

# Upalni biljeg interleukin 6 (IL6) kod pretile djece

---

**Banić, Marija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2016**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:613909>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-22**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
Podružnica  
SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA  
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Marija Banić**

**UPALNI BILJEG INTERLEUKIN 6 (IL - 6) KOD  
PRETILE DJECE**

**Završni rad**

Split, 2016.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Marija Banić**

**UPALNI BILJEG INTERLEUKIN 6 (IL - 6) KOD**

**PRETILE DJECE**

**INFLAMMATORY INTERLEUKIN (IL - 6) IN**

**OBESE CHILDREN**

**Završni rad / Bachelor's thesis**

Mentor:

**Daniela Šupe Domić, mag. med. biokemije**

Split, 2016.

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	2
1.1. DEFINICIJA DEBLJINE.....	2
1.2. DIJAGNOZA DEBLJINE.....	2
1.3. EPIDEMIOLOGIJA DEBLJINE.....	5
1.4. PATOFIZIOLOGIJA DEBLJINE.....	7
1.5. INTERLEUKIN 6.....	8
2. CILJ RADA.....	11
3. MATERIJALI I METODE.....	12
3.1. ISPITANICI.....	12
3.2. METODE.....	13
3.2.1. ANTROPOMETRIJA.....	13
3.2.2. LABORATORIJSKI TESTOVI.....	13
3.2.3. IMUNOKEMIJSKA METODA.....	14
3.2.4. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA.....	15
4. REZULTATI.....	16
5. RASPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČCI.....	21
7. LITERATURA.....	22
8. SAŽETCI.....	26
8.1. SAŽETAK.....	26
8.2. SUMMARY.....	28
9. ŽIVOTOPIS.....	30

# 1. UVOD

## 1.1. DEFINICIJA DEBLJINE

Pretilost ili debljina kronična je endokrino-metabolička bolest karakterizirana prekomjernim nakupljanjem suvišne energije u masnom tkivu. Nakupljanje suvišne energije uzrokuje disfunkciju masnog tkiva te komplikacije kod drugih organa (1). Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) definirala je pretilost kao bolest još 1948. godine, kada je kao takva dobila svoje mjesto u 6. reviziji Međunarodne klasifikacije bolesti (MKB - 6). Nekoliko desetljeća kasnije prepoznata je kao jedan od vodećih javno-zdravstvenih problema koji se mora prevenirati ili liječiti ako do pretilosti dođe (2). Radi se o kroničnoj bolesti skromnog simptomatskog iskaza i velikog polimorbidnog potencijala koja se razvija u međudjelovanju različitih etioloških činitelja, nasljednih odrednica i različitih utjecaja okoline (3). Stupanj debljine uobičajeno se iskazuje apsolutnim iznosom tjelesne mase ili nešto boljim pokazateljem, indeksom tjelesne mase (ITM), koji predstavlja omjer tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine u metrima.

## 1.2. DIJAGNOZA DEBLJINE

Za procjenu stanja uhranjenosti, odnosno pretilosti, primjenjuje se percentilna vrijednost indeksa tjelesne mase (engl. *Body Mass Index BMI*) za dob i spol, SD i z - vrijednost, a u starijim istraživanjima tjelesna masa za dob, tjelesna masa za visinu/duljinu i relativna tjelesna masa (4).

**Indeks tjelesne mase (ITM)** pouzdan je pokazatelj stanja tjelesne mase za većinu djece i mladeži. Izračunava se iz djetetove težine i visine.

$$\text{ITM} = \text{težina (kg)} / \text{visina (m)} \times \text{visina(m)}$$

Indeks tjelesne mase ne mjeri tjelesnu masnu masu izravno, ali istraživanja su pokazala da visoko korelira s izravnim mjerama tjelesne masti koje su dobivene metodom hidrostatskog, podvodnog vaganja i metodom dvoenergetske rendgenske apsorpciometrije (DXA). ITM može se smatrati alternativom za direktno mjerenje

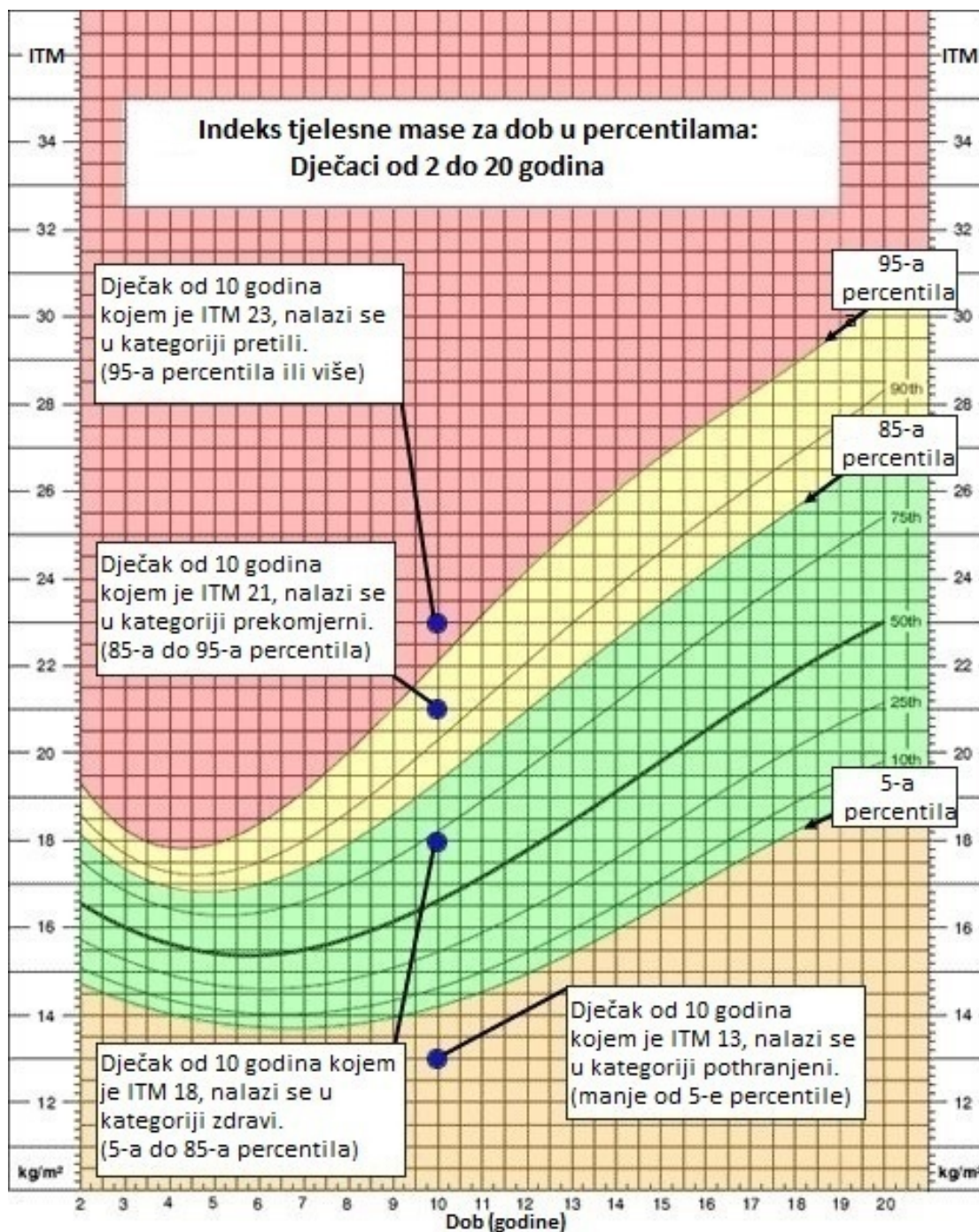
tjelesne masti. Osim toga, izračun ITM - a jeftina je i jednostavna metoda za izvođenje. Za djecu i za mlade se ITM računa prema dobi i spolu i vrlo je specifičan zbog njihovog intenzivnog rasta i razvoja.

