

# Učestalost i značaj genskih polimorfizama čimbenika vaskularne homeostaze i metabolizma lipida u bolesnika s ishemijskim moždanim udarom

---

Ćelap, Ivana

Doctoral thesis / Disertacija

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:492028>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

IVANA ČELAP

**UČESTALOST I ZNAČAJ GENSKIH  
POLIMORFIZAMA ČIMBENIKA  
VASKULARNE HOMEOSTAZE I  
METABOLIZMA LIPIDA U BOLESNIKA S  
ISHEMIJSKIM MOŽDANIM UDAROM**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2019



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

IVANA ČELAP

**UČESTALOST I ZNAČAJ GENSKIH  
POLIMORFIZAMA ČIMBENIKA  
VASKULARNE HOMEOSTAZE I  
METABOLIZMA LIPIDA U BOLESNIKA S  
ISHEMIJSKIM MOŽDANIM UDAROM**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Ana-Maria Šimundić

Zagreb, 2019



Sveučilište u Zagrebu

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

IVANA ĆELAP

**THE PREVALENCE AND SIGNIFICANCE  
OF GENETIC POLYMORPHISMS OF  
VASCULAR HOMEOSTASIS AND LIPID  
METABOLISM IN ACUTE ISCHEMIC  
STROKE**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:  
Assoc. Prof. Ana-Maria Šimundić

Zagreb, 2019

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog naziva doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana medicinska biokemija.

Doktorski rad izrađen je u Kliničkom zavodu za kemiju u suradnji s Klinikom za neurologiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ana-Marije Šimundić.

## SAŽETAK

Ishemijski moždani udar je multifaktorijalna bolest koja se razvija međudjelovanjem genske osnove i okolišnih čimbenika rizika. U nastanak i razvoj moždanog udara uključeni su sustavi zgrušavanja i fibrinolize, upalnog odgovora, metabolizma lipida, regulacije krvnog tlaka. Do sada je znanstvenoj literaturi opisano više desetaka potencijalnih genskih čimbenika rizika za nastanak moždanog udara, ali je njihova pojedinačna povezanost s moždanim udarom slaba.

Ciljevi ovog istraživanja bili su ispitati: učestalost varijanti *F5 Leiden*, 20210G/A gena *F2*, V34L gena *F13A1*, -445GA gena *FGB*, 5G/4G gena *SERPINE1*, I/D gena *ACE* i -1131T/C gena *APOA5* u zdravih ispitanika i ispitanika s ishemijskim moždanim udarom; razliku u koncentraciji lipidnih parametara (ukupni kolesterol, HDL- i LDL-kolesterol i trigliceridi) i parametara upale (CRP i broj leukocita); povezanost genskih čimbenika, lipidnih parametara i parametara upale s nastankom moždanog udara.

U istraživanje je uključeno 250 ispitanika kojima je dijagnosticiran ishemijski moždani udar na osnovu kliničkog pregleda i kompjuterizirane tomografije i 100 zdravih ispitanika regrutiranih tijekom sistematskog pregleda bez podatka o cerebrovaskularnom i/ili kardiovaskularnom incidentu u osobnoj anamnezi.

Svim ispitanicima su natašte uzeti uzorci krvi za genotipizaciju i određivanje lipidnog statusa, CRP-a i broja leukocita.

Rezultati su pokazali da ispitanici s moždanim udarom imaju značajno niže koncentracije ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola i značajno više koncentracije glukoze i CRP-a te značajno veći broj leukocita u odnosu na kontrolne ispitanike. Varijanta I/D gena *ACE* povezana je s težinom moždanog udara, a varijanta -1131T/C gena *APOA5* je uz dob i pretilost neovisan čimbenik nastanka teškog ishemijskog moždanog udara. Nije pronađena razlika u učestalosti ispitivanih genskih čimbenika između ispitanika s moždanim udarom i kontrolnih ispitanika.

**Ključne riječi:** ishemijski moždani udar, genski čimbenici, lipidi, upala

## SUMMARY

**Introduction:** Stroke is a multifactorial disease developing through the complex interaction of both genetic and environmental risk factors. Initiation and progression of stroke involves disorders in coagulation cascade, fibrinolytic system, inflammatory response, lipid metabolism and blood pressure homeostasis. Until today, a large number of potential genetic risk markers have been studied but their individual association with stroke is weak. We aimed to investigate: the prevalence of *F5 Leiden*, *F2 G20210A*, *F13A1 V34L*, *FGB -455G/A*, *SERPINE1 5G/4G*, *ACE I/D* and *APOA5 -1131T/C* variants in healthy subjects and subjects with acute ischemic stroke; differences in blood lipid concentrations (total, HDL- and LDL-cholesterol and triglycerides) and inflammatory markers (CRP and white blood cell count); association of genetic variations, blood lipids and inflammatory markers with the ischemic stroke risk.

**Materials and methods:** The study included 250 consecutive subjects who were admitted to emergency department with the clinical signs of an acute ischemic stroke and 100 apparently healthy subjects, recruited during general medical examination, without known cerebrovascular and/or cardiovascular incidents in anamnesis. The consultant neurologist confirmed acute ischemic stroke by clinical examination and computerized tomography. Severity of the stroke was assessed using NIHSS score, whereas modifiable stroke risk factors were obtained by interview and/or from medical record. Blood samples for genotyping and determination of blood lipids, CRP and WBC count were drawn from all studied subjects in fasting state.

**Results:** The results have shown statistically significant difference in frequency of hypertension between subjects with stroke and healthy subjects ( $P < 0.001$ ). Similarly, frequency of diabetes mellitus in anamnesis was higher in the stroke subjects group ( $P < 0.001$ ). Concentrations of total and LDL-cholesterol were significantly lower in subjects with acute ischemic stroke ( $P < 0.001$ ), whereas concentrations of glucose, CRP and WBC were higher in healthy subjects ( $P < 0.001$ ). Atrial fibrillation was the most represented modifiable risk factor in subjects with the acute ischemic stroke (27.1 %) followed by obesity (25.8 %). Results of genotyping have shown that there was no statistically significant differences in the distribution of *F5 Leiden* ( $P = 0.769$ ), *F2 G20210A* ( $P = 0.110$ ), *F13A1 V34L* ( $P = 0.941$ ), *FGB -455GA* ( $P = 0.643$ ), *SERPINE1 5G/4G* ( $P = 0.542$ ), *ACE I/D* ( $P = 0.371$ ) and *APOA5 -1131T/C* ( $P = 0.960$ ) between control and subjects with stroke. Results of the association of biochemistry parameters and genotypes revealed statistically significant higher HDL-cholesterol ( $P < 0.005$ ) in subjects with *F5 Leiden G/G* genotype in control group, whereas no statistically significant association was found in subjects with stroke. Stroke patients with *F2 G20210A G/G* genotype have statistically

