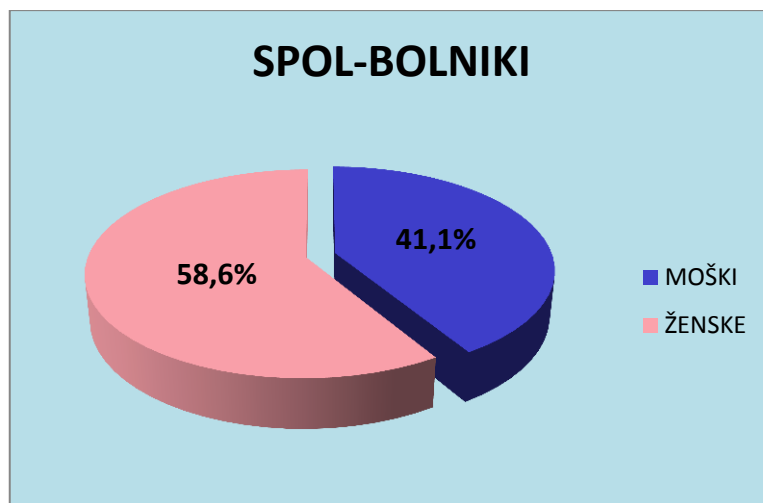
V nadaljevanju smo za spremenljivke, ki se ne porazdeljujejo statistično značilno normalno uporabili neparametrični Mann-Whitney U test, za spremenljivke, ki pa se porazdeljujejo statistično značilno normalno pa parametrični T-test dveh neodvisnih vzorcev. S tema dvema testoma smo preverili ali obstaja med skupino moških in žensk statistično značilna razlika (19,20).

Za ugotavljanje medsebojne povezave in smeri ujemanja med serumskimi koncentracijami adiponektina in ostalimi parametri (glukoza, glikiran hemoglobin, kreatinin, celokupni holesterol, HDL-holesterol, LDL-holesterol, albumin) smo uporabili Spearmanov koeficient korelacije, ki prikazuje stopnjo povezanosti med dvema spremenljivkama, ki se ne porazdelujeta statistično značilno normalno. Na osnovi vrednosti koeficienta, ki se lahko giblje od -1 pa do +1, lahko ocenimo, kolikšna je moč povezave (19,20).

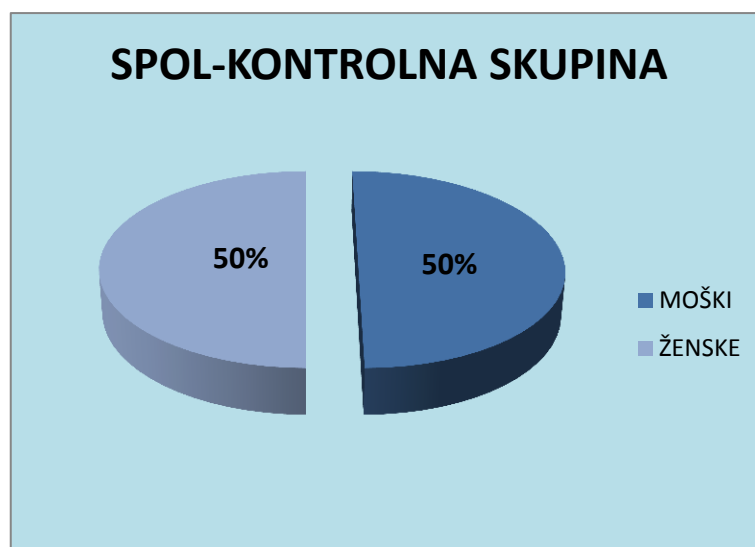
4.1 REZULTATI

OPIS SKUPIN

V analizo je bilo vključenih 58 bolnikov s sladkorno boleznijo tipa II in arterijsko hipertenzijo, ki so že na terapiji z inzulinom, ter z zdravili za zniževanje krvnega tlaka, manidipinom in delaprilom. Od tega je bilo 24 (41,4%) preiskovancev moškega spola in 34 (58,6%) ženskega spola. Kontrolna skupina, za katero smo pridobili le vrednosti za adiponektin in ne ostale parametre, je obsegala 26 zdravih prostovoljcev, katerih 50 % je zavzemala ženska populacija in prav toliko tudi moška populacija. Kontrolna skupina nam služi le za primerjavo rezultatov vrednosti adiponektina. Podatkov glede ostalih parametrov kontrolne skupine nimamo, saj smo pridobili samo vzorce, ki so bili zamrznjeni.

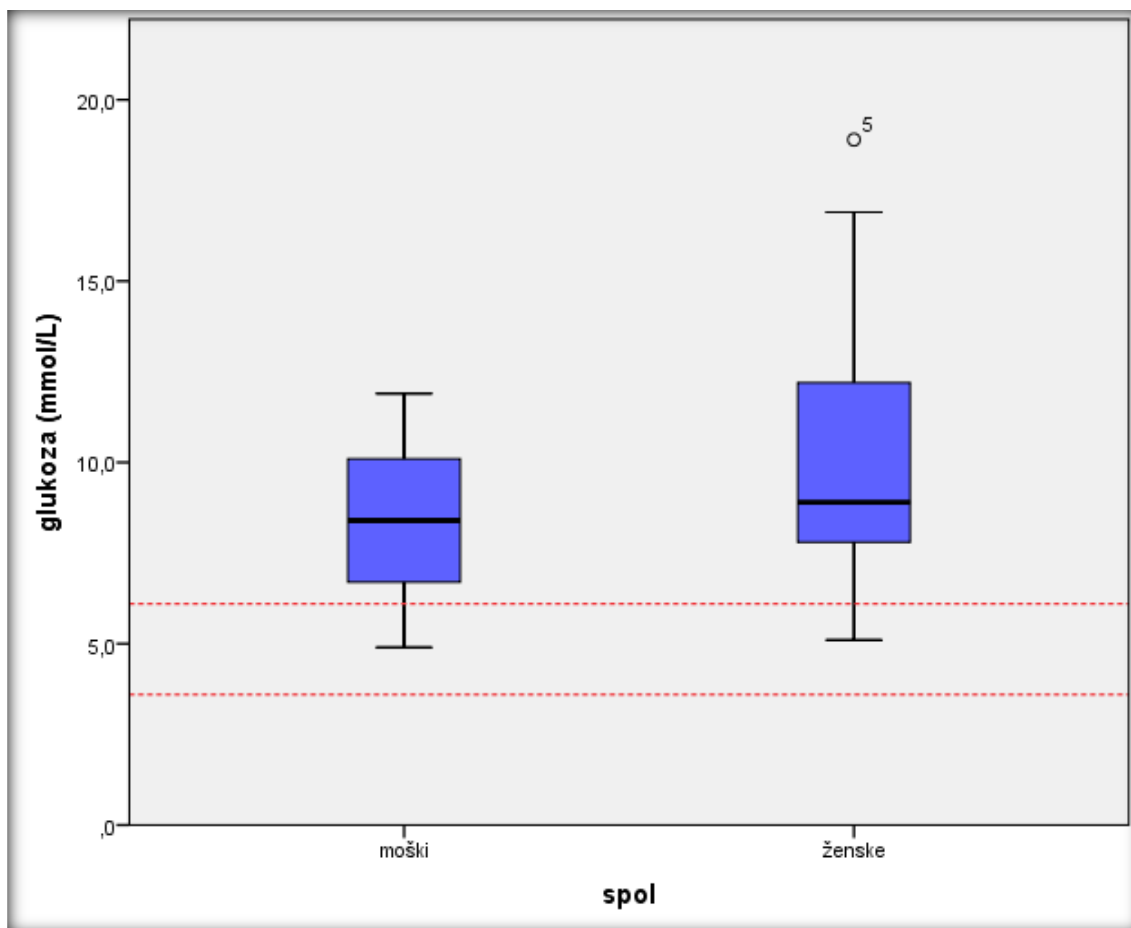


Graf 1: Porazdelitev bolnikov po spolu.



Graf 2: Porazdelitev kontrolne skupine po spolu.