Nakon što se ITM izračuna za djecu i mlade, njegova brojčana vrijednost označava se na CDC ITM grafikonu rasta za dob (za djevojčice ili dječake) u svrhu postizanja percentilnog ranga.

**Percentili** su najčešće korišteni pokazatelj za procjenu težine i visine djece. ITM na percentilu pokazuje relativni položaj djeteta među djecom istog spola i dobi. Percentil smješta u položaj pojedinca ukazujući u kojem postotku će on biti jednak ili različit od referentne populacije (Slika 1).

**z vrijednost** je broj standardnih devijacija udaljenih od medijana populacije normalne distribucije.

Porast vrijednosti ITM - a na grafikonu pokazuje težinu stanja po kategorijama (pothranjenost, normalna težina, prekomjerna težina i pretilost).



Slika 1. Dijagram indeksa tjelesne mase za dob (dječaci)

(izvor: [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov) Centers for Disease Control and Prevention – tekst u slobodnom prijevodu)

Prema kriteriju SZO za odrasle, osobe s ITM između 25 kg / m<sup>2</sup> i 29.9 kg / m<sup>2</sup> su u kategoriji prekomjerne tjelesne težine, a osobe s ITM većim od 30 kg / m<sup>2</sup> su u kategoriji pretilih (5). Za pedijatrijsku populaciju koriste se percentilne krivulje u odnosu za dob i spol (6, 7, 8). Djecu s ITM iznad 95. percentile za dob i spol definiramo kao pretilo. Djeca kojoj je ITM između 85. i 95. percentile imaju povećani rizik za pretilost (9).

Tablica1. Kategorija procjene stanja uhranjenosti po percentilama

<b>Kategorija</b>	<b>Percentilni rang</b>
Pothranjeni	Manje od 5 - te percentile
Normalni ili zdravi	Od 5 - te percentile do 85 - te percentile
Prekomjerni	Od 85 - te do 95 - te percentile
Pretili	Jednak ili veći od 95 - te percentile

### **1.3. EPIDEMIOLOGIJA DEBLJINE**

Prekomjerna tjelesna težina i pretilost ubrajaju se u najvažnije javno-zdravstvene izazove širom svijeta. Tako je SZO uključila pretilost u deset vodećih rizičnih čimbenika za razvoj bolesti na globalnoj razini (10, 11).

Također, SZO ističe kako je pretilost poprimila epidemijske razmjere jer više od milijardu odraslih ljudi ima prekomjernu tjelesnu težinu i najmanje 300 milijuna ljudi su pretili (11, 12).

Prevalencija pretilosti značajno se razlikuje u različitim dijelovima svijeta.



Dramatični porast prevalencije pretilosti u svijetu najviše je izražen na Bliskom istoku i Pacifiku te u Jugoistočnoj Aziji i Kini (13). U Kini je u razdoblju od 1981. do 1985. godine 1.8 % djece imalo prekomjernu težinu i 0.4 % djece bilo je pretilo. Novija istraživanja koja obuhvaćaju razdoblje od 2006. do 2010. godine pokazuju da je 13.1 % djece u Kini imalo prekomjernu težinu dok je 7.5 % djece bilo pretilo (14). To predstavlja godišnji porast od 8.3 % za prekomjernu težinu i 12.4 % za pretilost (14).

Prema periodičnim nacionalnim istraživanjima zdravlja i prehrane (*National Health and Nutrition Examination Survey – NHANES*) u Sjedinjenim Američkim Državama broj pretilih djece i adolescenata u razdoblju od 2009. do 2010. godine iznosio je 16.9 %, dok je 16.5 % imalo prekomjernu tjelesnu težinu (15). Prema izvješću iz tog perioda nije bilo statistički značajnog porasta pretilih djece u usporedbi s razdobljem od 2007. do 2008. godine kada se bilježi porast prekomjerne težine i pretilost kod djece u populaciji SAD-a (15).

Prevalencija u Europi prema Brugu i suradnicima u sedam europskih zemalja (Grčkoj, Mađarskoj, Sloveniji, Španjolskoj, Belgiji, Nizozemskoj i Norveškoj) na uzorku od 7234 djece pokazalo je sljedeće rezultate: 25.8 % dječaka ima prekomjernu težinu dok je pretilih 5.4 % dječaka te 21.8 % djevojčica s prekomjernom težinom i 4.1 % pretilih djevojčica (16).

U Hrvatskoj još nema sustavnih nacionalnih istraživanja o učestalosti pretilosti, pogotovo u dječjoj dobi (17). Istraživanja dostupna u domaćoj literaturi su lokalnog karaktera i također neujednačena po izboru dijagnostičkih kriterija. Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) o stanju uhranjenosti školske djece u dobi od 7 do 14 godina, gdje je korišten antropometrijski indeks tjelesne mase za dob, u razdoblju od 2000. do 2005. godine povećanu tjelesnu težinu imalo je 23 % ispitanika, dok je 7.2 % bilo pretilo (17, 18). Prema Antonić - Degaču i sur. povećani rizik za razvoj pretilosti unutar dobne skale od 7 do 15 godina u Hrvatskoj postoji 11.2 % dječaka i 9.8 % djevojčica s povećanom tjelesnom masom, dok je pretilo 5.7 % dječaka i 5.4 % djevojčica (18).