significant higher total and HDL-cholesterol ( $P = 0.018$ ) while LDL-cholesterol was higher in control subjects with G/A genotype ( $P = 0.037$ ). Further, *APOA5* T/T genotype was associated with higher HDL-cholesterol in healthy subjects ( $P = 0.005$ ). Multivariate regression analysis has shown that are: hypertension [OR 2.39 (95 % CI 1.18 – 4.87);  $P = 0.016$ ]; sex [OR 2.86 (95 % CI 1.43 – 5.69);  $P = 0.003$ ]; C-reactive protein [OR 1.04 (95% CI 1.01- 1.08);  $P = 0.017$ ]; glucose [OR 1.76 (95% CI 1.38-2.25);  $P < 0.001$ ] and white blood cell count [OR 1.37 (95 % CI 1.15 – 1.63);  $P < 0.001$ ] associated with the risk of ischemic stroke.

*ACE* variant I/D has shown association with the stroke severity according to NIHSS scale ( $P = 0.050$ ). *APOA5* variant -1131T/C [OR 3.26 (1.29 – 8.23);  $P = 0.012$ ] along with age [OR 1.06 (1.01 – 1.11);  $P = 0.018$ ] and obesity [OR 0.25 (0.08 – 0.77);  $P = 0.016$ ] are associated with the stroke severity.

**Conclusion:** Frequency of the *F5 Leiden*, *F2 G20210A*, *F13A1 V34L*, *FGB -455G/A*, *SERPINE1 5G/4G*, *ACE I/D* and *APOA5 -1131T/C* variants did not differ between control and subjects with stroke. Our study have revealed that hypertension and diabetes mellitus are more frequent in subjects with stroke. than in controls. Further, regression analysis have shown that are *APOA5 -1131T/C* variant, age and body mass index could be used as predictors for a very severe stroke ( $\text{NIHSS} \geq 21$ ).

**Keywords:** Acute ischemic stroke, genetic variants, blood lipids, inflammatory markers



## SADRŽAJ

1	UVOD .....	1
1.1	Moždani udar – definicija i klasifikacija .....	1
1.1.1	Epidemiologija .....	2
1.1.2	Patofiziologija ishemijskog moždanog udara.....	3
1.1.3	Rizični čimbenici.....	4
1.2	Genske varijante i moždani udar.....	8
1.2.1	<i>F5</i> (rs6025).....	9
1.2.2	<i>F2</i> (rs1799963).....	10
1.2.3	<i>SERPINE1</i> (rs1799768).....	10
1.2.4	<i>F13A1</i> (rs5985).....	11
1.2.5	<i>FGB</i> (rs1800790).....	12
1.2.6	<i>APOA5</i> (rs662799).....	13
1.2.7	<i>ACE</i> (rs4340).....	13
2	HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	15
2.1	HIPOTEZA.....	15
2.2	CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	16
3	MATERIJALI I METODE.....	17
3.1	ISPITANICI .....	17
3.2	NEUROLOŠKI TESTOVI.....	17
3.3	UZORCI.....	18
3.4	ODREĐIVANJE LIPIDNOG STATUSA.....	18
3.4.1	Ukupni kolesterol .....	19
3.4.2	HDL-kolesterol.....	19
3.4.3	LDL-kolesterol .....	19
3.4.4	Trigliceridi .....	19
3.5	IZOLACIJA DNA .....	20
3.6	Genotipizacija.....	20
3.6.1	Lančana reakcija polimeraze (PCR) .....	20
3.6.2	Provjera uspješnosti PCR-a.....	23
3.6.3	Analiza polimorfizma <i>ACE</i> .....	23
3.6.4	Polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata .....	23
3.7	STATISTIČKA OBRADA.....	25
4	REZULTATI .....	26
4.1	DEMOGRAFSKI PODACI ISPITANIKA .....	26
4.2	BIOKEMIJSKI I HEMATOLOŠKI PARAMETRI U ISPITIVANIM SKUPINAMA .....	28
4.3	UČESTALOST GENSKIH VARIJANTI U ISPITIVANIM SKUPINAMA.....	29
4.3.1	Učestalost genske varijante u genu <i>F5</i> (rs6025).....	29

4.3.2	Učestalost genske varijante u genu <i>F2</i> (rs1799963).....	31
4.3.3	Učestalost genske varijante u genu za <i>FGB</i> (rs1800790) .....	33
4.3.4	Učestalost genske varijante u genu za <i>SERPINE1</i> (rs1799768).....	35
4.3.5	Učestalost genske varijante u genu <i>F13A1</i> (rs5985).....	37
4.3.6	Učestalost varijante u genu <i>ACE</i> (rs4340) .....	39
4.3.7	Učestalost varijante u genu <i>APOA5</i> (rs662779) .....	41
4.4	POVEZANOST BIOKEMIJSKIH PARAMETARA I GENSKIH VARIJANTI .....	43
4.4.1	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>APOA5</i> .....	43
4.4.2	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>F2</i> .....	45
4.4.3	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>F5</i> .....	46
4.4.4	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>F13A1</i> .....	47
4.4.5	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>SERPINE1</i> .....	48
4.4.6	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>FGB</i> .....	49
4.4.7	Povezanost biokemijskih parametara i genotipova <i>ACE</i> .....	50
4.4.8	Multivarijatna logistička regresijska analiza .....	51
4.5	POVEZANOST GENSKIH VARIJANTI S OBILJEŽJIMA MOŽDANOG UDARA.....	52
4.5.1	Podaci o tipovima moždanog udara u ispitanika s moždanim udarom.....	52
4.5.2	Distribucija genskih varijanti prema tipu moždanog udara.....	53
4.5.3	Distribucija genskih varijanti u podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji.....	60
4.5.4	Distribucija genskih varijanti u podtipovima moždanog udara prema OCSF klasifikaciji.....	67
4.5.5	Povezanost genskih varijanti i težine moždanog udara prema NIHSS .....	74
4.5.6	Povezanost genskih varijanti i Barthelovog indeksa .....	82
4.5.7	Multivarijatna logistička regresijska analiza .....	83
5	RASPRAVA.....	86
6	ZAKLJUČCI .....	95
7	LITERATURA .....	96
8	POKRATE.....	110
9	ŽIVOTOPIS .....	112

# 1 UVOD

## 1.1 MOŽDANI UDAR – DEFINICIJA I KLASIFIKACIJA

Definicija moždanog udara, koju je dala Svjetska zdravstvena organizacija (*engl. World Health Organization, WHO*) 1970. godine, kaže da je moždani udar klinički sindrom naglo nastalog fokalnog neurološkog deficita u mozgu, retini ili kralježničnoj moždini koji traje 24 sata i duže (1).