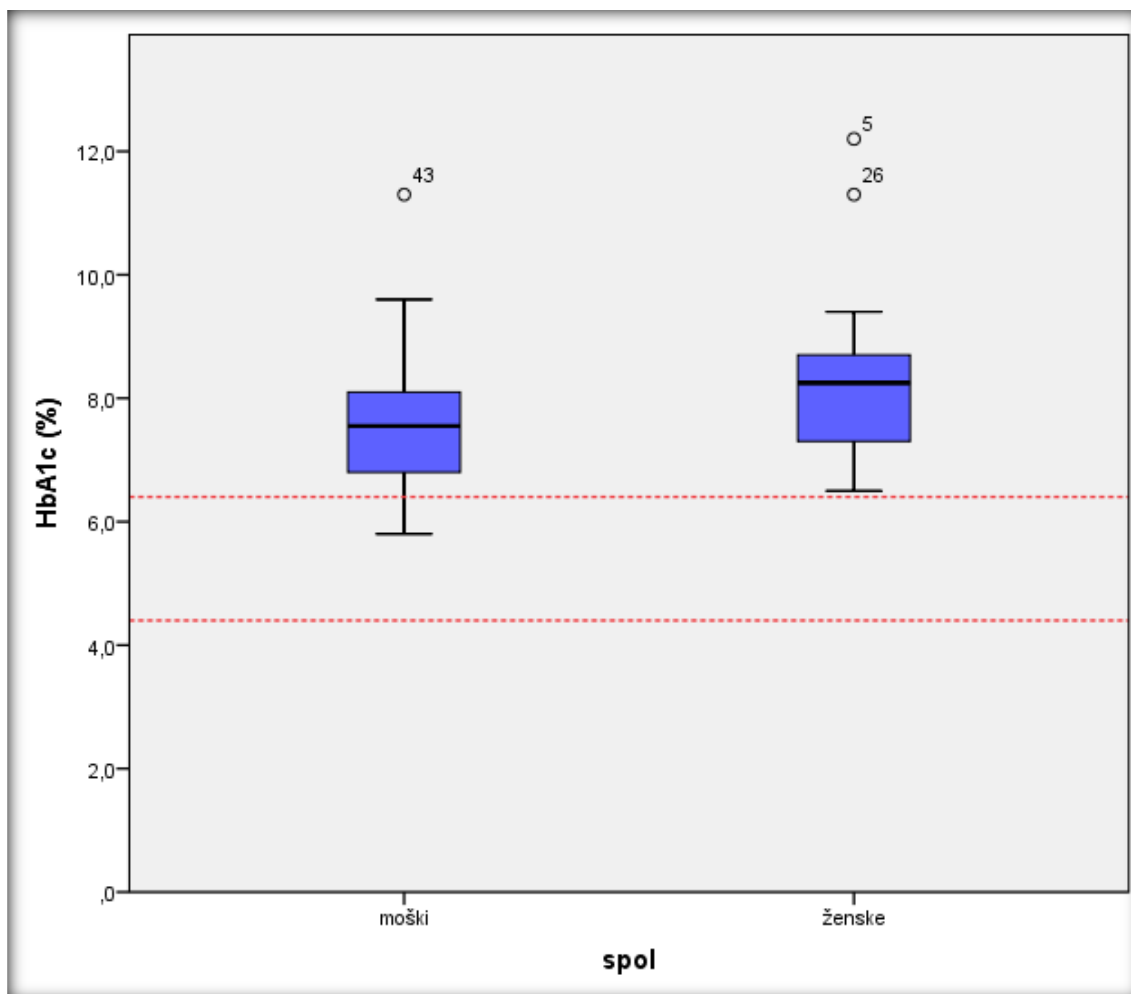
Analize so opravili na Kliničnem inštitutu za klinično kemijo in biokemijo. Vsem preiskovancem so v serumu izmerili koncentracijo glukoze, glikiranega hemoglobina, kreatinina, celokupnega holesterola, HDL-holesterola, LDL-holesterola, adiponektina in koncentracijo albumina v 24-urnem vzorcu urina. Spodnji grafi nam prikazujejo porazdelitev podatkov ločeno po spolu. Ker so podatki precej nesimetrično porazdeljeni, smo kot merilo srednjih vrednosti izbrali mediano. Mediana je tista vrednost spremenljivke, od katere ima polovica enot manjše, polovica pa večje vrednosti spremenljivke. Kot mero razpršenosti pa smo izbrali kvantilne razmike-kvartile. Interval do vrednosti prvega kvartila obsega 25% vseh podatkov z najnižjimi vrednostmi. Medkvartilni razmik je območje med prvim in tretjim kvartilom (19).



Graf 3: Kvartilni diagram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti glukoze ločeno po spolu.

Glukoza (mmol/L)	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	8,38	9,89
Mediana	8,4	8,90
Standardna deviacija	1,93	3,21
Minimum	4,9	5,1
Maksimum	11,9	18,9
Območje	7,0	13,8
Medkvartilno območje	3,6	4,6

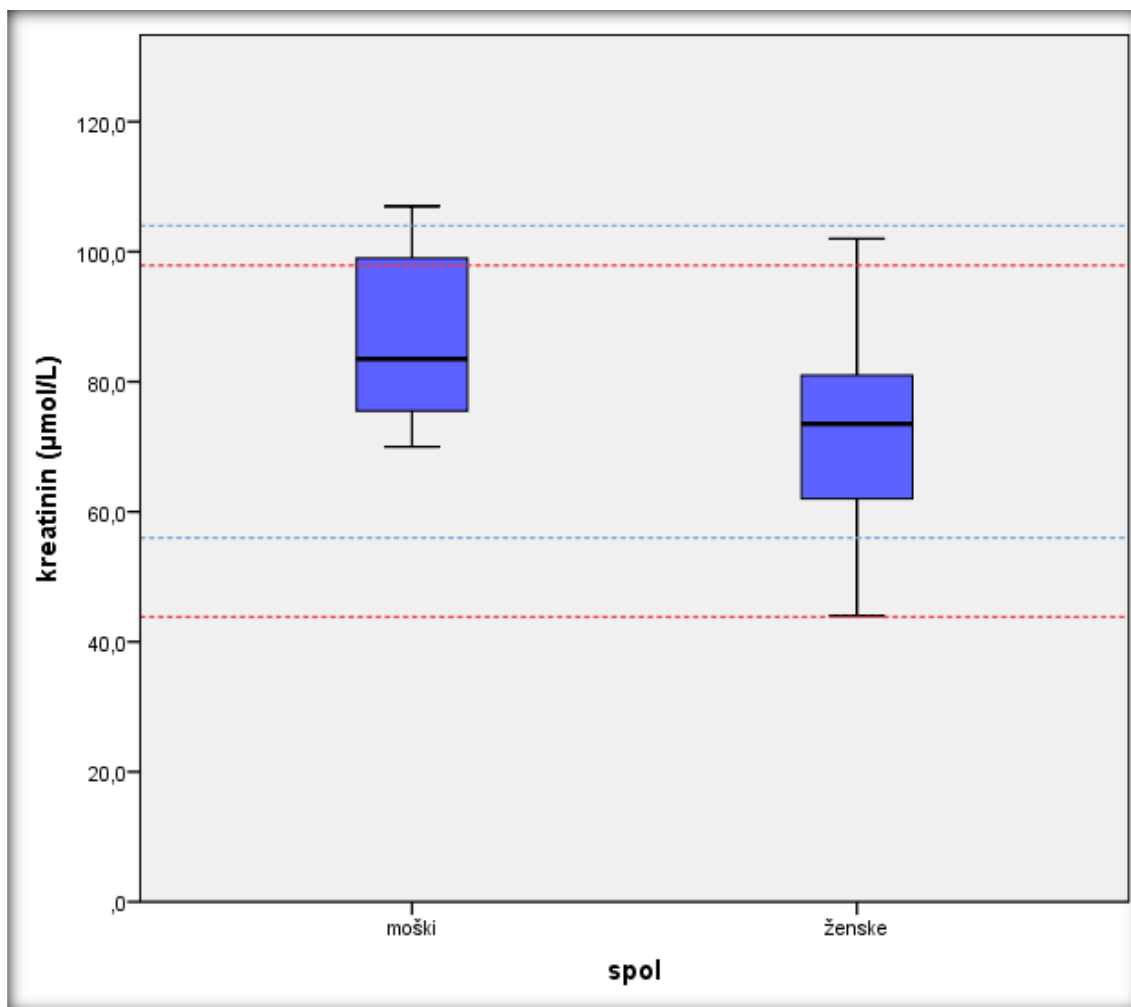
Preglednica IV: Prikaz parametrov glukoze.



Graf 4: Kvartilni diagram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti HbA1c ločeno po spolu.

HbA1c (%)	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	7,67	8,19
Mediana	7,55	8,25
Standardna deviacija	1,18	1,19
Minimum	5,80	6,5
Maksimum	11,3	12,2
Območje	5,5	5,7
Medkvartilno območje	1,3	1,4

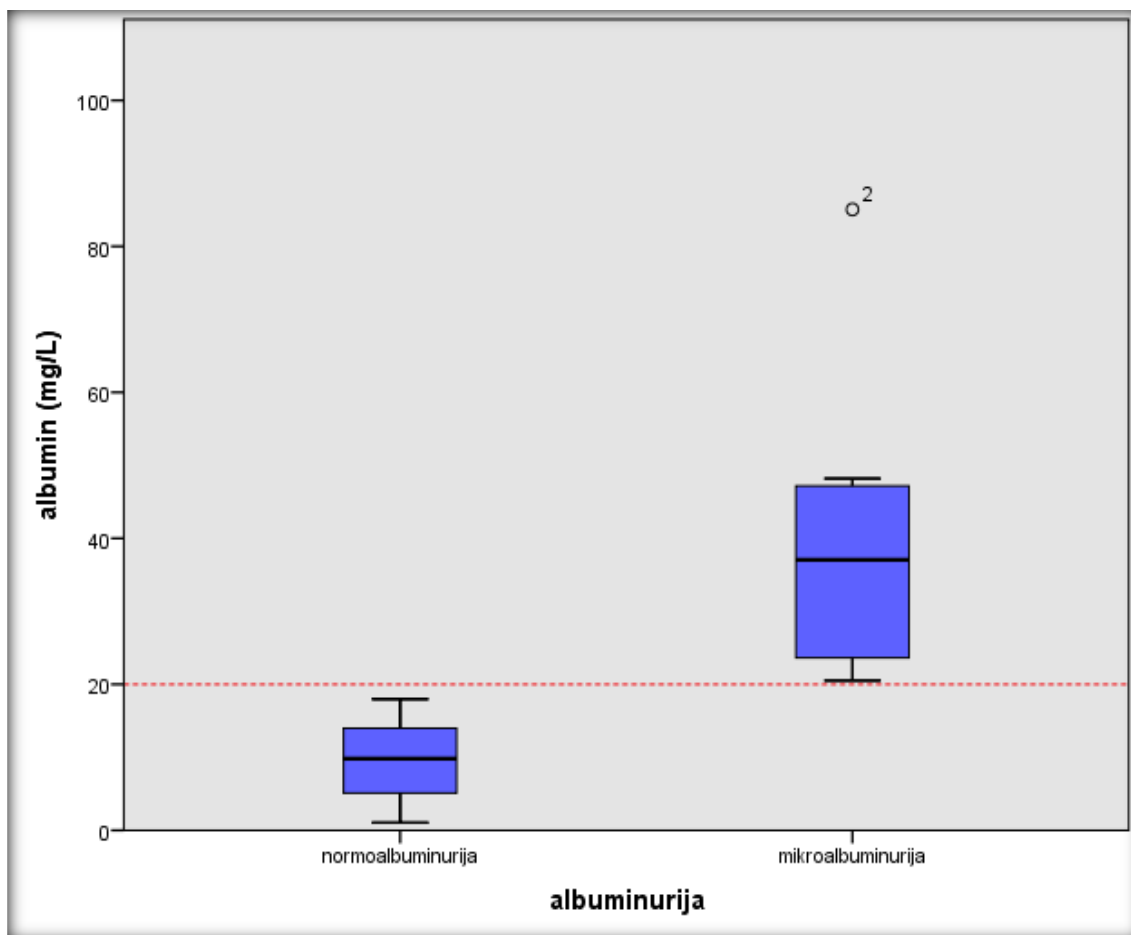
Preglednica V: Prikaz parametrov HbA1c.