Istraživanje provedeno 2003. godine u Trogiru pokazalo je rezultate promatrane populacije djevojčica u dobi od 11 godina. Rezultati istraživanja su sljedeći: u

populaciji djevojčica 5.3 % je pretilih i 13.6 % rizično za razvoj pretilosti, dok je u populaciji dječaka 7.1 % pretilih i 15.5 % rizično za razvoj pretilosti (17).

#### 1.4. PATOFIZIOLOGIJA DEBLJINE

Patofiziologija pretilosti uvjetovana je povećanom količinom energije koja se zadržava u organizmu te se u obliku masti skladišti u masnim stanicama. Postoji vrlo jednostavna formula koja opisuje taj proces, a temelji se na prvom zakonu termodinamike: unos energije, određen unosom prehrambenih namirnica, umanjen za potrošnju energije jednak je energiji koja ostaje uskladištena u organizmu. Kada u navedenoj formuli dođe do neravnoteže, tj. kada je unos povećan, a potrošnja smanjena, količina energije koja se zadržava u organizmu je povećana i skladišti se u obliku masti u masnim stanicama. Energetska ravnoteža i unos energije određeni su naime različitim čimbenicima; uz fiziološke i kulturološke faktore, oni su hormonski i neurološki uvjetovani, tj. regulirani osjetom gladi.

Regulacija osjeta gladi složen je proces u kojem dolazi do međudjelovanja periferije, tj. hormonski aktivnih masnih stanica i centra za glad u hipotalamusu. Kada je masna stanica prepunjena trigliceridima, iz nje se luče različiti peptidi nazvani adipokinima. Peptidni hormon leptin jedan je od najbolje ispitanih adipokina koji se dovode u vezu s pretilošću (19 - 22), a ima sposobnost prelaska krvno-moždane barijere. Leptin smanjuje osjet gladi, ali i izaziva lučenje niza drugih peptida. Uz leptin postoji niz drugih peptida, kao što su adiponektin, rezistin, grelin, faktor nekroze tumora-alfa (engl. *tumor necrosis factor-alpha*, TNF -  $\alpha$ ), interleukini 1 i 6 (IL - 1 i IL - 6), angiotenzinogen i inhibitor plazminogen aktivatora - 1 (PAI - 1) za koje se također smatra da su regulatori metaboličkih procesa i unosa hrane. Spomenute tvari potječu iz bijelog adipoznog tkiva i imaju bitnu ulogu u homeostazi i važnim fiziološkim procesima.

Pretilost je na razini patofizioloških zbivanja usko povezana s nizom mehanizama koji presudno utječu na razvoj pojedinih poremećaja. Adipociti pretilih osoba imaju manju

gustoću inzulinskih receptora i veću gustoću beta - 3 - adrenergičkih receptora zbog čega dolazi do povećane lipolize iz tog područja. Pritom se oslobađaju masne kiseline, koje su pak nizom mehanizama povezane s patološkim procesima debljine. Dolazi primjerice do sljedećih procesa: povećanog stvaranja slobodnih kisikovih radikala; smanjenog klirensa inzulina koji pak dovodi do hiperinzulinemije i smanjene inzulinske osjetljivosti; sinergističkog djelovanja IL - 6 i TNF -  $\alpha$  te indukcije apoptoze u  $\beta$  - stanicama gušterače. Dodatno, povećan dotok slobodnih masnih kiselina u jetra uzrokuje povećanu sintezu triglicerida i hiperlipoproteinemiju. Svi nabrojani procesi objedinjeni su pojmom lipotoksičnosti. Tako disfunkcija adipoznog tkiva i lipotoksičnost čine dva povezana mehanizma važna za razjašnjenje razvoja inzulinske rezistencije i proupalno stanje prisutno u pretilih bolesnika.

Osim toga, u pretilih osoba, uz kroničnu, tinjajuću i generaliziranu upalu, dolazi i do razvoja disfunkcije endotelnog sloja stanica. Pretilost također, navedenim mehanizmima i potičući pridružena stanja rezistencije tkiva na inzulin te visoke sklonosti zgrušavanju krvi, dovodi do razvoja aterosklerotske tromboembolijske bolesti koja se klinički najčešće manifestira akutnim srčano-žilnim poteškoćama. Stanje pretjerane uhranjenosti posredno djeluje i na razvoj važnih kliničkih događaja potičući razvoj aterogene dislipidemije s visokim ukupnim LDL kolesterolom (engl. *low density lipoproteins*, LDL) te niskim protektivnim HDL kolesterolom (engl. *high density lipoproteins*, HDL), razvoj arterijske hipertenzije, urične dijateze i šećerne bolesti tipa 2.

## 1.5. INTERLEUKIN 6

Citokini su velika i raznolika skupina proteina male molekulske mase koje u malim količinama sintetizira većina stanica tijela. Ipak, većinu citokina izlučuju makrofagi i pomoćnički limfociti T (Th). Djeluju kao posrednici i regulatori imunskih i brojnih drugih fizioloških procesa organizma. Djeluju lokalno (autokrino ili parakrino) te na udaljena tkiva (endokrino). S obzirom na funkciju i podrijetlo dijele se u limfokine (izlučuju ih aktivirani limfociti), interleukine (izlučuju ih leukociti - djeluju na druge leukocite), interferone, kemokine (djeluju kemotaktički) i čimbenike rasta (23).

IL - 6 jedan je od nekoliko proupalnih citokina za koje se pretpostavlja da imaju ulogu u razvoju inzulinske rezistencije. Cirkulira kao glikolizirani protein mase 22 – 27 kDa i varijabilne je strukture (24). Pokazuje pleiotropne učinke na različita tkiva, uključujući stimulaciju sinteze proteina akutne faze, aktivaciju osi hipotalamus - hipofiza te termogenezu (25).

Sudjelovanje IL - 6 kao posrednika upale te kao citokina induciranog stresom zaslužuje poseban interes istraživača (26, 27). Tijekom akutne upale IL - 6 može pridonijeti započinjanju imunskog odgovora, a pri kroničnoj upali može povećati infiltrat mononuklearnih stanica, potičući time proizvodnju kemokina (28).