Razvoj dijagnostičkih tehnika i metoda ponešto je modificirao definiciju WHO pa se danas moždani udar definira kao akutni fokalni neurološki deficit u mozgu, retini ili kralježničnoj moždini koji traje duže od 24 sata ili kraće, ako slikovne tehnike pokazu da se radi o infarktu ili hemoragiji (2).

Ovisno o patološkim značajkama moždani se udar može podijeliti na ishemijski i hemoragijski. Ishemijski moždani udar nastaje kao posljedica ishemije uzrokovane djelomičnom ili potpunom okluzijom moždane arterije ili, u malom broju slučajeva, moždane vene. Bez obzira na anatomske mjesto nastanka ugruška, ishemijski moždani udar posljedica je tromboze ili embolije.

Hemoragijski moždani udar uzrokuje ruptura krvne žile unutar lubanje. Ovisno o anatomske mjestu, hemoragijski se moždani udar dijeli na intracerebralno i subarahnoidalno krvarenje (3). Svaki tip moždanog udara podliježe daljnjim klasifikacijama ovisno o etiološkim i patofiziološkim karakteristikama, kliničkoj slici, načinu liječenja, ishodima i drugim obilježjima. Svaka klasifikacija ima svoje prednosti i manjkavosti, ali ipak su se neke ustalile u kliničkoj praksi (4).

Prema NINDS (*engl. National Institute of Neurological Diseases and Stroke*) ishemijski moždani udar dijeli se na aterosklerotski (tromboza velikih arterija), lakunarni (tromboza malih penetrirajućih arterija), kardioembolijski, kombinirani arterijske patologije i neutvrđenog uzroka (4).

Druga klasifikacija u kliničkoj upotrebi je TOAST (*engl. Trial of Org 10 172 in Acute Stroke Treatment*) koja dijeli ishemijski moždani udar u pet kategorija. Za razliku od NINDS, TOAST detaljnije klasificira uzorke ishemijskog moždanog udara neutvrđenog uzorka. Prema TOAST uzorci ishemijskog moždanog udara dijele se na aterosklerozu velikih arterija (LAD, *engl. large artery disease*), okluziju malih arterija (SAD, *engl. small artery disease*), kardioemboliju, druge

uzorke (protrombotički poremećaji i neaterosklerotske vaskulopatije) i neutvrđene uzorke (oprečni nalazi, nekompletni pregledi, negativne dijagnostičke studije) (5).

Treća klasifikacija, OCSF (engl. *Oxfordshire Community Stroke Project Classification*) temelji se na anatomskom mjestu i veličini regije zahvaćene ishemijom pa ju čini pogodnom za predviđanje ishoda. OCSF dijeli moždani udar na totalni anteriorni cirkulacijski infarkt (TACI), parcijalni anteriorni cirkulacijski infarkt (PACI), lakunarni infarkt (LACI) i posteriorni cirkulacijski infarkt (POCI) (6).

### 1.1.1 Epidemiologija

Moždani udar jest gorući zdravstveni problem s drugom najvećom stopom smrtnosti u Republici Hrvatskoj (RH), odmah iza srčanih bolesti. U razvijenim državama stopa smrtnosti je niža pa je tako moždani udar u Sjedinjenim Američkim Državama peti, a u Ujedinjenom Kraljevstvu četvrti uzrok smrtnosti. Stopa smrtnosti od posljedica moždanog udara je posljednjih godina u padu, posebno u razvijenim zemljama i u dobnoj skupini > 65 godina. Stopa smrtnosti najviša je u crnačkoj populaciji (65/100 000), a najniža u azijata (39/100 000). Podaci o prevalenciji pokazuju trend rasta u svim populacijama. S druge strane, incidencija moždanog udara je u padu u razvijenim zemljama, dok u je u manje razvijenim zemljama u porastu. Najniža incidencija moždanog udara je u arapskim zemljama (7, 8, 9, 10, 11). Prema istraživanju Kadojića i suradnika iz 2012. godine, u RH ukupna prevalencija moždanog udara je 2,04 %. Prevalencija u muškaraca u RH je 1,88 %, dok je kod žena nešto viša i iznosi 2,19 %. Gledajući po dobi, najveća je u dobnoj skupini od 75 – 84 godina i iznosi 10,8 % (12). Isto istraživanje pokazalo je da je u RH incidencija moždanog udara najveća u Slavoniji (302/100 000), a najniža u Dalmaciji (196/100 000), dok je u cjelokupnoj populaciji 251/100 000 (12). U drugom istraživanju o incidenciji moždanog udara u RH utvrđena je incidencija ishemijskog moždanog udara od 203/100 000. U istom istraživanju, Pikija i suradnici pokazali su i incidenciju prema spolu pa je tako incidencija ishemijskog moždanog udara u muškaraca 191/100 000, a u žena 214/100 000. Standardizirano prema dobi za hrvatsku populaciju, incidencija ishemijskog moždanog udara u muškaraca je 261/100 000, a u žena 170/100 000 (13). Iako studije o incidenciji i u drugim populacijama pokazuju isti trend, tj. veću učestalost ishemijskog moždanog udara kod muškaraca nego kod žena u populaciji < 75 godina, ona se nakon te dobi izjednačava.

Globalna statistika pokazuje da je najveći dio moždanih udara posljedica ishemije (87 %), intracerebralna hemoragija je prisutna u 10 %, a subarahnoidalno krvarenje u 3 % slučajeva.

### 1.1.2 Patofiziologija ishemijskog moždanog udara

Ishemijski je moždani udar u najvećem broju slučajeva posljedica lokalnih aterosklerotskih promjena na karotidnim ili intracerebralnim arterijama (trombotički) ili aterosklerotskim promjenama na krvnim žilama srca (emolijski). U malom broju slučajeva ishemijski moždani udar može nastati kao posljedica tromboze cerebralnih venskih sinusa (8, 14, 15).