Graf 5: Kvartilni digram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti kreatinina ločeno po spolu.

Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	87,33	72,82
Mediana	83,5	73,50
Standardna deviacija	12,35	13,05
Minimum	70,0	44,0
Maksimum	107,0	102,0
Območje	37,0	58,0
Medkvartilno območje	24,3	19,3

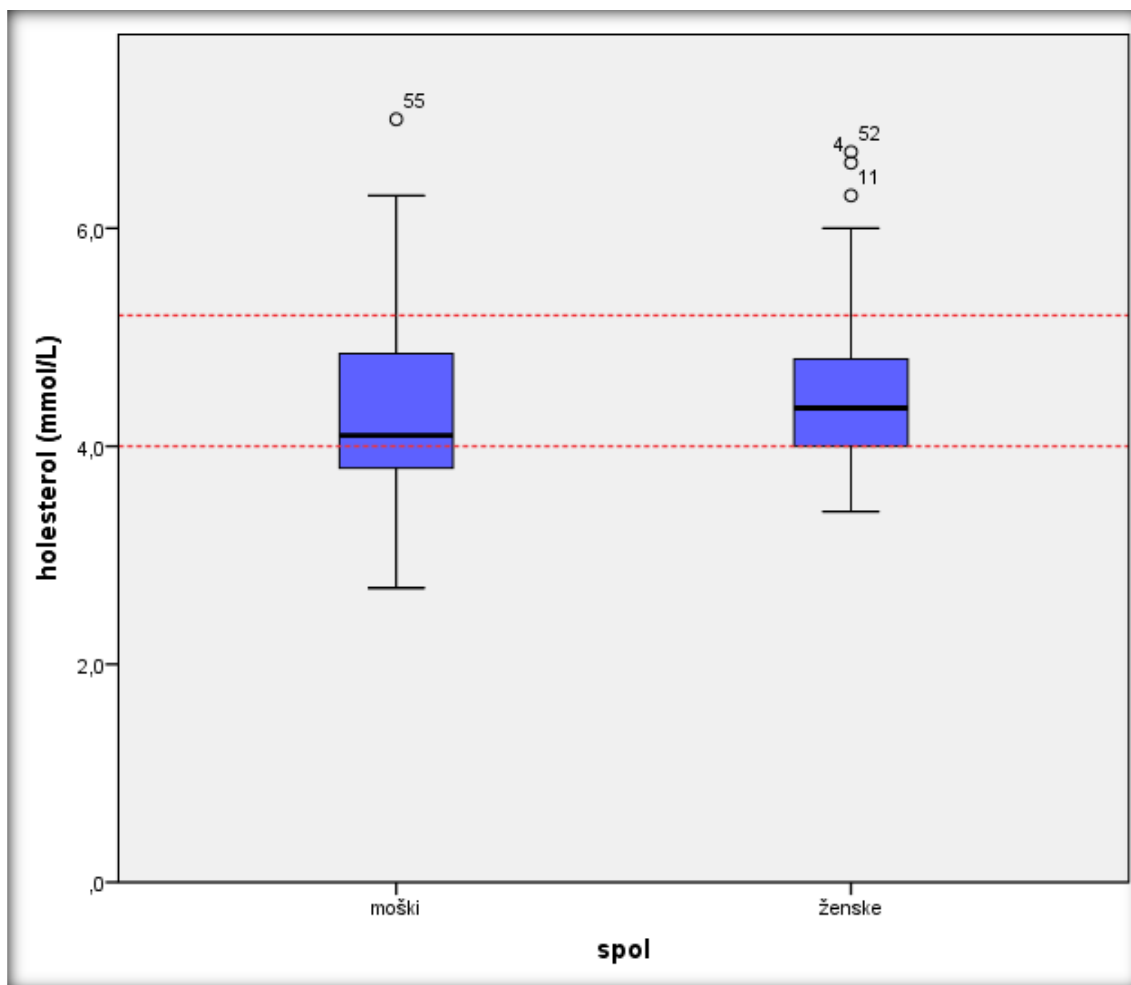
Preglednica VI: Prikaz parametrov za kreatinin.



Graf 6: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti albumina v urinu pri bolnikih.

Albumin (mg/L)	Normoalbuminurija	Mikroalbuminurija
Povprečje	9,35	38,24
Mediana	9,82	37,05
Standardna deviacija	4,94	18,31
Minimum	1,0	21,0
Maksimum	18,0	85,0
Območje	17,0	65,0
Medkvartilno območje	10,0	25,0

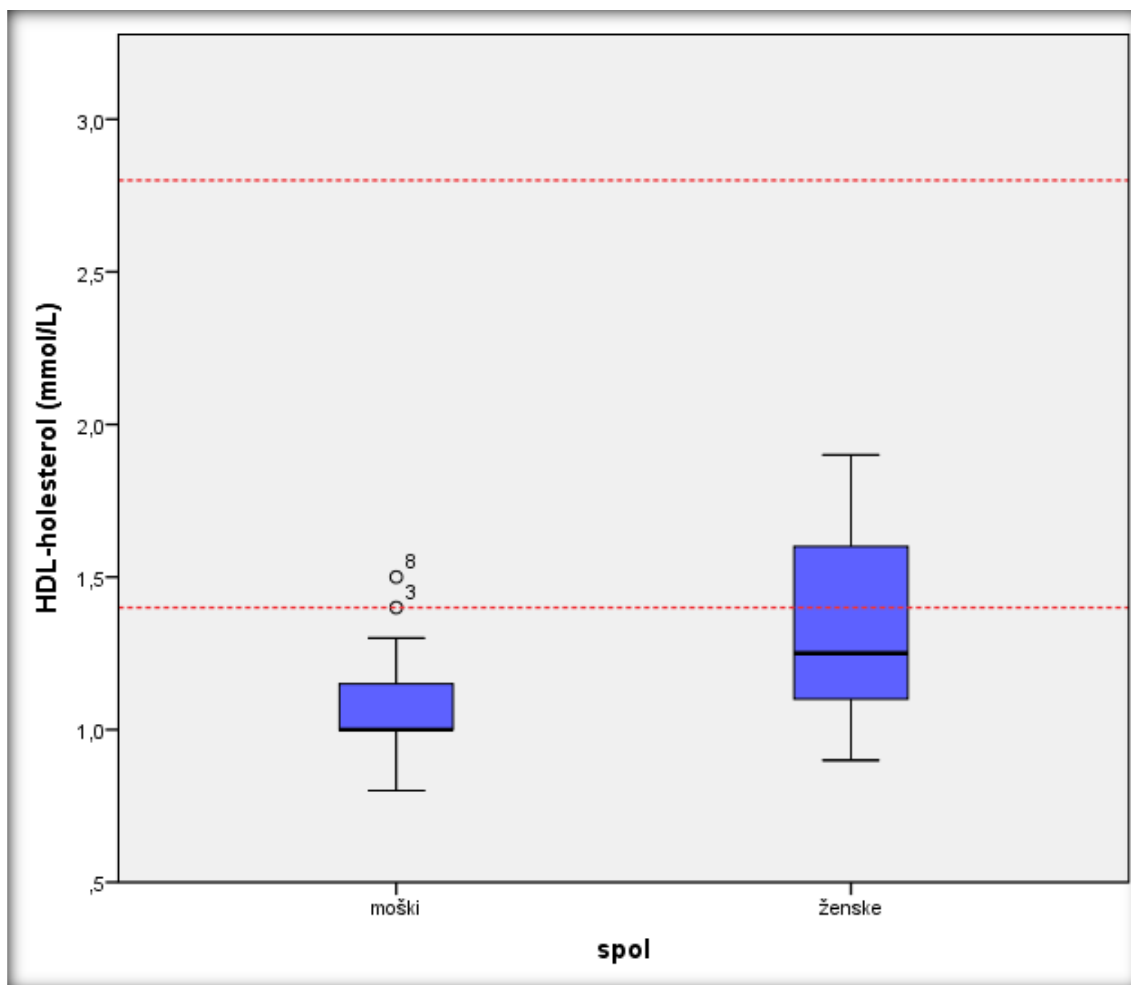
Preglednica VII: Prikaz parametrov za albumin.



Graf 7: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti holesterola ločeno po spolu pri bolnikih.