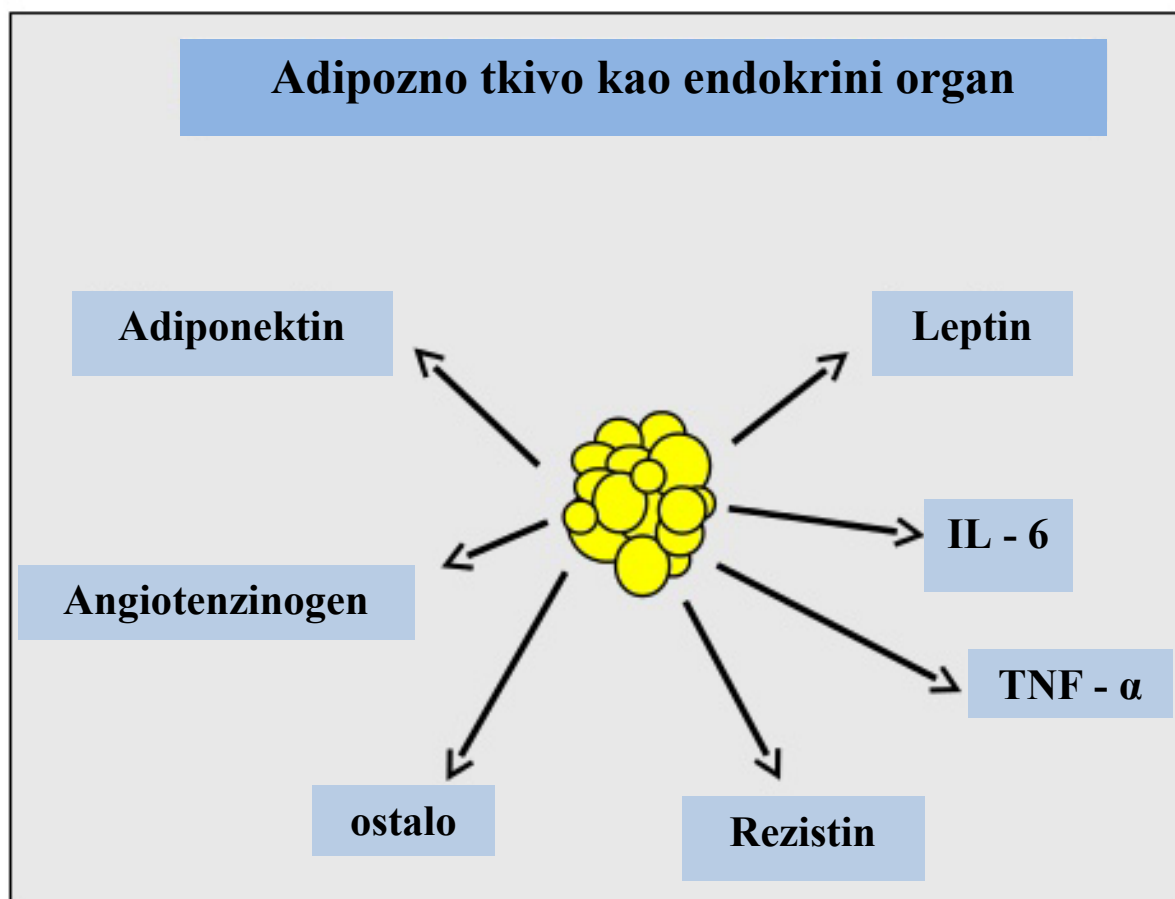
Proupalna uloga koju ima IL - 6 te učinak na razvoj kardiovaskularnih bolesti zasnovani su na podatku o povećanoj proizvodnji IL - 6 (29). Brza i trajna proizvodnja IL - 6, zajedno s popratnim povišenjem koncentracije receptora IL - 6R i gp130, podupire sudjelovanje u lokalnoj upalnoj kaskadi pri ishemiji srca (30). IL - 6 ima dokazan proupalni učinak, djelujući samostalno i putem povišenja razine drugih proupalnih posrednika, poput IL - 1 i TNF -  $\alpha$ , pri čemu su sva tri citokina uključena u aterogenezu (31). IL - 6 je važna veza između pretilosti, upale, aterotromboze i kardiovaskularnih bolesti. Otprilike 30 % ukupne količine cirkulirajućih IL - 6 potječe iz masnog tkiva (29, 32). Masne stanice omentuma izlučuju više IL - 6 nego masne stanice potkožnoga masnog tkiva (32). Interleukin 6 iz masnih stanica pod utjecajem je djelovanja TNF -  $\alpha$ , glukokortikoida i katekolamina (25, 32). Iako TNF -  $\alpha$ , noradrenalin, izoprenalin i aktivacija  $\beta$  - adrenergičnih receptora potiču gensku ekspresiju i stvaranje IL - 6, deksametazon izrazito koči njegovu proizvodnju (25, 29).

Danas je poznato da pretilost povisuje koncentraciju desetak proupalnih citokina u krvi, među kojima je i IL - 6, te prokoagulacijske proteine. Sposobnost cirkulirajućih koncentracija nekih čimbenika poput IL - 6, adiponektina i CRP - a da pretkažu razvoj komplikacija vezanih uz pretilost u prospektivnim studijama upućuje na ulogu upale u razvoju komplikacija vezanih uz pretilost (33, 34, 35).

Iako još nije tako dobro definirana uloga sekrecijskih upalnih čimbenika podrijetlom iz masnih stanica, prospektivna klinička istraživanja pokazala su da uloga koncentracija IL - 6 i IL - 1 može zajedno s indeksom tjelesne mase biti dobar pokazatelj razvoja dijabetesa (33, 36).

Istraživanja u uvjetima *in vitro* pokazuju da stanice masnog tkiva koje okružuje limfne čvorove reagiraju jače na djelovanje TNF -  $\alpha$ , IL - 4, IL - 6, a vjerojatno i na još neke (37). Otkriveno je da je koncentracija IL - 6 oko sto puta viša u intersticijskoj tekućini potkožnoga masnog tkiva nego u plazmi, što upućuje na parakrinu ulogu u masnom tkivu (38).

IL - 6 se otpušta prilikom kontrakcije skeletnog mišića, što uzrokuje povišenje koncentracije u serumu i do 100 puta (39). IL - 6 povećava proizvodnju glukoze u jetri ljudi, a neka istraživanja upućuju na zaključak da IL - 6 koji se otpusti iz mišića prilikom vježbanja pridonosi proizvodnji glukoze u jetri. Djelovanje IL - 6 suprotno je djelovanju inzulina u jetri, pretjerano lučenje IL - 6 može imati važnu ulogu u nastanku inzulinske rezistencije. Gubitak tjelesne mase znatno snižava koncentracije IL - 6 u masnom tkivu i serumu (40).



Slika 2. Adipozno tkivo kao endokrini organ

(izvor: [www.slideshare.net](http://www.slideshare.net) – tekst u slobodnom prijevodu)

## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Temeljem dosadašnjih znanstvenih saznanja i pretraživanja dostupne literature o pretilosti i njenim posljedicama u odraslih, može se uočiti postojanje uzročno-posljedične veze količine masnog tkiva i koncentracije adipokina u organizmu. Navedena uzročno-posljedična veza nije u potpunosti ispitana u djece i adolescenata.