Aterosklerotske promjene započinju u ranim fazama života i razvijaju se tijekom godina kao posljedica kroničnog upalnog procesa i kompleksnih međuodnosa genetskih i okolišnih čimbenika. Aterosklerotski procesi započinju ozljedom endotela krvnih žila. Vaskularni endotel ključan je u regulaciji krvno-moždane izmjene iona, molekula i stanica u čemu bitnu ulogu imaju njegovi antitrombocitni, antitrombotički i fibrinolitički mehanizmi. Neozljeđeni endotel svojim protuupalnim mehanizmima sprječava ekspresiju proupalnih gena, migraciju monocita i razvoj aterosklerotskog plaka. Djelovanjem različitih rizičnih čimbenika (arterijska hipertenzija, hiperglikemija, hiperkolesterolemija, pušenje, infekcije) narušava se integritet endotela pri čemu se eksprimiraju površinske adhezijske molekule (ICAM-1, VCAM-1 i P-selektin) i oslobađaju proupalni kemokini. Posljedično dolazi do migracije mononukleara iz krvi u unutrašnjost krvne žile, a nastali makrofagi dalje oslobađaju proupalne medijatore pojačavajući upalni odgovor. Također, makrofagi pojačavaju kemotaksiju i nakupljanje oksidiranog LDL-a te nastaju pjenaste stanice. Pjenaste stanice oslobađaju citokine i čimbenike rasta koji uzrokuju povećanje lezije, proliferaciju fibroblasta i migraciju stanica glatke muskulature iz medije u intimu gdje nastaje depozit od fibroznog ekstracelularnog matriksa koji uključuje kolagen, elastin i druge proteine te zajedno tvore fibrozni pokrov koji stabilizira lipidnu srž u podlozi.

Trombotičke promjene posljedica su pretvorbe antikoagulacijskih svojstava endotela u prokoagulacijska uslijed ekspresije proupalnih citokina iz makrofaga. Razgradnja elastina i kolagena iz fibroznog pokrova dovodi do destabilizacije i rupture plaka (15, 16, 17).

Normalna funkcija mozga ovisna je o aerobnom metabolizmu pa i male promjene u perfuziji mogu potaknuti hipoksiju i hipoglikemiju. Iz toga razloga, mozak je zaštićen od naglih promjena u perfuziji mehanizmom autoregulacije koja osigurava konstantan protok krvi. Smanjenje protoka krvi unutar područja zahvaćenog ishemijskom uzrokuje niz biokemijskih reakcija tzv. ishemijsku kaskadu.

Ishemijska zona sastoji se od dva dijela, područja zahvaćenog infarktoma i penumbre. Promjene u području infarkta su ireverzibilne, dok je u penumbri protok bitno smanjen, ali i dalje postoji,

te su promjene u njoj reverzibilne. Vrijeme reperfuzije u penumbri ima ključnu ulogu u sprječavanju proširenja područja infarkta tj. ireverzibilnog odumiranja moždanih stanica (18). Koncept neurovaskularne jedinice (engl. *Neurovascular Unit*, NVU) opisuje sinergističko djelovanje endotela, astrocita i neurona u patofiziologiji moždanog udara i njenu značajnu ulogu u postishemijskom oporavku. Tijekom ishemijske dolazi do dezintegracije NVU koja je uzrokovana padom energije, citotoksičnošću, upalnim odgovorom, poremećajima u hemostazi, aktivacijom metaloproteinaza i utjecajem akvaporina (19).

Usljed hipoglikemije i hipoksije dolazi do pada ATP-a i depolarizacije mitohondrijske i stanične membrane neurona. Posljedica je oslobađanje glutamata iz stanice i povećanje permeabilnosti za ulazak  $\text{Ca}^{2+}$  u stanicu. Velike količine oslobođenog glutamata rezultiraju većim pomakom  $\text{Ca}^{2+}$  u stanicu gdje pojačava aktivaciju endonukleaza, proteaza, lipaza i drugih enzima koji oštećuju staničnu membranu neurona i dovode do stanične smrti. Započinjanje anaerobne glikolize uzrokuje laktoacidozu što dodatno pojačava neravnotežu iona  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Cl}^-$ , i tako utječe na nakupljanje izvanstaničnog glutamata i na pomak vode iz izvanstaničnog prostora u stanicu te nastanak citotoksičnog edema. Uz poremećaj ionske ravnoteže, smatra se da na pojačani influks vode utječe i pojačano lučenje akvaporina-4 iz astrocita uzrokovano suviškom glutamata. Upalni odgovor započinje nekoliko sati nakon ishemijske. Unutar nekoliko minuta od ishemijske dolazi do ekspresije adhezijskih molekula na površini endotela te započinje agregacija trombocita i adhezija leukocita te se povećava propusnost krvno-moždane barijere. Potom dolazi do izlaska leukocita, medijatora upale i makromolekula iz krvožilnog sustava. Uz leukocite, nekrotične stanice fagocitiraju i mikroglija stanice koje aktivacijom otpuštaju, između ostalih medijatora upale, i reaktivne kisikove spojeve što rezultira disfunkcijom endotela kapilara i aktivacijom prokoagulantnih faktora. Posljedica je oslabljena reperfuzija te uslijed hipoksije i acidoze dolazi do daljnjeg oštećenja tkiva. Sve to dovodi do nastanka vazogenog edema. Smatra se da matriks metaloproteinaze imaju važnu ulogu u hemoragijskoj transformaciji ishemijskog moždanog udara tako da djeluju na membranu mikrovaskulature i povećavaju propusnost krvno-moždane barijere (18, 19, 20, 21).

### **1.1.3 Rizični čimbenici**

Rizični čimbenici za nastanak moždanog udara dijele se na nepromjenjive i promjenjive (Tablica 1.).

**Tablica 1.** Čimbenici rizika za nastanak moždanog udara (preuzeto iz literaturnog navoda 22)

<i>Nepromjenjivi</i>	<i>Promjenjivi</i>
	Hipertenzija
	Pušenje
Dob	Omjer opsega struka i bokova
Spol	Prehrana
Rasa	Tjelesna neaktivnost
Genetika	Dislipidemija
	Šećerna bolest
	Srčane bolesti

### *Dob*

Rizik od nastanka moždanog udara raste s godinama života. Nakon 55 godine incidencija moždanog udara se udvostučuje za svako desetljeće. Prosječna dob nastanka moždanog udara je 69,5 godina (22).

### *Spol*

U mlađoj životnoj dobi rizik za nastanak moždanog udara u žena je nešto viši nego u muškaraca. S porastom godina relativni rizik je veći kod muškaraca nego kod žena. Međutim, ukupno gledajući, žene više oboljevaju od muškaraca i češće umiru od posljedica moždanog udara (22).

### *Rasa*

Učestalost moždanog udara u crnaca dvostruko je veća nego kod bijelaca iste dobi. Različite etničke skupine unutar jedne rase imaju različit rizik za nastanak moždanog udara. Tako unutar bijele rase najveći rizik za nastanak moždanog udara imaju latinoamerikanci (22).