Holesterol (mmol/L)	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	4,35	4,57
Mediana	4,10	4,35
Standardna deviacija	0,94	0,87
Minimum	2,7	3,4
Maksimum	7,0	6,7
Območje	4,3	3,3
Medkvartilno območje	1,1	0,9

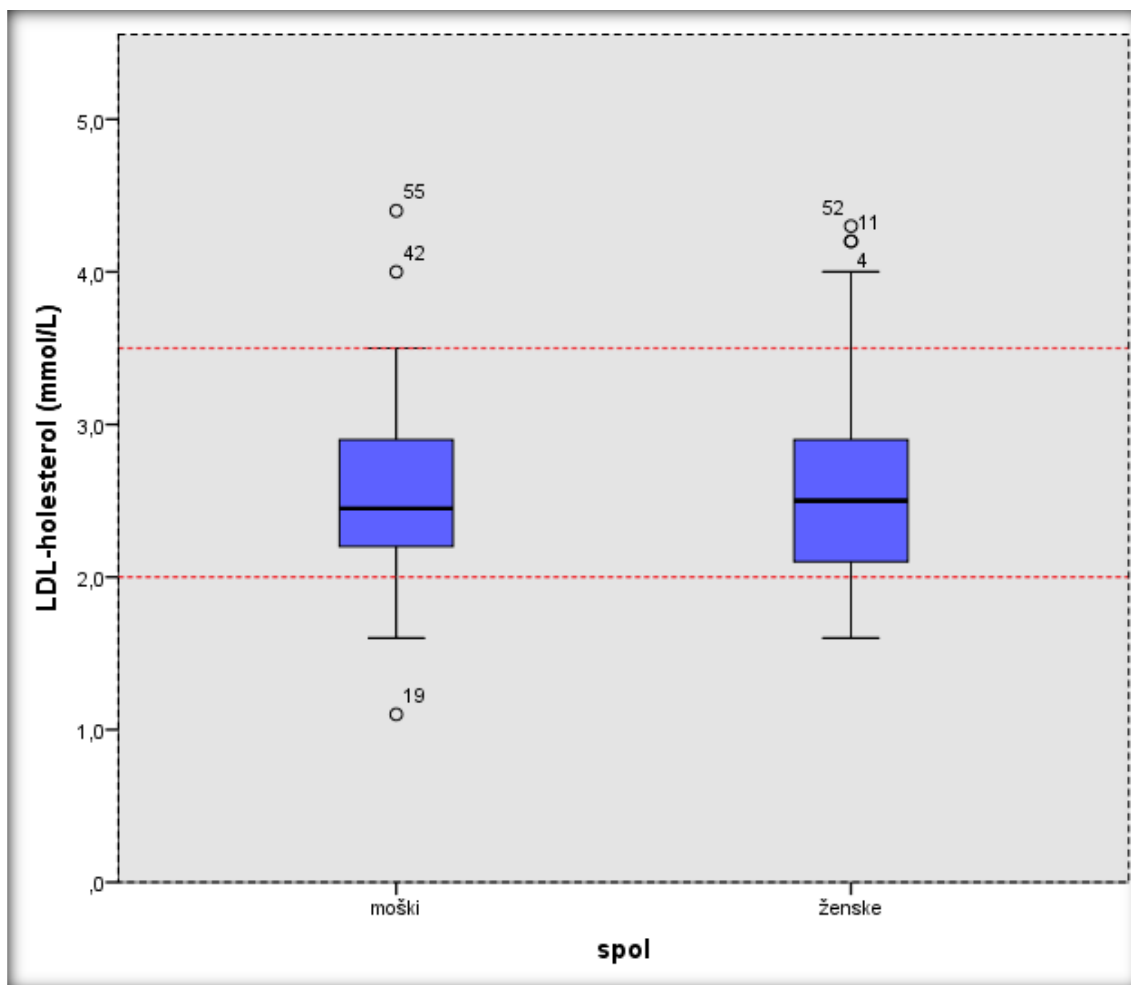
Preglednica VIII: Prikaz parametrov za holesterol.



Graf 8: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti HDL-holesterola ločeno po spolu.

HDL-holesterol (mmol/L)	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	1,07	1,32
Mediana	1,0	1,25
Standardna deviacija	0,17	0,09
Minimum	0,80	0,9
Maksimum	1,5	1,9
Območje	0,7	1,0
Medkvartilno območje	0,2	0,5

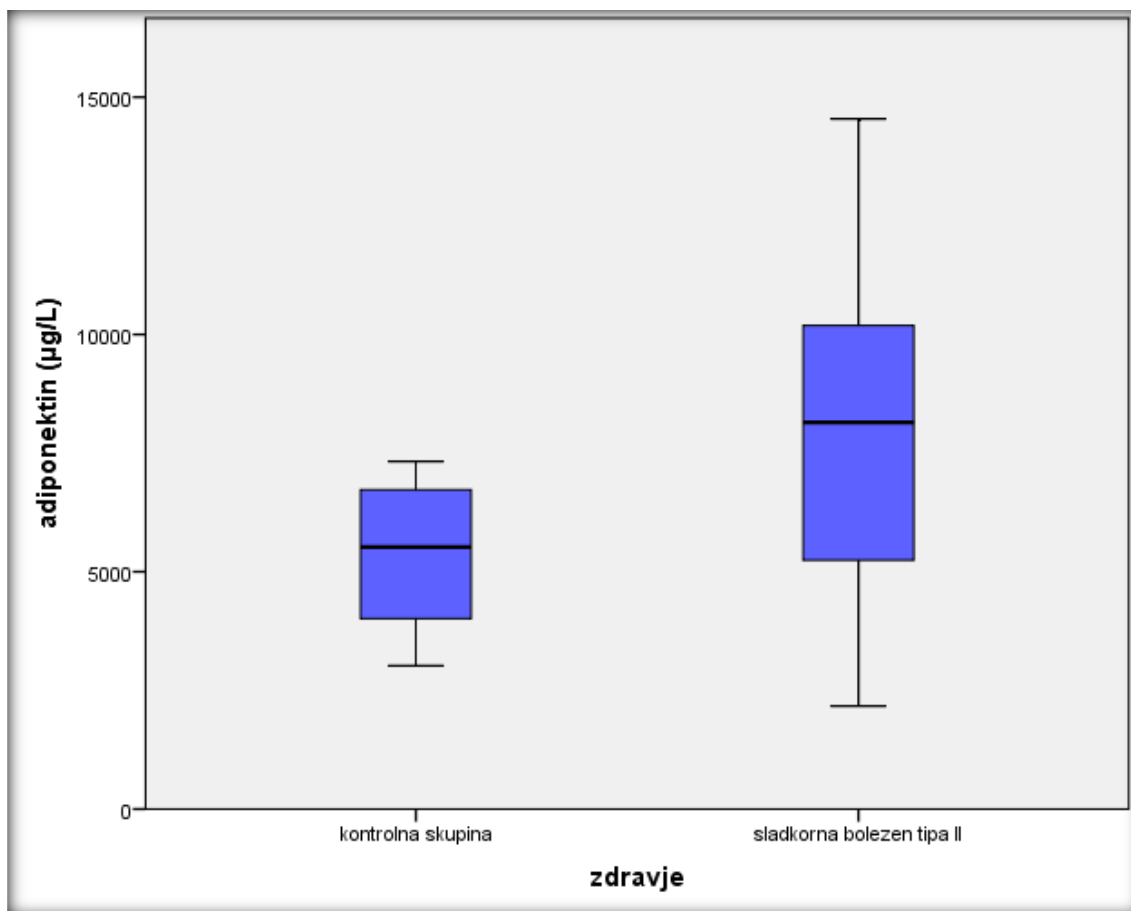
Preglednica IX: Prikaz parametrov za HDL-holesterol.



Graf 9: Kvartilni diagram, ki prikazuje porazdelitev vrednosti LDL-holesterola ločeno po spolu.

LDL-holesterol (mmol/L)	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	2,56	2,61
Mediana	2,45	2,50
Standardna deviacija	0,74	0,77
Minimum	1,10	1,60
Maksimum	4,40	4,30
Območje	3,30	2,70
Medkvartilno območje	0,70	0,80

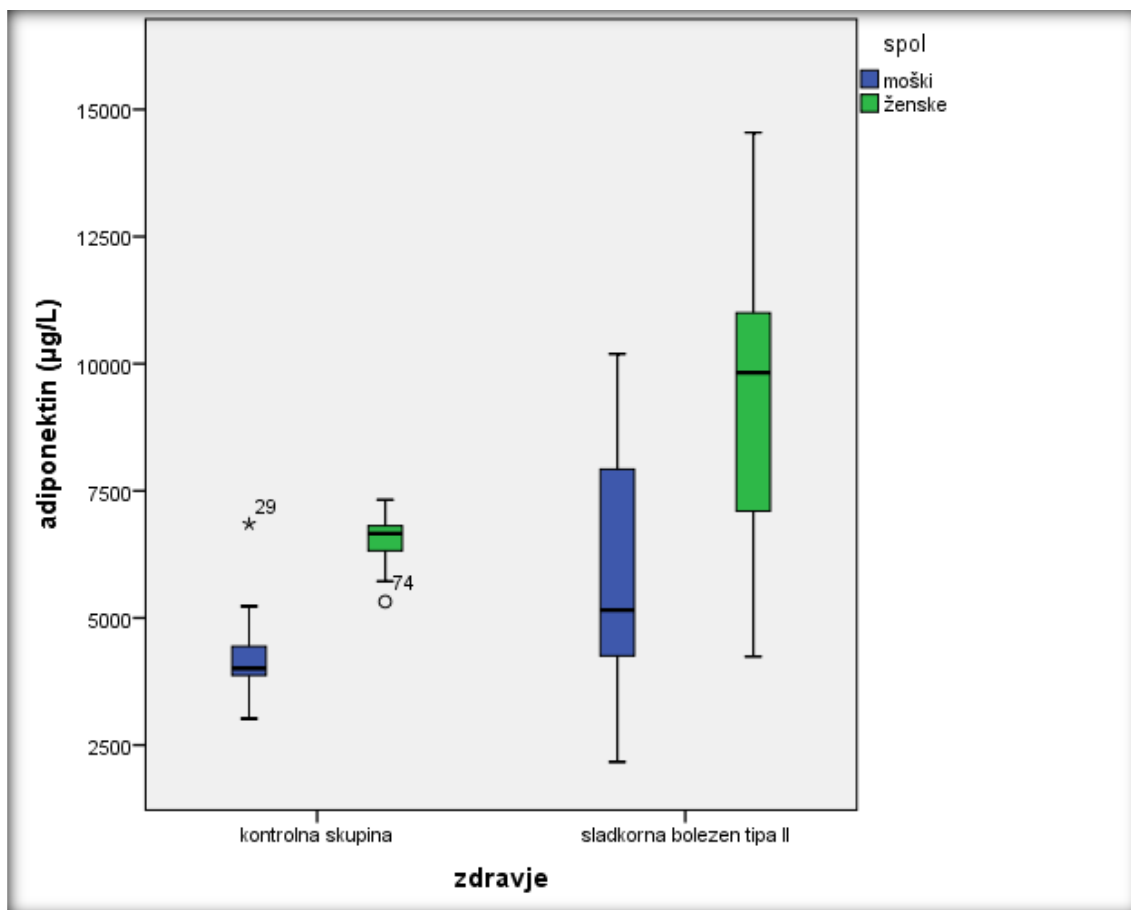
Preglednica X: Prikaz parametrov za LDL-holesterol.