Cilj ovog rada je analizirati povezanost antropometrijskih (opsega struka i bokova, tjelesna visina i masa, ITM, sistolički i dijastolički arterijski tlak) i metaboličkih parametara (glukoza, inzulin, kolesterol, trigliceridi, HDL i LDL) te koncentracije upalnog biljega IL - 6 u pretile djece u usporedbi s djecom koja su primjereno uhranjena za svoju dob i spol.

Za pretpostaviti je da je u pretilih odraslih, ali i u pretile djece i adolescenata koncentracija IL - 6 u krvi povećana, zbog endokrine funkcije adipoznog tkiva koji luči citokine, a samim time i IL - 6.

Hipoteza je da je koncentracija IL - 6 povećana kod pretile djece u odnosu na djecu koja su primjereno uhranjena za svoju dob i spol.

## **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. ISPITANICI**

Ova studija predstavlja presječno istraživanje koncentracije leptina i adiponektina te polimorfizam gena za adiponektin i leptinski receptor kod ispitanika (pretila djece i adolescenata) i kontrolne skupine (normalno uhranjene djece i adolescenata) odobreno na sjednici Etičkog povjerenstva KBC Split. Roditelji svih maloljetnika sudionika su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje, dok su sami sudionici bili upoznati s protokolom studije.

Ispitanici su djeca i adolescenti u dobi od 10 do 17 godina (N = 30), koji se liječe na Klinici za dječje bolesti KBC Split zbog prekomjerne težine i / ili pretilosti, a udovoljavaju sljedećim uvjetima: ITM iznad 90. percentile za dob i spol po smjernicama Hrvatskog pedijatrijskog društva te ne boluju od drugih kroničnih bolesti (poput dijabetesa, primarnog hipotirodizma) ili je njihova pretilost sindromska kao kod Downovog ili Prader - Wilijevog sindroma.

Kontrolnu skupinu čine djeca i adolescenti u dobi 10 - 17 godina, približno jednako raspodijeljeni po spolu kao i u ispitivanoj skupini, koji ne boluju od nikakvih endokrinih, kardiovaskularnih, gastrointestinalnih i renalnih kroničnih bolesti te imaju ITM između 5. i 90. percentile za dob i spol po smjernicama Hrvatskog pedijatrijskog društva.

## **3.2. METODE**

### **3.2.1. ANTROPOMETRIJA**

Prije antropometrijskih mjerenja i venepunkcije, izvršen je fizikalni pregled sudionika i uzeta detaljna osobna i obiteljska anamneza. Potom se ispitanicima izmjerila visina na Harpenden stadiometru, a kao konačna vrijednost uzeta je aritmetička sredina triju mjerenja u razmaku od pet minuta. Vrijednost tjelesne mase dobivene u laganoj odjeći i bez obuće na analognoj vagi preciznosti 0.1 kg. Indeks tjelesne mase izračunat je po standardnoj formuli omjera tjelesne težine u kilogramima i visine u metrima na kvadrat te percentilima i korigiran z - vrijednošću. Obujam struka i bokova izmjeren je neelastičnom metarskom vrpcom neposredno iznad gornje ilijačne kriste i pubične simfize. Sistolički i dijastolički krvni tlak prikazani su kao srednja vrijednost triju uzastopnih mjerenja u trima položajima: ležećem, sjedećem i stojećem. Sva mjerenja izvršena su na Klinici za dječje bolesti KBC Split.

### **3.2.2. LABORATORIJSKI TESTOVI**

Laboratorijski testovi provedeni su na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC - a Split.

Venepunkcijom su nakon noćnog gladovanja uzeti uzorci krvi za analizu ispitivanih parametara. Odmah po prikupljanju, uzorci su centrifugirani. Zatim je iz njih izdvojen serum u kojem su određene koncentracije: glukoze natašte, ukupnog kolesterola, LDL - a, HDL - a i triglicerida. Za određivanje spomenutih analita korištene su preporučene metode prema dokumentu „Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalne i visokodiferentne medicinske biokemije“ (Dokument izdala Hrvatska komora medicinskih biokemičara, Medicinska naklada, Zagreb 2007).

#### **Metode određivanja pojedinih analita:**

Glukoza – fotometrija UV s heksokinazom

Kolesterol – fotometrija s kolesterol-oksidadom



HDL – homogena enzimaska metoda s modificiranim polietilenglikolom (PEG) i alfa-ciklodekstran-sulfatom.

LDL – računski prema Friedewaldu ako je koncentracija triglicerida manja od 4,6 mmol/L i ako nisu prisutni hilomikroni:  $LDL = \text{kolesterol} - \text{trigliceridi} / 2,2 - HDL$

Trigliceridi – fotometrija UV Trigliceridi – Fotometrijska UV metoda.

Inzulin natašte mjeren je elektrokemiluminescentnom imunometodom „ECLIA“ (*Elecsys Insulin MCE on Elecsys 6000 analyzers, Roche, Germany*; linearnosti 0.200 mU / L).

### **3.2.3. IMUNOKEMIJSKA METODA**

Krv za određivanje IL - 6 uzorkovana je u standardnu biokemijsku epruvetu bez antikoagulansa. Nakon centrifugiranja iz izdvojenog seruma, mjerene su koncentracije IL - 6 elektrokemiluminiscentnom imunometodom „ECLIA“ (*Elecsys Insulin MCE on Elecsys 6000 analyzers, Roche, Germany*). Prije izvođenja analize svakodnevno su kontrolirani reagens i analizator u dvije razine kontrole. U slučaju neadekvatnih vrijednosti kontrola pristupilo se postupku kalibracije s komercijalno dostupnim standardima točno poznatih koncentracija. Nakon provedene kalibracije ponovljen je postupak kontroliranja reagensa i analizatora.

Analizu je potrebno izraditi u što kraćem vremenu jer je IL - 6 nestabilan analit.

Princip: sendvič metoda

Vrijeme trajanja testa: 18 minuta

Linearnost: 1.5 - 5000 pg / mL

### **3.2.4. STATISTIČKA OBRADA REZULTATA**

Statističke analize provedene su koristeći statistički paket MedCalc za Windows, verzija 11.5.1.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija). Kontinuirani podatci prikazani su kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija, dok su kategorijske varijable prikazane kao cijeli brojevi i postotci. Za procjenu distribucije podataka korišten je Kolmogorov - Smirnovljev test. Za analizu između ispitivane i kontrolne skupine korišten je Studentov t - test. Statistička značajnost postavljena je pri  $P < 0.05$ .