### *Genetika*

Genetički rizični čimbenici variraju s obzirom na dob, spol, rasu. Ipak, učestalost moždanog udara češća je u osoba koje imaju moždani udar u obiteljskoj anamnezi (22).

### *Hipertenzija*

Hipertenzija se smatra najvećim, promjenjivim, rizičnim čimbenikom za nastanak moždanog udara. Više od 2/3 oboljelih u dobi > 65 godina imalo je hipertenziju u osobnoj anamnezi. Studije također pokazuju da su i individualne varijacije krvnog tlaka tijekom dana neovisan rizični čimbenik za nastanak moždanog udara (22).

### *Fibrilacija atriya*

Fibrilacija atriya čvrsto se povezuje s nastankom moždanog udara. Donedavno se smatralo da fibrilacija uzrokuje stazu u lijevom atriju i nastanak tromba te posljedično kardioembolijski moždani udar. Novija istraživanja pokazuju da se kardioembolijski moždani udar javlja kod disfunkcije atriya bez dijagnosticirane fibrilacije kao i kod bolesnika s genskim promjenama vezanima za fibrilaciju atriya, a prije njene pojave (23, 24).

### *Pušenje cigareta, konzumacija alkohola i sredstva ovisnosti*

Pušenje cigareta povećava rizik za nastanak ateroskleroze, a posljedično i moždanog udara. Rizik se povećava kod teških pušača, a prestanak pušenja ga brzo smanjuje. Smatra se da je u razdoblju od 2 – 4 godine od prestanka pušenja rizik od nastanka moždanog udara jednak onome kod nepušača. Pasivno pušenje povećava rizik za 30 % kada se isključe svi ostali čimbenici rizika (25).

Pretjerana konzumacija alkohola povećava rizik za nastanak ishemijskog moždanog udara, dok rizik za hemoragijski moždani udar raste već i kod konzumacije manjih količina alkohola. Prekomjerna konzumacija alkohola povezuje se s arterijskom hipertenzijom i lošijom kontrolom krvnog tlaka i posljedično moždanim udarom (26).



Upotreba sredstava ovisnosti povećava rizik za nastanak oba tipa moždanog udara, najčešće zbog utjecaja na krvni tlak, poremećaje srčanog ritma, cerebralni vazospazam i oštećenje krvnih žila (27).

### *Dislipidemija*

Povećana koncentracija ukupnog kolestrola u krvi povećava rizik za nastanak ishemijskog moždanog udara, dok ga povećana koncentracija HDL-kolestrola smanjuje. Utjecaj hipertrigliceridemije povezuje se s određenim podtipovima ishemijskog moždanog udara. S druge strane, niska koncentracija ukupnog kolestrola povećava rizik za hemoragijski moždani udar (28).

### *Pretilost*

Poznato je da se pretilost tj. povećani indeks tjelesne mase povezuje s povećanim rizikom za nastanak moždanog udara uslijed hipertenzije i hiperglikemije. Međutim, neke studije nisu pokazale povezanost indeksa tjelesne mase i nastanka moždanog udara, već da se rizik povećava u bolesnika s centralnim tipom debljine (29).

### *Prehrana*

Dokazi o direktnom utjecaju načina prehrane na povećanje rizika od moždanog udara su manjkavi, ali je svakako povezana preko drugih čimbenika rizika poput hipertenzije i šećerne bolesti. Smanjen rizik za nastanak moždanog udara povezuje se mediteranskim načinom prehrane(30).

### *Šećerna bolest*

Šećerna bolest je bitan čimbenik rizika za nastanak ateroskleroze i cerebrovaskularnih bolesti. Uz osnovnu bolest, kod dijabetičara su češće zastupljeni i drugi čimbenici rizika poput dislipidemije, pretilosti i hipertenzije što višestruko povećava rizik za nastanak moždanog udara kod dijabetičara u odnosu na zdrave osobe (31).

### *Tjelesna neaktivnost*

Osobe koje su manje tjelesno aktivne imaju povećan rizik za mnoge bolesti pa moždani udar nije izuzetak. Smatra se da redovita tjelesna aktivnost smanjuje rizik od nastanka hipertenzije, šećerne bolesti i pretilosti, najznačajnijih rizika za nastanak moždanog udara (32).

### *Upala*

Biljezi upale, posebno visokoosjetljivi C-reaktivni protein (engl. *high sensitivity C-reactive protein, hsCRP*), često se povezuju s nastankom cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih bolesti. Međutim, opsežne studije su pronašle tek slabu povezanost povišenih koncentracija hsCRP-a i moždanog udara (relativni rizik 1,27). Budući da se ateroskleroza smatra glavnim upalnim procesom odgovornim za nastanak ishemijskog moždanog udara pretpostavlja se da su povišene koncentracije hsCRP-a posljedica pojačanih zbijanja u aterosklerotskom plaku. Međutim, teško je razlučiti utjecaj drugih čimbenika na porast koncentracije hsCRP-a i odrediti njegovu povezanost s rizikom od nastanka moždanog udara (33).

## **1.2 GENSKJE VARIJANTE I MOŽDANI UDAR**

Genske promjene koje utječu na cerebrovaskularne bolesti mogu se podijeliti na tri skupine:

1. genske promjene koje primarno rezultiraju moždanim udarom
2. genske promjene kojima je moždani udar sekundarna posljedica
3. genske promjene koje udruženim djelovanjem s drugim čimbenicima uzorkuju nastanak moždanog udara

Prva skupina genskih promjena nasljeđuje se, najčešće, autosomno dominantno i uzorkuje arteriopatije i angiopatije, a rezultiraju lakunarnim infarktom, u slučaju ishemijskog moždanog udara, ili, u slučaju hemoragijskog moždanog udara, rupturom malih kortikalnih ili subkortikalnih krvnih žila. Neki geni čije promjene mogu rezultirati moždanim udarom su *NOTCH3* (gen koji kodira homologni protein 3 neurogenog lokusa notch), *HTRA1* (gen koji kodira serinsku proteazu HTRA1), *COL4A1* (gen koji kodira  $\alpha 1$  lanac kolagena tipa IV) i druge. Moždani udar može nastati kao posljedica nekih X-vezanih bolesti poput Fabrijeve bolesti čija je posljedica ishemijski moždani udar uzrokovan bolešću velikih ili malih moždanih arterija, zatim mutacija u mitohondrijskoj DNA u bolesti poput mitohondrijske encefalopatije koja rezultira ishemijskim moždanim udarom, ali i u ostalim autosomno dominantno i autosomno

recesivno prenosivim promjenama poput poremećaja povezanih sa sintezom  $\alpha$ -aktina glatkih mišića što uzorkuje moyamoya sindrom ili sa sintezom  $\beta$ -lanca globina u srpastoj anemiji pa nastaje ishemijski moždani udar kao posljedica okluzije velikih i malih arterija.