Graf 10: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti adiponektina pri bolnikih in pri kontrolni skupini.

Adiponektin(µg/L)	KONTROLNA SKUPINA	SB 2
Povprečje	5384,58	7966,33
Mediana	5520,00	8147,50
Standardna deviacija	1395,093	3123,24
Minimum	3020,0	2171,0
Maksimum	7324,0	14544,0
Območje	4304,0	12373,0
Medkvartilno območje	2740,0	5058,0

Preglednica XI: Prikaz parametrov za adiponektin.



Graf 11: Kvartilni diagram, ki prikazuje vrednosti adiponektina pri bolnikih in kontrolni skupini, ločeno po spolu.

Adiponektin (µg/L)	Kontrolna skupina		Sladkorna bolezen tipa II	
	MOŠKI	ŽENSKE	MOŠKI	ŽENSKE
Povprečje	4250,77	6518,38	5943,75	9394,03
Mediana	4010,0	6660,00	5155,50	9822,00
Standardna deviacija	984,86	547,27	2262,15	2864,59
Minimum	3020,0	5320,00	2171,0	4242,00
Maksimum	6850,0	7324,00	10191,0	14544,00
Območje	3830,0	2004,00	8020,0	10302,00
Medkvartilno območje	925,0	675,00	4034,0	4007,00

Preglednica XII: Parametri za adiponektin pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II in pri kontrolni skupini, ločeno po spolu.

5 STATISTIČNA ANALIZA PODATKOV

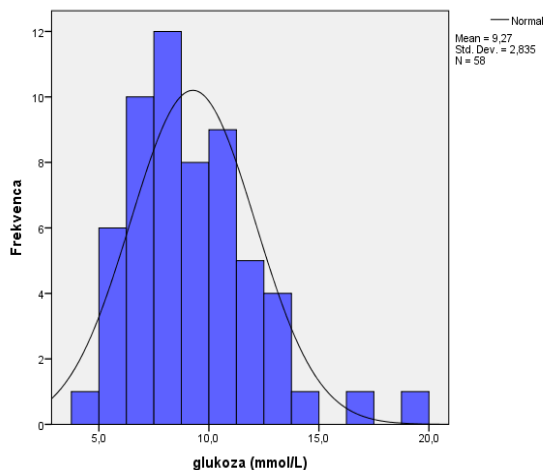
Za testiranje normalnosti porazdelitve posameznih parametrov smo uporabili Kolmogorov-Smirnov test. Pri testiranju smo upoštevali stopnjo tveganja $\alpha = 0,05$. V primeru glikiranega hemoglobina, holesterola, HDL-holesterola in LDL-holesterola je bila p vrednost manjša od 0,05. Ničelno hipotezo o normalnosti porazdeljevanja smo zavrnili in sprejeli alternativno hipotezo, ki pravi, da vrednosti vzorcev niso normalno porazdeljene. V nasprotnem primeru pa se vrednosti glukoze, kreatinina in adiponektina porazdeljujejo statistično značilno normalno.

Test normalnosti porazdelitve			
	Kolmogorov-Smirnov ^a		
glukoza (mmol/L)	,108	58	,090
HbA1c (%)	,118	58	,042
kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	,088	58	,200*
holesterol (mmol/L)	,129	58	,017
HDL-holesterol (mmol/L)	,210	58	,000
LDL-holesterol (mmol/L)	,132	58	,013
adiponektin ($\mu\text{g/L}$)	,094	58	,200*

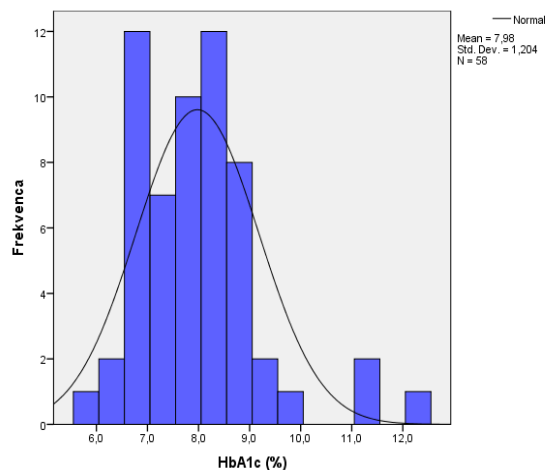
Preglednica XIII: Test normalnosti porazdelitve spremenljivk.

Ho: Spremenljivka se porazdeljuje normalno.

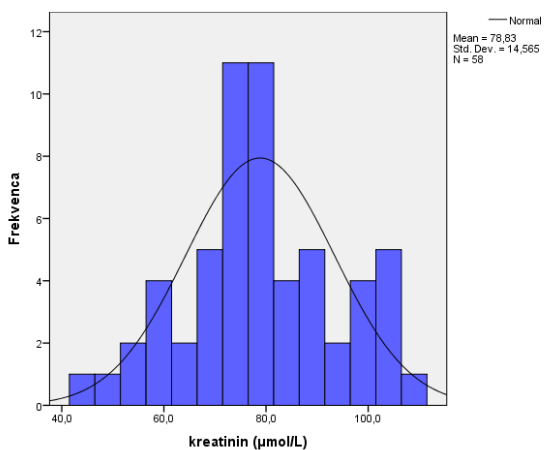
Ha: Spremenljivka se ne porazdeljuje normalno.



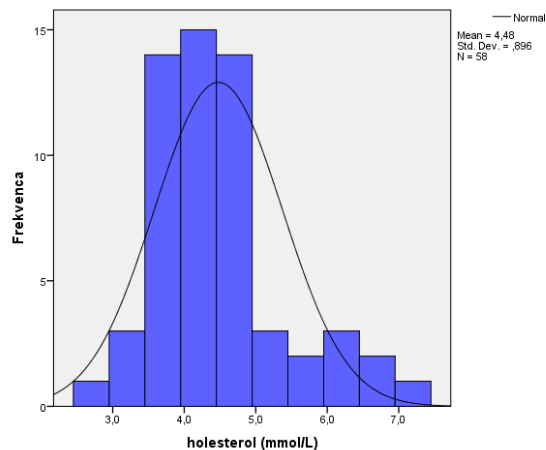
Graf 12: Histogram normalnosti porazdelitve glukoze.



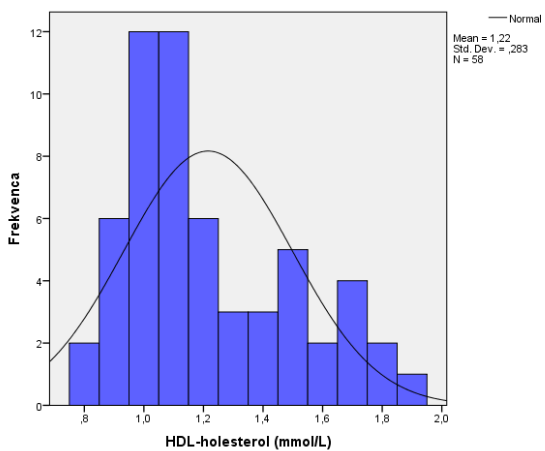
Graf 13: Histogram normalnosti porazdelitve HbA1c.



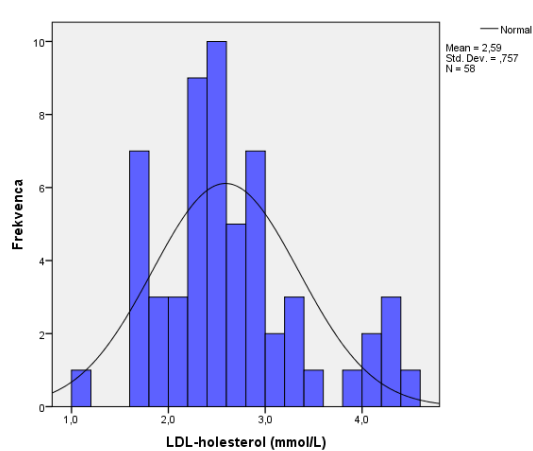
Graf 14: Histogram normalnosti porazdelitve kreatinina.