## 4. REZULTATI

Tablica 2. Antropometrijska obilježja ispitivane pretilo djece i kontrolne skupine

(N = 30)

Varijabla	Ispitivana skupina (N = 30)	Kontrolna skupina (N = 30)	P*
Dob (god / dec) <sup>†</sup>	13.1 ± 2.19	13.08 ± 2.24	0.948
ITM <sup>§</sup> (kg / m <sup>2</sup> ) <sup>†</sup>	30.3 ± 6.2	20.1 ± 3.6	< 0.001
ITM <sup>§</sup> (percentile) <sup>†</sup>	98 ± 2.2	58 ± 23.1	< 0.001
ITM <sup>§</sup> (z - vrijednost) <sup>†</sup>	2.2 ± 0.6	0.2 ± 0.7	< 0.001
Opseg struka (cm) <sup>†</sup>	99.1 ± 12.4	69.7 ± 9.21	< 0.001
Opseg bokova (cm) <sup>†</sup>	109.3 ± 12.4	86.9 ± 9.25	< 0.001
Opseg struka / Opseg boka	0.81 ± 0.08	0.81 ± 0.05	< 0.001
Tjelesna masa (kg) <sup>†</sup>	84.1 ± 16.9	55.2 ± 16.6	< 0.001
Tjelesna visina (cm) <sup>†</sup>	168.1 ± 12.4	166.3 ± 14.9	0.516
Sistolički arterijski tlak (mm Hg) <sup>†</sup>	121.2 ± 13.3	108.1 ± 9.2	< 0.001
Dijastolički arterijski tlak (mm Hg) <sup>†</sup>	70.1 ± 8.6	69.9 ± 9.9	0.868
Spol (m / ž) <sup>  </sup>	15 / 15	15 / 15	1.000

\*  $P < 0.05$  se smatra statistički značajno.

<sup>†</sup> Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

<sup>§</sup> ITM – indeks tjelesne mase

|| Rezultati su prikazani kao apsolutna brojčana vrijednost

U ispitivanoj i kontrolnoj skupini odnos muških i ženskih ispitanika je 50 : 50 što ukazuje na ravnopravnu raspodjelu među ispitanicima i kontrolama po spolu ( $P = 1.000$ ).

Dob ispitanika je  $13.1 \pm 2.19$  godina zbog čega je i dob sudionika u kontrolnoj skupini sukladna i iznosi  $13.08 \pm 2.24$  te ne pokazuje statistički značajnu razliku ( $P = 0.948$ ).

Vrijednosti koje također ne pokazuju statistički značajnu razliku su: dijastolički arterijski tlak u mm Hg ( $P = 0.868$ ) i tjelesna visina ( $P = 0.516$ ).

Antropometrijske mjere (ITM u  $\text{kg} / \text{m}^2$ , percentilima i z - vrijednosti, opseg struka i bokova u centimetrima i sistolički arterijski tlak u mm Hg) ispitivane grupe djece i adolescenata pokazuju statistički značajnu razliku u usporedbi s djecom i adolescentima kontrolne grupe ( $P < 0.001$ ).

Tablica 3. Rezultati analize metabolizma glukoze i lipidograma ispitivane pretile

djece i kontrolne skupine (N = 30)

Varijabla	Ispitivana skupina (N = 30)	Kontrolna skupina (N = 30)	<i>P</i> *
<b>Glukoza natašte (mmol / L)<sup>‡</sup></b>	4.96 ± 0.51	5.01 ± 0.66	0.814
<b>Inzulin natašte (mU / L)<sup>‡</sup></b>	19.96 ± 11.4	10.12 ± 3.67	< 0.001
<b>Ukupni kolesterol (mmol / L)<sup>‡</sup></b>	4.12 ± 0.86	4.08 ± 0.69	0.615
<b>LDL<sup>**</sup> (mmol / L)<sup>‡</sup></b>	2.1 ± 0.78	2.1 ± 0.76	0.739
<b>HDL<sup>††</sup> (mmol / L)<sup>‡</sup></b>	1.11 ± 0.31	1.49 ± 0.36	< 0.001
<b>Trigliceridi (mmol / L)<sup>‡</sup></b>	1.12 ± 0.51	0.69 ± 0.36	< 0.001

\*  $P < 0.05$  se smatra statistički značajno.

‡ Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

\*\*LDL, lipoprotein niske gustoće

†† HDL, lipoprotein visoke gustoće

U tablici 3. prikazani su rezultati analize metabolizma glukoze i lipidograma ispitivane skupine pretile djece i kontrolne skupine.

Koncentracija inzulina natašte u mU / L, HDL i triglicerida u mmol / L, pokazuju statistički značajnu razliku među skupinama ( $P < 0.001$ ), dok glukoza natašte, ukupni kolesterol i LDL u mmol / L, nisu pokazali statistički značajne razlike ( $P = 0.814$ ,  $P = 0.615$ ,  $P = 0.739$ ).

Tablica 4. Rezultati analize koncentracije IL - 6 ispitivane pretile djece i kontrolne skupine (N = 30)

<b>Varijabla</b>	<b>Ispitivana skupina (N = 30)</b>	<b>Kontrolna skupina (N = 30)</b>	<b><i>P</i>*</b>
<b>IL - 6 (pg / mL)†</b>	2.21 ± 0.81	1.56 ± 0.53	0.039

\*  $P < 0.05$  se smatra statistički značajno.

† Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

Razina IL - 6 pokazuje statistički značajnu razliku među skupinama ( $P = 0.039$ )

## 5. RASPRAVA

Iz naših rezultata moglo bi se zaključiti da su hiperinzulinemija, inzulinska rezistencija, dislipidemija, arterijska hipertenzija i povećana koncentracija upalnih biljega vrlo česti u pretilo djece kako u svijetu tako i u Hrvatskoj.

U svjetlu činjenice da je pretilost sve češći problem u pedijatrijskoj populaciji te da su ovi patološki procesi usko vezani uz razvoj aterosklerotske kardiovaskularne bolesti, što predisponira sve ranije nastanak kardiovaskularnih incidenata, ističemo metaboličke i upalne abnormalnosti u pretilo djece kao važan javno - zdravstveni problem.

Zabrinjava i podatak dobiven istraživanjem iz 2005. godine gdje je pretilo bilo 7.2 % djece (18).

Danas je zasigurno taj postotak i veći jer je prevalencija pretilosti sve veća u ranijoj životnoj dobi.

Između ostalog problem je i u nerazumijevanju od strane odgovornih iz zdravstvenog sustava u provođenju mjera sprječavanja pretilosti kao javno - zdravstvenog problema. Primjerice, već postoje prijedlozi za smanjenjem broja sati tjelesne kulture u tijeku školovanja s 2 na 1 sat tjedno.

Naglašavamo i nužnost velike populacijske studije za utvrđivanje stvarne prevalencije pretilosti u djece u Hrvatskoj te donošenje jedinstvenih mjera promjene načina života i terapijskih mjera kako bi ih „spasili“ da ne postanu pretili odrasli.