Prevalencija genskih promjena prve i druge skupine je rijetka u općoj populaciji te je njihov doprinos značajniji u incidenciji moždanog udara u mlađoj dobi, dok je utjecaj čestih genskih promjena udruženih s drugim čimbenicima rizika još uvijek predmet mnogih istraživanja koja pokušavaju pronaći jake dokaze o povezanosti. Najčešće se temelje na genskim promjenama koje se povezuju s aterosklerozom, trombozom, metabolizom lipida, atrijskom fibrilacijom, hipertenzijom, endotelnom disfunkcijom, poremećajima u transportu iona i drugima (22, 34, 35).

### 1.2.1 *F5* (rs6025)

Gen *F5* nalazi se na p kraku kromosoma 1 na poziciji 24.2 i kodira koagulacijski čimbenik V. Čimbenik V (FV) je glikoprotein veličine 330 kDa koji se sintetizira se u jetri, a u cirkulaciji se u najvećoj mjeri nalazi u inaktivnom obliku. Aktivirani FV (FVa) djeluje kao kofaktor aktiviranom FX (FXa) (protrombinaza kompleks) u pretvorbi protrombina u trombin i kao kofaktor aktiviranom proteinu C (APC) u inhibiciji aktiviranog FVIII (FVIIIa) u tenaza kompleksu (FVIIIa/FIXa). Regulacija aktivacije i inaktivacije FVa ovisna je o trombinu. Trombin s jedne strane aktivira FV, a s druge strane preko trombomodulina aktivira protein C koji inaktivira FVa.

FV se sastoji od tri A domene, B domene i dvije C domene. Ugljikohidratima bogata B domena smještena je između domena A2 i A3 s kojima je čvrsto povezana i odgovorna je za inaktivni oblik FV. Proteolitička mjesta na B domeni Arg709, Arg1018 i Arg1545 odgovorna su za aktivaciju FV trombinom, a u manjoj mjeri putem FXa.

Inaktivacija FVa regulirana je pomoću APC na način da APC cijepa FVa na pozicijama Arg306, Arg506 i Arg679. Cijepanje na poziciji Arg506 događa se puno brže nego na poziciji Arg306 pa je potpuna inaktivacija FVa rezultat cijepanja na objema pozicijama. Potpuna inaktivacija FVa ovisi o protrombinu jer je Arg506 zaštićen u protrombinaza kompleksu pa tek potrošnja protrombina otvara poziciju Arg506 za cijepanje (36).

Najznačajnije genske promjene u *F5* uzrokuju poremećaje u sintezi FV koje uzrokuju manjak FV i rezistenciju na aktivirani protein C. Deficijencija FV uzrokuje poremećaje u zgrušavanju u smjeru krvarenja, a rezistencija na aktivirani protein C (APCR) potiče prekomjerno zgrušavanje (37).

Glavni uzrok rezistencije na aktivirani protein C je gubitak mjesta cijepanja na poziciji Arg506 u genskoj varijanti *F5 Leiden*. U *F5 Leiden* dolazi zamjene gvanina adeninom na 1691 mjestu u genu *F5* i rezultira zamjenom arginina glutaminom na poziciji 506 u FV. Ova genska varijanta javlja se u oko 5 % bjelačke populacije, a APCR uzrokovana *F5 Leiden* 2-3 puta povećava rizik za nastanak tromboze. Ostale genske varijante *F5* koje uzrokuju APCR u većoj su mjeri prisutne u drugim rasama. Genske varijante *F5* koje rezultiraju gubitkom mjesta cijepanja na Arg306 ne dovode do APCR-a i ne smatraju se značajnim rizičnim čimbenikom za nastanak tromboze (36,37).

### **1.2.2 *F2* (rs1799963)**

Gen *F2* nalazi se na p kraku kromosoma 11 na poziciji 11.2 i kodira koagulacijski čimbenik II (FII) (protrombin). Protrombin je zimogen veličine oko 70 kDa koji se sintetizira u jetri kao pre-propeptid, a u cirkulaciji se nalazi u svom zreлом obliku. Protrombin se sastoji od pet domena: propeptidne, Gla, kring1, kring1-2 i domene prekursora serinske proteaze. FXa uz FVa u nekoliko koraka cijepa protrombin do aktivne forme enzima,  $\alpha$ -trombina, koji se sastoji od teškog ( $\alpha$ ) i lakog ( $\beta$ ) lanca. Trombin ima centralnu ulogu u procesima zgrušavanja i fibrinolize. Najznačajnije genske varijante u *F2* rezultiraju kvalitativnim i kvantitativnim promjenama u sintezi protrombina. Tako se deficijencija protrombina manifestira teškim, a disprotrombinemije lakšim oblicima krvarenja i njihova je učestalost u općoj populaciji izuzetno rijetka. Puno su češće promjene u sintezi protrombina koje rezultiraju trombofilijom (38, 39).

Genska varijanta u *F2* u kojoj dolazi do zamjene gvanina adeninom na 3'-kraju netranslacijske regije (G20210A) smatra se najznačajnijom u razvoju trombofilije uzrokovane poremećajem u sintezi protrombina. G20210A dovodi do gubitka signala za cijepanje na 3'-kraju i posljedično do pojačanog nakupljanja mRNA i sinteze proteina (40).

Varijanta G20210A prisutna je u oko 2 % bjelačke populacije i povećava rizik za nastanak tromboze 3 – 4 puta kod heterozigota. Homozigotni nositelji su izuzetno rijetki i kod njih se rizik za nastanak tromboze povećava oko 30 puta (39).

### **1.2.3 *SERPINE1* (rs1799768)**

*SERPINE1* gen nalazi se na q kraku kromosoma 7 na poziciji 22.1 i kodira endotelni inhibitor aktivatora plazminogena 1 (PAI-1). PAI-1 je glikoprotein veličine oko 42 kDa koji spada u

obitelj inhibitora serinskih proteaza i sintetiziraju ga u različitim omjerima razna tkiva i organi (jetra, endotel, adipozno tkivo i druga). Glavna uloga PAI-1 je inhibicija tkivnog aktivatora plazminogena (tPA) i urokinaznog aktivatora plazminogena (uPA) te posljedično pretvorbe plazminogena u plazmin. Osim toga, inhibitorno djelovanje PAI-1 očituje se i kroz vezanje na kompleks uPA/uPAR na taj način pojačavajući fibrinolitičko djelovanje. Plazmin ima važnu ulogu u razgradnji nastalog ugruška pa inhibicija pretvorbe plazminogena u plazmin značajno utječe na nakupljanje fibrina (41, 42).