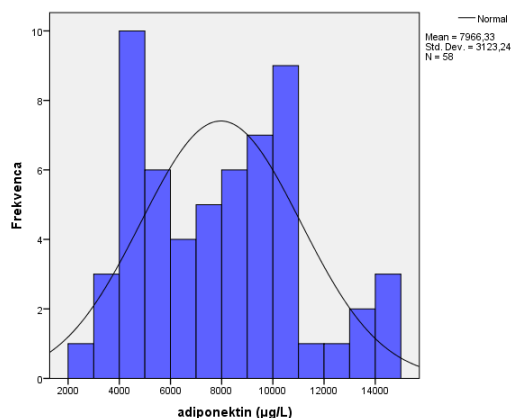
Graf 15: Histogram normalnosti porazdelitve holesterola.



Graf 16: Histogram normalnosti porazdelitve HDL-holesterola.



Graf 17: Histogram normalnosti porazdelitve LDL-holesterola.



Graf 18: Histogram normalnosti porazdelitve adiponektina.

Za ugotavljanje razlik med skupino moških in skupino žensk smo v primeru glukoze, kreatinina in adiponektina, kjer se vrednosti spremenljivke porazdeljujejo statistično značilno normalno, uporabili T-test dveh neodvisnih vzorcev. V primeru HbA1c, holesterola, HDL-holesterola in LDL-holesterola kjer pa vrednosti niso normalno porazdeljene smo uporabili neparametrični Mann-Whitney U test.

		Levene's test za enakost varianc		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
glukoza (mmol/L)	Equal variances assumed	6,193	,016	-2,065	56	,044
	Equal variances not assumed.			-2,242	54,837	,029
kreatinin (µmol/L)	Equal variances assumed	,272	,604	4,262	56	,000
	Equal variances not assumed.			4,304	51,333	,000
adiponektin (µg/L)	Equal variances assumed	1,143	,290	-4,913	56	,000
	Equal variances not assumed.			-5,117	55,221	,000

Preglednica XIV: T-test dveh neodvisnih vzorcev.

Pri t-testu dveh neodvisnih vzorcev najprej pogledamo prvi stolpec z naslovom **Leven's Test for Equality of Variances** kakšna je vrednost **Sig.** v vrstici **Equal variances assumed**. Ta vrstica temelji na predpostavki, da sta varianci homogeni.

Če je : $p \leq 0,05$ → razlike med variancama obeh skupin so statistično pomembne. (H_0 , ki pravi: ni razlik med variancama obeh skupin zavrnamo.) Ker so razlike, varianci nista homogeni. Torej moramo ovreči predpostavko o homogenosti varianc. → Gledamo vrstico Equal variances not assumed.

Če je: $p > 0,05$ → razlike med variancama obeh skupin nista statistično pomembne. H_0 obdržimo, varianci sta približno enaki. Torej obdržimo predpostavko o homogenosti varianc. → Gledamo vrstico Equal variances assumed.

Ker je p vrednost v primeru kreatinina in adiponektina večja od 0,05, obdržimo predpostavko o homogenosti varianc. Sedaj gledamo rezultat v tej vrstici in spodnjo zanemarimo. Torej, ker je p vrednost manjša od 0,05, so razlike med aritmetičnima sredinama obeh skupin statistično pomembne. (H_0 , ki pravi, da ni razlik med njima, zavrnamo). V primeru glukoze pa je p vrednost manjša od 0,05, zato se premikamo po spodnji vrstici naprej. T- test kaže, da je p vrednost manjša od 0,05, zato tudi tukaj H_0 zavrnamo in potrdimo alternativno hipotezo, ki pravi da je razlika med aritmetičnima sredinama obeh skupin.

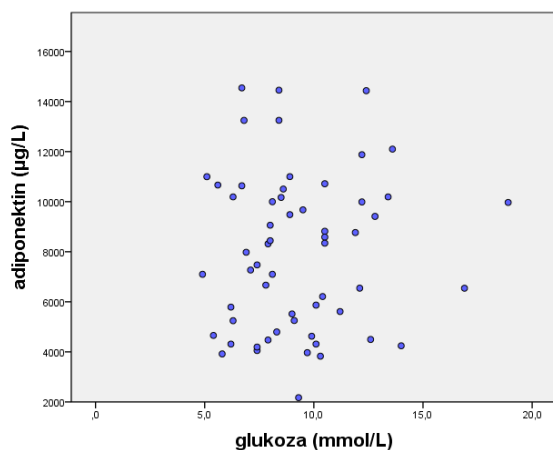
Sledil je neparametrični Mann-Whitney U test, s katerim smo preverili ali obstaja signifikantna razlika med skupinama v primeru HbA1c, HDL-holesterola, LDL-holesterola in celokupnega holesterola. Rezultati so pokazali, da ne obstaja statistično pomembna razlika med skupinama v primeru celokupnega in LDL-holesterola. V primeru HbA1c in HDL-holesterola pa signifikantna razlika obstaja, saj je p vrednost v tem primeru manjša od 0,05. H_0 , ki pravi da med skupinama ni razlike, smo torej v prvem primeru privzeli, v drugem pa zavrnilo in sprejeli alternativno H_a hipotezo.

	holesterol (mmol/L)	HbA1c (%)	HDL- holesterol (mmol/L)	LDL- holesterol (mmol/L)
Mann- Whitney U	344,000	283,500	213,500	403,500
Wilcoxon W	644,000	583,500	513,500	998,500
Z	-1,012	-1,967	-3,103	-,071
Asymp. Sig. (2-tailed)	,311	,049	,002	,943

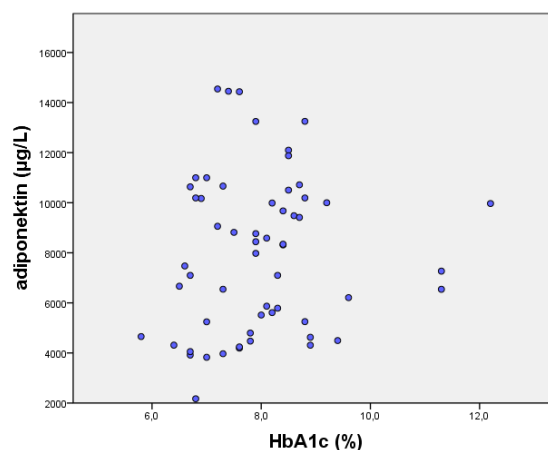
Preglednica XV: Mann Whitney U test.

5.1 KORELACIJA MED ADIPONEKTINOM IN OSTALIMI PARAMETRI

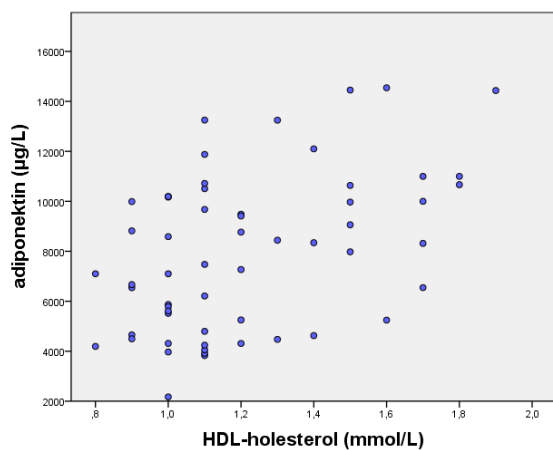
V raziskavi smo analizirali korelacijo med adiponektinom in ostalimi parametri, ki smo jih določili pri skupini pacientov.



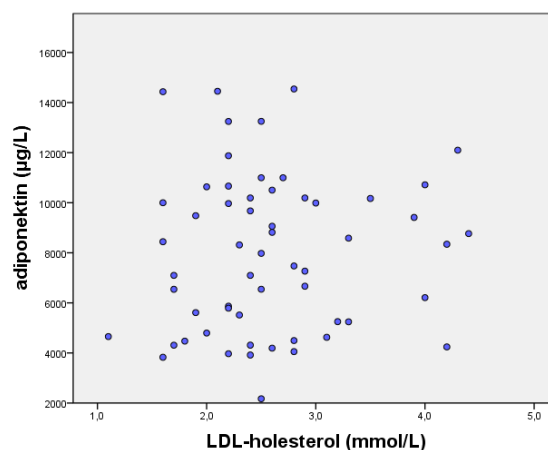
Graf 19: Korelacija med adiponektinom in glukozo.



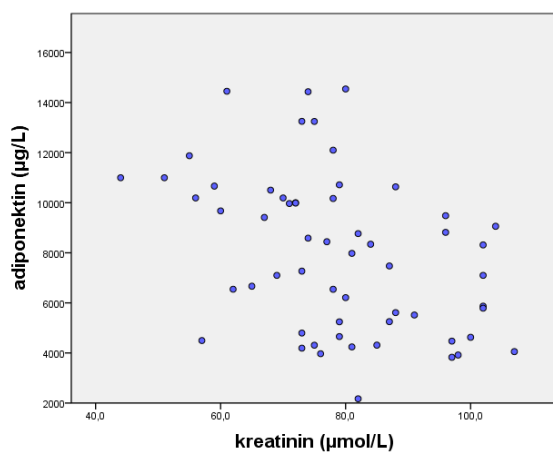
Graf 20: Korelacija med adiponektinom in HbA1c.



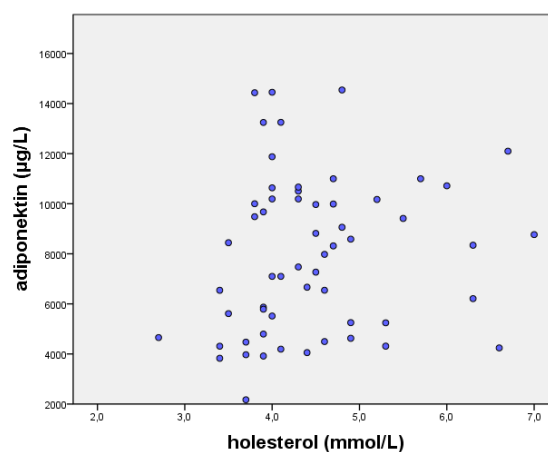
Graf 21: Korelacija med adiponektinom in HDL-
holesterolom.