Zbog ograničenog broja uzoraka na temelju dobivenih rezultata ovog rada nemoguće je točno definirati čimbenike predispozicije nastanka kardiovaskularnih incidenata i upalnih abnormalnosti.

Limit ove studije je mali broj uzoraka koji samo može pokazivati trend i potrebno ga je potvrditi na većem populacijskom istraživanju.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Potvrđena je pretpostavka da je kod pretile djece i adolescenata koncentracija IL - 6 u krvi povećana.
2. Imunokemijska metoda za analizu uzoraka seruma u pretile djece dovoljno je osjetljiva i specifična.
3. Iako smo dobili potvrdne rezultate naše hipoteze, znamo da je patogeneza pretilosti kompleksna, te je zbog toga potrebno provoditi dodatne studije s većim brojem ispitanika uključenih u ispitivanu i kontrolnu skupinu.



## 7. LITERATURA

1. Jelčić J, Baretić M, Koršić M. 4. smjernice o dijagnostici i liječenju debljine. Liječnički vjesnik 2010; 132:269 - 271.
2. James W P T. WHO recognition of the global obesity epidemic. Int J Obesity 2008; 32:S120 - S126.
3. Ružić A, Peršić V. Pretilost - milenijska prijetnja: tvrdokorna pandemijska bolestbmodernoga društva. U: Pokrajac - Bulian A, urednik. Pretilost - spremnost za promjenu načina življenja. Jastrebarsko: Naklada Slap, 2011: 13 - 25.
4. Bralić I, Jovančević M, Predavec S, Grgurić J. Pretilost djece – novo područje multidisciplinarnog preventivnog programa. Peadiatr Croat. 2010; 54.
5. Zdravković D. Gojaznost i metabolički sindrom kod djece i adolescenata. Pedijatrija danas. 2009; 5(2):132 - 141.
6. Ille J. Metabolički sindrom u djece i adolescenata. Paediatr Croat. 2008; 52(supl 1) : 52 / 6
7. Dietz WH, Robinson TN. Use of body mass index as a measure of overweight in children and adolescents. J Pediatr 1998; 132 : 191.7
8. James PT, Leach R, Kalamara E et al. The worldwide obesity epidemic. Obes Res. 2001; 9 : 228 - 33.
9. Barloe SE, Dietz WH. Obesity evaluation and treatment: expert committee recommsndations. Pediatrics. 1998; 102 - 29.
10. World Health Organization. Reducing Risks, Promoting Healthy Life. The World Health Report. Geneva: World Health Organization; 2002.
11. Kolčić I. Doktorska disertacija: Populacijsko - genetičke i okolišne odrednice metaboličkog sindroma u populaciji otoka Visa. Medicinski fakultet u Zagrebu. 2009.
12. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series, No. 894. Geneva; 2000.
13. Haidar YM, Cosman BC. Obesity epidemiology. Clin Colon Rectal Surg. 2011; 24 (4) : 205 - 10.

14. Yu Z, Han S, Chu J, Xu Z, Zhu C, Guo X. Trends in overweight and obesity among children and adolescents in China from 1981 to 2010: a meta-analysis. *Plos ONE* 2012; 7 (12) : e51949.
15. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of obesity and trends in body mass index among US children and adolescents, 1999 - 2010. *JAMA*. 2012; 307 (5) : 483 - 490.
16. Brug J, van Stralen MM, te Velde SJ, Chinnapaw MJM, Bourdeaudhuij ID, Lien N et al. Differences in weight status and energy-balance related behaviours among schoolchildren across Europe: the ENERGY - project. *Plos One*. 2012; 7( 4) : e34742.
17. Bralić I, Jovančević M, Predavec S, Grgurić J. Pretilost djece – novo područje multidisciplinarnog preventivnog programa. *Peadiatr Croat*. 2010 ; 54.
18. Hrvatski zdravstveno statistički ljetopis za 2006. godinu. Zagreb, HZJZ 2007; 296 - 7.
19. Friedman J M. Leptin and the regulation of body weight. *Harvey Lect* 1999; 95 : 107 - 136.
20. Friedman J M. The function of leptin in nutrition, weight, and physiology. *Nutr Rev* 2002; 60 (10 Pt 2) : S1 - 14.
21. Halaas J L, Gajiwala K S, Maffei M, Cohen S L, Chait B T, Rabinowitz D i sur. Weightreducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269 (5223) : 543 - 546.
22. Pelleymounter M A, Cullen M J, Baker M B, Hecht R, Winters D, Boone T i sur. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269 (5223) : 540 - 543.
23. Lippitz BE (2013) Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol* 14:e218-28.
24. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89 : 447 – 52.
25. Fruhbeck G, Gomez - Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280 : E827 – 47.
26. Granger JP. Inflammatory cytokines, vascular function, and hypertension. *Am*

- J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2004; 286 : R989 – 90.
27. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115 : 911 – 9.
  28. Kaplanski G, Marin V, Montero - Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL - 6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol* 2003; 24 : 25 – 9.
  29. Fruhbeck G. The adipose tissue as a source of vasoactive factors. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2004; 2 : 197 – 208.
  30. Chandrasekar B, Mitchell DH, Colston JT, Freeman GL. Regulation of CCAAT / Enhancer binding protein, interleukin - 6, interleukin - 6 receptor, and gp130 expression during myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation* 1999; 99 : 427 – 33.
  31. Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology* 2003; 144 : 2195 – 200.
  32. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin - 6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 : 847 – 50.
  33. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL i sur. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 2002; 360 : 57 – 8.
  34. Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ i sur. West of Scotland Coronary Prevention Study. C - reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes* 2002;51 : 1596 – 600.
  35. Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Insulin Resistance Atherosclerosis Study. Elevated levels of acute - phase proteins and plasminogen activator inhibitor - 1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002; 51 : 1131 – 7.
  36. Spranger J, Kroke A, Mohlig M i sur. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population - based European

Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) - Potsdam Study.  
Diabetes 2003;5 2 : 812 – 7.

37. Mattacks CA, Pond CM. Interactions of noradrenalin and tumour necrosis factor alpha, interleukin 4 and interleukin 6 in the control of lipolysis from adipocytes around lymph nodes. Cytokine 1999; 11 : 334 – 46.
38. Sopasakis VR, Sandqvist M, Gustafson B i sur. High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator. Obes Res 2004; 12 : 454– 60.
39. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle - derived interleukin - 6: mechanisms for activation and possible biological roles. FASEB J 2002; 16 : 1335 – 47.
40. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E i sur. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85 : 3338 – 42.