Genske varijante u *SERPINE1* rezultiraju pretežno kvantitativnim promjenama proteina PAI-1. Prevalencija varijanti koje dovode do deficita PAI-1 nije utvrđena i zabilježeni su rijetki slučajevi čija je klinička manifestacija bila značajan poremećaj fibrinolize u smjeru krvarenja (43). U općoj populaciji puno su češće genske promjene koje rezultiraju povišenim koncentracijama PAI-1 i poremećajem fibrinolize u smjeru tromboze (41).

Najznačajnija genska varijanta *SERPINE1* je insercijsko-delecijska varijanta jedne baze gvanina u promotorskoj regiji gena (4G/5G). Sekvenca od 4G/5G nalazi se -675 bp uzvodno od mjesta vezanja transkripcijskog faktora na gen. Oba alela, i 4G i 5G imaju očuvano mjesto za vezanje transkripcijskog aktivatora. Međutim, 4G varijanta gubitkom jedne baze gubi mjesto vezanja transkripcijskog represora što rezultira povećanom sintezom mRNA i proteina PAI-1. Podaci pokazuju da je učestalost heterozigota 4G/5G oko 40 % u zdravoj populaciji te je i dalje kontradiktorna njena povezanost s rizikom od nastanka tromboze (44).

#### **1.2.4 *F13A1* (rs5985)**

Koagulacijski čimbenik XIII (FXIII) sastoji se od dvije A i dvije B podjedinice. Podjedinice A imaju katalitičku ulogu, a podjedinice B inhibitornu.

*F13A1* gen smješten je na p kraku 6. kromosoma na poziciji 25.1 i kodira podjedinicu A1 koagulacijskog čimbenika XIII. Podjedinica A FXIII predominantno se sintetizira u stanicama porijeklom iz koštane srži (trombocitima, monocitima, makrofagima) kao zimogen, protransglutaminaza. Podjedinica A FXIII građena je od 5 domena: aktivacijskog peptida, katalitičke domene,  $\beta$ -sendviča i dvije  $\beta$ -barel domene. Katalitička je domena u inaktivnoj formi duboko zaštićena. Aktivacija FXIII potaknuta je trombinom i kalcijem uslijed čega se otvara katalitičko mjesto u A podjedinici. U nedostatku podjedinice B, za aktivaciju FXIII dovoljni su ioni Ca. Glavna uloga aktiviranog FXIII (FXIIIa) u hemostazi je stabilizacija fibrinskog ugruška (45).

Genske varijante u *F13A1* većinom uzrokuju deficijencije FXIII koje rezultiraju smanjenom aktivnošću plazmatskog FXIII, bržom degradacijom, smanjenom ekspresijom enzima, smanjenom aktivnošću uslijed konformacijskih promjena i drugih. Klinička manifestacija deficijencije FXIII je sklonost krvarenju (46).

*F13A* je vrlo polimorfan, a najčešće ispitivana genska varijanta koja se povezuje s trombotičkim učinkom je Val34Leu (V34L). V34L je uzrokovana zamjenom gvanina timinom na 2 eksonu što rezultira zamjenom valina leucinom u enzimu FXIII podjedinici A1.

L alel se u bjelačkoj populaciji javlja s učestalošću od oko 25 %, dok kod Azijata nije prisutan. Posljedica ove genske varijante je pojačana aktivacija FXIII i nježnija struktura fibrina pa je kod nositelja L alela veća mogućnost fibrinolitičke razgradnje ugruška. Iako istraživanja idu u smjeru protektivnog učinka V34L, neke studije su pokazale i rizik za nastanak ishemijskog moždanog udara (47, 48).

### 1.2.5 *FGB* (rs1800790)

Fibrinogen je dimerni glikoprotein veličine oko 340 kDa koji se sintetizira pretežno u jetri. Sastoji se od 3 lanca,  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Svaki lanac kodira drugi gen (*FGA*, *FGB* i *FGG*), a svi su smješteni u klasteru na dužem kraku 4 kromosoma od pozicije 23 – 32.

Gen *FGB* smješten je na q kraku 4. kromosoma na poziciji 31.3 i kodira  $\beta$  lanac fibrinogena. Fibrinogen je prekursor fibrina koji nastaje proteolitičkim djelovanjem trombina pri čemu se s N-terminalnih krajeva  $\alpha$  i  $\beta$  lanaca odcjepljuju fibrinopeptidi A i B. Fibrinopeptidi potom polimeriziraju, unakrsno se povezuju i stabiliziraju pomoću FXIIIa. Glavna uloga fibrinogena očituje se njegovom pretvorbom u fibrin i nastankom fibrinskog ugruška na mjestu ozljede vaskulature. Fibrinogen ima ulogu i u agregaciji trombocita povezujući ih preko GPIIa/IIIb receptora. Osim toga, fibrinogen je osjetljiv na ekspresiju citokina pa njegova koncentracija u plazmi raste u uplanom odgovoru (49).

Genske varijante u *FGB* utječu na kvantitativne i kvalitativne promjene proteina i rezultiraju afibrinogenemijama, disfibrinogenemijama i trombotičkim rizikom. Neke genske varijante rezultiraju defektnim proteinom koji se veže disulfidnim vezama s albuminom pa nastaje fibrinogen velike molekularne mase (npr. Fibrinogen ChristChurch i Fibrinogen Nijmegen). Istraživanja pokazuju da su najteže kliničke manifestacije u obliku krvarenja prisutne kod kongenitalnih afibrinogenemija, dok druge genske varijante rijetko uzrokuju direktne kliničke posljedice (50, 51).

Istraživanja genskih varijanti povezanih s trombotičkim rizikom pretežno se orijentiraju na varijantu u promotorskoj regiji na poziciji -455 u kojoj dolazi do zamjene gvanina adeninom što rezultira pojačanom sintezom i povećanjem koncentracije plazmatskog fibrinogena. Učestalost A alela u populaciji je oko 20 %. Efekt ove genske varijante varira između različitih ispitivanih skupina, a istraživanja su ograničena malim brojem ispitanika pa je utjecaj -455G/A u trombotičkim zbivanjima i dalje nejasan (52,53).