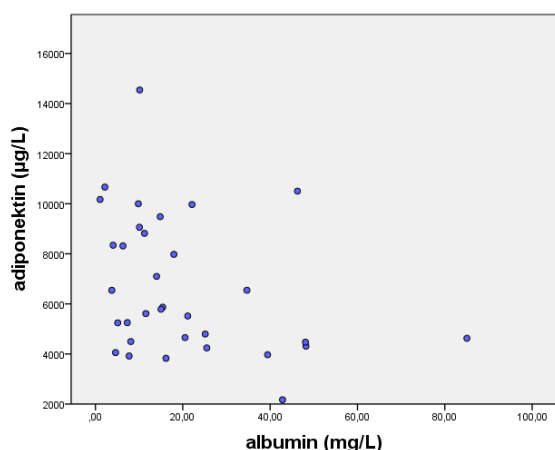
Graf 22: Korelacija med adiponektinom in LDL-
holesterolom.



Graf 23: Korelacija med adiponektinom in kreatininom.



Graf 24: Korelacija med adiponektinom in holesterolom.



Graf 25: Korelacija med adiponektinom in albuminom.

Korelacija	Spearmanov koeficient	P vrednost
adiponektin - glukoza	0,053	0,691
adiponektin – HbA1c	0,145	0,278
adiponektin – kreatinin	-0,453	0,000
adiponektin – holesterol	0,221	0,095
adiponektin – HDL- holesterol	0,415	0,001
adiponektin – LDL- holesterol	0,073	0,584
adiponektin - albumin	-0,359	0,040

Preglednica XVI: Prikaz korelacij med parametri.

Iz grafov št. 19-25 in preglednice XVI je razvidno, da je korelacija med adiponektinom in parametri, kot so: glukoza, glikiran hemoglobin, celokupni holesterol in HDL-holesterol na stopnji tveganja 0,01 nesignifikantna. P vrednosti so večje od 0,05. Signifikantno korelacijo pa smo ugotovili med adiponektinom in HDL-holesterolom, med adiponektinom in albuminom, ter med adiponektinom in kreatininom. V vseh treh primerih je korelacija signifikantno pomembna. Gre za dokaj visoko povezanost med parametri, kar je razvidno tudi iz zgornjih grafov. V prvem in drugem primeru gre za negativno korelacijo. Se pravi, da se s povečevanjem enega parametra drugi zmanjšuje. V zadnjem primeru pa gre za pozitivno korelacijo med parametroma, kar pomeni, da se s povečevanjem vrednosti ene spremenljivke povečuje tudi druga.

6 RAZPRAVA

Veliko študij je bilo izvedenih na podlagi pomembnosti adiponektina pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II. V teh študijah je bil nivo adiponektina v serumu bolnikov, v primerjavi s kontrolno skupino, znižan.

V ta namen smo izbrali skupino bolnikov s potrjeno diagnozo diabetesa tipa II, ki so že na terapiji z inzulinom in antihipertenzivnimi zdravili. To skupino smo ločili po spolu, na moško in žensko populacijo. Vsem pacientom smo določili vrednost različnih parametrov v krvi (glukoza, glikiran hemoglobin, kreatinin, celokupni holesterol, HDL-holesterol, LDL-holesterol, adiponektin) in količino izločenega albumina v 24-urnem vzorcu urina. Podatki so precej razpršeni, zato smo uporabili za prikaz in interpretacijo podatkov kvantilne diagrame.

Da bi ugotovili ali je imela populacija, ki smo jo opazovali, normalno, slabo, ali zadovoljivo urejeno sladkorno bolezen smo določili vrednost glikiranega hemoglobina. V ta namen smo pacientom s pomočjo naprave Dimension Xpand in turbidimetrične imunoinhibicijske metode določili vrednost HbA1c v polni krvi (16). Graf št. 4 nam prikazuje, da so vrednosti izven predvidenega območja, kar nakazuje slabo urejenost sladkorne bolezni 2-3 mesece pred preiskavo. Podobne rezultate nam kaže tudi graf št. 3, ki nam prikazuje koncentracijo glukoze na tešče. Vrednosti so tako pri moških, kot tudi pri ženskah izven referenčnega območja, kar pomeni da so imeli pacienti dve uri pred preiskavo slabo urejeno sladkorno bolezen.

Naslednji graf št. 5 nam prikazuje porazdelitev vrednosti kreatinina pri bolnikih. Koncentracija kreatinina v serumu je namreč pokazatelj ledvične funkcije (15). Kot je razvidno tudi iz grafa imajo vsi bolniki vrednosti kreatinina znotraj referenčnega območja. Ker pa kreatinin ni najboljši pokazatelj okvarjenosti ledvic, smo v ta namen še preverili vrednosti albumina v 24-urnem urinu. Mikroalbuminurija je namreč najzgodnejši klinični kazalec okvarjenosti glomerulne filtracije (7). Na grafu št. 6 lahko vidimo, da smo zaznali pri kar 12 pacientih (od 33 kompetentnih pacientov) vrednosti albumina v urinu nad 20 mg/L, kar pa kaže na že okvarjeno ledvično funkcijo.

S pomočjo grafikonov št. 7, 8 in 9 smo prikazali lipidni status preiskovancev. Vidimo lahko, da so vrednosti celokupnega holesterola in LDL-holesterola znotraj referenčnih vrednosti. Vrednosti HDL-holesterola pa so nekoliko znižane, kar nakazuje večje tveganje

za srčno-žilne bolezni (12). Predvsem moški imajo nižje vrednosti, v primerjavi z žensko skupino, kar pa lahko pojasnimo z vplivom hormona estrogena, ki ga ima ženska populacija več.

Na grafu št. 10 je prikazana porazdelitev adiponektina pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II in pri kontrolni skupini. Bolniki imajo namreč signifikantno višje vrednosti adiponektina v krvi, v primerjavi s kontrolno skupino. Dalje smo te dve skupini ločili še po spolu, kakor je razvidno iz grafa št. 11. Opaziti pa je tudi, da ima ženska skupina v primerjavi z moško skupino višje vrednosti adiponektina v serumu. Rezultat smo potrdili tudi z parametričnim T-testom dveh neodvisnih vzorcev. Dobili smo p vrednost, manjšo od 0,05, kar potrjuje signifikantno razliko med spoloma. Da imajo moški znižan plazemski nivo adiponektina, lahko pripišemo vplivu testosterona pri moških. Testosteron je namreč hormon, ki znižuje plazemski nivo HMW oblike adiponektina. Posledično imajo ženske višji nivo adiponektina v krvi kot pa moški, prav na račun HMW oblike adiponektina. To lahko pojasni večje tveganje za razvoj ateroskleroze in rezistence na inzulin pri moški populaciji (21).

Večina člankov, ki opisujejo razne raziskave na to temo, govori, da je nivo adiponektina v serumu pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II znižan (22). Rezultati, ki pa smo jih pridobili na naši vzorčni populaciji kažejo ravno nasprotno. Razlog za takšne rezultate lahko iščemo marsikje. Naši pacienti so bili namreč na terapiji z antihipertenzivi (manidipin in delapril) za zmanjšanje zvišanega krvnega tlaka in diabetične nefropatije. Manidipin je namreč dihidropiridin in je zaviralec Ca-kanalčkov. Mehanizem delovanja preko katerega pride do zvišanja nivoja adiponektina v literaturi razlagajo z aktivacijo nuklearnega PPAR- γ receptorja, ki se izraža v adipoznem tkivu (23).

Prav tako so bili pacienti na terapiji z inzulinom, kar je lahko dodaten razlog za zvišanje nivoja adiponektina v krvi bolnikov. V enem članku smo zasledili, da lahko dajanje eksogenega inzulina, lokalno spodbudi izražanje genov za adiponektin, in tako se poveča izločanje le tega iz adipoznega tkiva (24,25).

Na grafih zgoraj (graf št. 19-25) so prikazane korelacije med adiponektinom in ostalimi parametri, ki smo jih določili pri skupini bolnikov. Prvi graf kaže na negativno korelacijo med adiponektinom in glukozo, ki pa seveda ni smiselna, glede na to, da je adiponektin protein, ki je udeležen v metabolizmu glukoze. Korelacija je na stopnji tveganja 0,01 nesignifikantna. Razne študije navajajo pozitivno in signifikantno korelacijo med