## 8. SAŽETCI

### 8. 1. SAŽETAK

CILJ: Pretilost ili debljina kronična je endokrino-metabolička bolest karakterizirana prekomjernim nakupljanjem suvišne energije u masnom tkivu. Pretilost je poprimila epidemijske razmjere u odraslih, ali i u djece i adolescenata te predstavlja važan javno-zdravstveni problem i rizik za razvoj kroničnih bolesti, ponajprije krvožilnih poremećaja, dijabetesa i dislipidemije. Cilj ovoga rada bio je ispitati povezanost debljine i koncentracije interleukina 6 (IL - 6) u serumu.

MATERIJALI I METODE: Studija predstavlja presječno istraživanje slučajeva i kontrola usporedbom ispitivane grupe od 30 pretilih djece i adolescenata ( $13.1 \pm 2.19$ ) s kontrolnom skupinom od 30 djece normalne težine usklađene dobi ( $13.08 \pm 2.24$ ). Odnos muških i ženskih ispitanika i u kontrolnoj i u ispitivanoj skupini je 50 : 50. U obje skupine izmjeren je indeks tjelesne mase (ITM) i opseg struka i bokova te sistolički i dijastolički krvni tlak. Izmjereni su i standardni metabolički parametri (glukoza natašte, ukupni kolesterol, HDL, LDL i trigliceridi) standardiziranim metodama. Koncentracija inzulina natašte i IL - 6 mjereni su elektrokemiluminiscentnom imunometodom "ECLIA".

REZULTATI: Antropometrijske mjere (ITM u  $\text{kg} / \text{m}^2$ , percentilima, z - vrijednosti, opseg struka i bokova u centimetrima i sistolički arterijski tlak u u mmHg) ispitivane grupe i adolescenata pokazuju statistički značajnu razliku u usporedbi s djecom i adolescentima kontrolne grupe ( $P < 0.001$ ).

Koncentracija inzulina natašte u  $\text{mU} / \text{L}$ , HDL i triglicerida u  $\text{mmol} / \text{L}$ , pokazuju statistički značajnu razliku među skupinama ( $P < 0.001$ ), dok glukoza natašte, ukupni kolesterol i LDL u  $\text{mmol} / \text{L}$ , nisu pokazali statistički značajne razlike ( $P = 0.814$ ,  $P = 0.615$ ,  $P = 0.739$ ).

Serumska koncentracija IL - 6 ispitivane skupine ( $2.21 \pm 0.81 \text{ pg} / \text{mL}$ ) i kontrolne skupine ( $1.56 \pm 0.53 \text{ pg} / \text{mL}$ ) pokazuje statistički značajnu razliku među skupinama ( $P = 0.039$ ).

ZAKLJUČCI: Studija potvrđuje veću koncentraciju IL - 6 u ispitivanoj skupini pretila djece. Rezultati pokazuju da je imunokemijska metoda za analizu uzoraka seruma pretila djece dovoljno osjetljiva i specifična. Budući da je patogeneza pretilosti kompleksna potrebno je provoditi dodatne studije s većim brojem ispitanika uključenih u ispitivanu i kontrolnu skupinu.

## 8. 2. SUMMARY

**OBJECTIVE:** Obesity or corpulence is a chronic endocrine-metabolic disease characterized by excessive accumulation of redundant energy in fat tissue. Obesity achieved an epidemic scope in adults, but also in children and adolescents and it represents an important public health problem, and presents the risk of developing chronic diseases, primarily cardiovascular disorders, diabetes and dyslipidemia. The objective of this study was to examine the connection between obesity and the concentration of interleukin 6 (IL-6) in the serum.

**MATERIALS AND METHODS:** The study represents a cross-sectional investigation of cases and controls by comparing the test group of 30 obese children and adolescents ( $13.1 \pm 2.19$ ) with a control group of 30 children with normal weight and with matched age ( $13.08 \pm 2.24$ ). The ratio of male and female subjects in both the control and the investigated group was 50:50. Body mass index (BMI), waist and hip circumferences, and systolic and diastolic blood pressure were measured in both groups. Standard metabolic parameters (fasting plasma glucose, total cholesterol, HDL, LDL, and triglycerides) were also measured by standardized methods. Fasting insulin concentration and IL-6 were measured by the electrochemiluminescent immuno-method „ECLIA“.

**RESULTS:** Anthropometric measures (BMI in  $\text{kg} / \text{m}^2$ , percentiles, z- values, waist and hips circumferences in centimetres, and arterial blood pressure in mmHg) of the investigated group and the adolescents, show a statistically significant difference when compared with children and adolescents of the control group ( $P < 0.001$ ). The concentration of fasting insulin in  $\text{mU} / \text{L}$ , HDL and triglycerides in  $\text{mmol} / \text{L}$  show a statistically significant difference between groups ( $P < 0.001$ ), while fasting glucose, total cholesterol and LDL in  $\text{mmol} / \text{L}$  did not show statistically significant differences ( $P = 0.814$ ,  $P = 0.615$ ,  $P = 0.739$ ). Serum concentration of IL-6 of the investigated group ( $2.21 \pm 0.81 \text{ pg} / \text{mL}$ ) and the control group ( $1.56 \pm 0.53 \text{ pg} / \text{mL}$ ) shows a statistically significant difference between groups ( $P = 0.039$ ).

CONCLUSIONS: The study confirms a higher concentration of IL-6 in the investigated group of obese children. The results show that the immunochemical method for analysing serum samples of obese children is sufficiently precise and specific. Since the pathogenesis of obesity is complex, it is necessary to conduct further studies that would include larger number of subjects both in the investigated and the control group.



## 9. ŽIVOTOPIS

### Opći podaci

Ime i prezime: Marija Banić

Datum rođenja: 11. listopada 1979.

Mjesto rođenja: Split

Broj mobitela: 091 568 2328

E-mail: banic.marija1@gmail.com

Rođena sam 11. listopada 1979. u Splitu. Osnovnu školu Gornja Poljica završila sam u Srijanima 1994.

1998. završila sam srednju Zdravstvenu školu u Splitu te stekla zvanje zdravstveno – laboratorijskog tehničara.

Pripravnički staž u razdoblju od kolovoza 1999. do kolovoza 2000. odradila sam u Kliničkom bolničkom centru Split. U listopadu 2000. položila sam stručni ispit u Zagrebu.

Od 2002. do 2008. zbog nemogućnosti dobivanja posla u struci koju sam završila, radila sam u restoranu Robot.

Od srpnja 2008. do danas zaposlena sam na neodređeno vrijeme u Kliničkom bolničkom centru Split, na Zavodu za medicinsko – laboratorijsku dijagnostiku.

U srpnju 2013. na Sveučilištu u Splitu, upisala sam preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijske dijagnostike.