adiponektinom in HDL-holesterolom, ter med adiponektinom in albuminom (26). To smo seveda preverili tudi na naši populaciji. V obeh primerih smo dobili signifikantno korelacijo, le da je bila v prvem primeru pozitivna, v drugem pa negativna. Korelacija je med adiponektinom in HDL-holesterolom na stopnji tveganja 0,01 pozitivna (0,415). S povečevanjem vrednosti ene spremenljivke, se povečuje tudi druga. Tako adiponektin, kot tudi HDL-holesterol nam predstavljata zaščitni faktor pred aterosklerozo in srčno-žilnimi zapleti. Manjši je nivo adiponektina, ter manjši je nivo HDL-holesterola v serumu, večje je tveganje za razvoj žilnega obolenja. Torej bi lahko rekli, da je adiponektin nekakšen neodvisni dejavnik tveganja za kardiovaskularne zaplete in prav tako napovednik nivoja HDL-holesterola v plazmi. Temu v prid govori tudi članek, ki opisuje študijo na odraslih prebivalcih Kitajske, s potrjeno diagnozo diabetesa tipa II že več kot eno leto in so jemali gliklazid ter metformin. Rezultati so pokazali zelo močno pozitivno povezavo med koncentracijo adiponektina in koncentracijo HDL-holesterola v plazmi (26). V drugem primeru, torej korelacija med adiponektinom in albuminom, pa je pri naši vzorčni populaciji signifikantno negativna (-0,359). Albumin je prvi pokazatelj ledvične okvare. Članki navajajo, da je nivo adiponektina v plazmi signifikantno višji pri mikroalbuminurijah, kot pa pri normoalbuminurijah (27). Naša korelacija pa nam govori ravno nasprotno, da se s povečevanjem nivoja adiponektina v plazmi, manjša izločanje albumina v urin. Torej je v našem primeru nivo adiponektina nižji v primeru okvare ledvične funkcije. Tudi ta primer, lahko pojasnimo z vplivom jemanja zdravila za zniževanje krvnega tlaka pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa II. Manidipin je namreč zaviralec tako L-, kot tudi T-tipa Ca-kanalčkov. Tako prepreči vdor Ca^{2+} v celice. Posledično, pride do sprostitve gladkih mišic in do vazodilatacije tako aferentne, kot tudi eferentne arteriole. Manidipin tako ohranja avtoregulacijo v glomerulnih kapilarah. Kot rezultat, manidipin zmanjša izločanje albumina skozi ledvice. Torej manidipin zvišuje nivo adiponektina v krvi in hkrati tudi zmanjšuje izločanje albumina v urin. Manidipin naj bi bil celo enako učinkovit kot enalapril (inhibitor angiotenzin konvertaze, ki ima renoprotektivne učinke) v preprečevanju napredovanja bolezni ledvic. (28,29).

Prav tako je bilo v študijah moč zaslediti pozitivno korelacijo med adiponektinom in kreatininom v plazmi. Z večanjem okvare ledvic, se zvišuje plazemski nivo kreatinina v plazmi, z njim pa tudi nivo adiponektina (30). Naš graf št. 23 nam govori ravno obratno. Korelacija je negativna (-0,453), kar kaže na srednje dobro ujemanje. Takšen rezultat bi lahko pojasnili z dejstvom, da so bolniki s sladkorno boleznijo tipa II, večinoma ljudje z

zvišanim BMI (čeprav mi tega podatka nimamo), kar pa pomeni, da imajo lahko ti povečano izločanje kreatinina v urin.

Mogoče bi morali v raziskavo vključiti veliko več preiskovancev, saj bi bil naš vzorec tako bolj reprezentativen. Hkrati pa bi morali v raziskavo vključiti bolnike s šele komaj potrjeno sladkorno boleznijo tipa II, ki pa še niso na terapiji z nikakršnimi zdravili, saj bi na takšen način lahko dobili boljše rezultate, ki bi odsevali dejansko stanje pacienta in ne rezultate, ki bi bili posledica vpliva raznih zdravil. Na plazemski nivo adiponektina namreč vplivajo različna zdravila od peroralnih antidiabetikov (tiazolidindionov) vse do zaviralcev kalcijev kanalčkov (manidipin), ACE inhibitorjev (delapril) in eksogenega inzulina. Mehanizem delovanja preko katerega peroralni antidiabetiki povzročijo zvišanje plazemskega nivoja adiponektina je podoben zgoraj že opisanemu mehanizmu manidipina. TZD se vežejo na PPAR- γ receptorje v adipoznem tkivu. To privede do nekakšne spremembe adipocitov, ter do porasta števila majhnih adipocitov. Ti so bolj občutjivi na inzulin in hkrati obilno in hitreje izločajo adiponektin. Zgodi se tudi neposredna aktivacija gena za transkripcijo adiponektina (8).

Prav tako bi bilo potrebno pridobiti vse podatke za kontrolno skupino, torej ne samo vrednosti adiponektina v plazmi, ki smo jih imeli mi, ampak tudi vrednosti glukoze, glikiranega hemoglobina, kreatinina, holesterola, HDL- in LDL-holesterola in albumina v urinu, saj bi le tako lahko pridobili bolj reprezentativne rezultate. Lažje bi tudi ocenili medsebojne korelacije med posameznimi parametri in ocenili morebitni vpliv enega faktorja na drugega. Manjkajo nam seveda tudi podatki o sami telesni teži in BMI, pacientov in kontrolne skupine. Kot sem že na začetku omenila ima ta dejavnik zelo velik vpliv na plazemski nivo adiponektina.

7 SKLEP

Namen te diplomske naloge je bil, da ugotovimo pomen adiponektina pri bolnikih s potrjeno sladkorno boleznijo tipa II. Želeli smo ugotoviti, ali nam ta parameter lahko služi pri diagnostiki sladkorne bolezni tipa II in ali nam lahko pomaga pri opredelitvi stopnje ledvične okvare.

V okviru diplomske naloge smo prišli do naslednjih odgovorov:

- Adiponektin je protein, ki bi naj bil po rezultatih dosedanjih študij vključen v metabolizem glukoze, vendar naši rezultati ne kažejo signifikantno pomembne korelacije med tema dvema parametroma.
- Rezultati so pokazali, da obstaja signifikantno pomembna korelacija med adiponektinom in HDL-holesterolom v plazmi, kar pa nam lahko nakazuje na protektivno delovanje obeh parametrov in ne na neposredno korelacijo med njima.
- Signifikantno pomembno korelacijo smo ugotovili tudi med adiponektinom v plazmi in albuminom v urinu, kar bi lahko pomenilo, da bi nam sam adiponektin lahko služil kot dodatni parameter pri opredelitvi stopnje okvare ledvic.
- Prav tako so nam rezultati pokazali velik vpliv antihipertenzivnih zdravil (predvsem manidipina) na plazemski nivo adiponektina.
- Boljšo reprezentativnost rezultatov bi dobili, če bi v raziskavo vključili večje število preiskovancev.
- Bolniki bi naj imeli šele komaj postavljeno diagnozo diabetesa tipa II, saj bi le tako dobili rezultate, ki odražajo dejansko stanje in bi na ta način izničili vpliv zdravil.
- Prav tako, bi lahko dobili bolj reprezentativne rezultate, če bi imeli podatke o telesni teži pacientov ali BMI, saj ima ta dejavnik prav tako velik vpliv na nivo adiponektina v krvi.
- Za boljšo interpretacijo rezultatov bi potrebovali tudi več podatkov o sami kontrolni skupini, torej ne samo vrednosti adiponektina, ampak tudi ostale parametre, ki smo jih določili tudi pacientom. Tako bi lahko morda dobili bolj jasno sliko.

8 LITERATURA

1. Ribarič S.: Temelji patološke fiziologije, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana, 2009: 91-102.
2. Lukač Bajalo J.: Novelirani pristopi v laboratorijski diagnostiki in spremljanju sladkorne bolezni, Farmacevtski vestnik 2005: 241-247.
3. Avberšek Lužnik I., Čelhar T., Karas Kuželički N., Milek M., Pajič T.: Vaje iz klinične kemije I, Ljubljana 2010: 54-59.
4. <http://www.diabetes-zveza.si/sl/kaj-je-diabetes> (dostopano: september 2012)
5. Kocijančič A., Mrevlje F.: Interna medicina, DZS, Ljubljana, 1993: 682-729.
6. Marc J., Černe D.: Klinična kemija, Ljubljana, 2009, 84-94.
7. <http://www.dr-gorkic.si/pdf/U-ALB.pdf> (dostopano: september 2012)
8. <http://www.jci.org/articles/view/29126> (dostopano: julij 2012)
9. SOP Navodila za delo na biokemičnem analizatorju Advia 1800, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
10. Osredkar J.: Izbrana poglavja iz klinične kemije: Učno gradivo za študente farmacije, Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2007: 318-319.
11. SOP Določanje koncentracije glukoze, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
12. SOP Določanje koncentracije holesterola, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
13. SOP Določanje koncentracije HDL-holesterola, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
14. SOP Določanje koncentracije LDL-holesterola, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
15. SOP Določanje koncentracije kreatinina, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
16. SOP Določanje hemoglobina A1c, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
17. SOP PLL U Albumin V2, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)
18. SOP RayBio Human Adiponectin/Acrp30 ELISA Kit, Interno navodilo za delo (dokumentacija na delovnem mestu)

19. Adamič Š.: Temelji biostatistike, Ljubljana, 1995: 36, 553-557, 536-546.
20. Argyrous G.: Statistics for Social&Health Research, London 2000:113-131, 231-242, 339-353.
21. <http://www.jbc.org/content/280/18/18073.short> (dostopano: september 2012)
22. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J: Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population, *Lancet* 360: 57-58, 2002.
23. Roland E Schmieder, Cardiovascular Risk Management – Efficacy of Manidipine in Hypertension and Beyond, *European Cardiology*, Volume Issue 4, Maj 2005, 69-73.
24. <http://cimonline.ca/index.php/cim/article/view/6618> (dostopano: november 2012)
25. <http://docsdrive.com/pdfs/academicjournals/ajava/0000/28554-28554.pdf> (dostopano: avgust 2012)
26. <http://benthamscience.com/open/toathertj/articles/V005/1TOATHERTJ.pdf> (dostopano: avgust 2012)
27. <http://care.diabetesjournals.org/content/26/6/1745.long> (dostopano: junij 2012)
28. Martinez Martin FJ: Manidipine in hypertensive patients with metabolic syndrome: the MARIMBA study, *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2009; 7: 863-869.
29. Martinez Martin FJ, Saiz-Satjes M: Add-on manidipine versus amlodipine in diabetic patients with hypertension and microalbuminuria: the AMANDHA study, *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6: 1347,1355.
30. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17805239> (dostopano: julij 2012)