### **1.2.6 APOA5 (rs662799)**

Gen za *APOA5* smješten je na q kraku 11. kromosoma na poziciji 23.3 i kodira apolipoprotein A5. *APOA5* dio je skupine regulatornih gena *APOA1/APOC3/APOA4* smještenih na 11q23. ApoA5 protein predominantno se sintetizira u jetri i veličine je oko 39 kDa. U cirkulaciji se nalazi u obliku monomera vezan za hilomikrone, VLDL i HDL. Pokazalo se da su koncentracije ApoA5 u obrnutom odnosu s koncentracijom triglicerida u plazmi. ApoA5 potiče hidrolizu triglicerida lipoprotein lipazom pa se kao glavna uloga ApoA5 pripisuje regulacija lipoprotein lipaze (54, 55).

Genske varijante u *APOA5* mogu utjecati na funkcionalne promjene ApoA5 proteina i povišenje triglicerida u plazmi. Poznato je pet genskih varijanti u *APOA5* smještenih u promotorskoj regiji (-1131T/C, SNP3), intronskoj regiji (IVS3+476G/A, SNP2), start kodonu (c.-3A/G), eksonu (S19W) i 3'-kraju netranslacijske regije (+158C/T, SNP1) za koje je utvrđeno da utječu na koncentraciju ApoA5 i triglicerida te su provedene asocijacijske studije. APOA5\*1 je divlji haplotip i njegova učestalost u bjelačkoj populaciji je 81,6 %. APOA5\*2 karakteriziraju mutirani SNP1, SNP2 i SNP3 i njegova učestalost je 8 %. Unutar APOA5\*3 je mutirani S19W i učestalost ovog haplotipa je 8 % (56).

Studije povezanosti genskih varijanti *APOA5* pokazale su da su varijante -1131T/C i S19W neovisno o drugim genskim varijantama povezane sa smanjenom sintezom ApoA5 i povećanjem koncentracije triglicerida (57, 58, 59).

### **1.2.7 ACE (rs4340)**

Gen za *ACE* je smješten na dužem kraku 17. kromosoma na poziciji 23.3 i kodira angiotenzin konvertirajući enzim (EC 3.4.15.1). *ACE* kodira dva izoenzima, somatski, koji se eksprimira u vaskularnim i renalnim endotelnim stanicama i Leydigovim stanicama, i testikularni koji se eksprimira u testisima. *ACE* enzim je dipeptidyl-karboksipeptidaza i glavna mu je uloga hidroliza angiotenzina I u angiotenzin II. Iz toga razloga, *ACE* ima značajnu ulogu u kontroli

krvnog tlaka i ravnoteži elektrolita. Usto, ACE inhibira bradikinin pa ima i ulogu vazodilatatora (60).

Aktivnost ACE pod strogom je kontrolom gena *ACE*. Iako je poznato 40 genskih varijanti, najbolje je opisana i istražena insercijsko-delecijska varijanta I/D. I/D je intronska varijanta koja se sastoji od ponavljajućeg *Alu* slijeda dugačkog 287 bp. U osoba s D/D genotipom primijećena je dvostruko veća aktivnost ACE nego kod nositelja normalnog genotipa I/I. D alel javlja se u populaciji s učestalošću od 28 %. (61).

S obzirom na ulogu enzima ACE u organizmu i direktnu poveznost aktivnosti enzima s genotipom, ispitivanje genske varijante I/D obuhvatilo je mnoge bolesti i stanja koja se patofiziološki povezuju s njegovom ulogom u regulaciji vaskularnog tonusa. Tako je pokazana povezanost I/D varijante s razvojem ateroskleroze, IgA nefropatije, dijabetičke nefropatije, Alzheimerove bolesti i dr. Međutim, dosadašnja ispitivanja povezanosti varijante I/D s hipertenzijom, kardiovaskularnim i ccerebrovaskularnim bolestima daju oprečne rezultate, a pretežno ovise o ispitivanoj populaciji i dizajnu studije (60, 62).



## 2 HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

### 2.1 HIPOTEZA

Ishemijski moždani udar je multifaktorijalna bolest i do sada je utvrđeno da je nastanak moždanog udara povezan s nizom nepromjenjivih (dob, spol, rasa, genetika) i promjenjivih čimbenika (pušenje, hipertenzija, šećerna bolest, hiperlipidemija, tjelesna aktivnost). Ateroskleroza i kardioembolija najčešći su uzroci nastanka ishemijskog moždanog udara.

Smatra se da sustav hemostaze ima centralnu ulogu u nastanku arterijske i venske tromboze te ateroskleroze pa su dosadašnja istraživanja u velikoj mjeri usmjerena na ispitivanje genskih varijanti čimbenika koagulacije i fibrinolize kao neovisnih prediktora nastanka moždanog udara. Opsežne studije pokazuju povezanost genskih varijanti *F5 Leiden* i *F2* s povećanim rizikom za nastanak cerebrovaskularnih poremećaja, posebno ako su udružene s promjenjivim čimbenicima rizika (63, 64). Za razliku od genskih varijanti *F5 Leiden* i *F2*, povezanost varijanti *F13A1*, *FGB* i *SERPINE1* i moždanog udara manje je istražena. Studije ukazuju na smanjen rizik za kardioembolijski moždani udar kod nosioca varijante *F13A1*, a u slučaju *SERPINE1* istraživanja polučuju oprečne rezultate u povezanosti ove genske varijante i rizika za nastanak moždanog udara (47, 63, 65).

Hiperlipidemija je promjenjivi čimbenik rizika za moždani udar iako je poznato da hipertrigliceridemija i hiperkolesterolemija mogu biti povezane i s genskim čimbenicima. U posljednjih godina intenzivno se pretražuju varijante u genskom klasteru *APOA1/C3/A4/A5* i njihova poveznost s rizikom za moždani udar (66).

U istraživanje će biti uključeni genski čimbenici koji su povezani s rizikom od nastanka moždanog udara preko različitih patogenetskih mehanizama pa je hipoteza da bi njihov sinergistički učinak mogao rezultirati boljom predikcijom rizika za nastanak moždanog udara od samostalnog učinka ovih genskih varijanti i okolišnih čimbenika.

Također, rezultati ovog istraživanja dat će podatak o prevalenciji ispitivanih genskih varijanti u općoj populaciji u Republici Hrvatskoj.

## 2.2 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- ispitati učestalost genskih varijanti u *F2*, *F5*, *FGB*, *F13A1*, *SERPINE1*, *APOA5* i *ACE* u bolesnika s ishemijskim moždanim udarom
- ispitati učestalost genskih varijanti u *F2*, *F5*, *FGB*, *F13A1*, *SERPINE1*, *APOA5* i *ACE* u zdravoj populaciji
- ispitati postoji li razlika u koncentraciji ukupnog kolesterola, HDL- i LDL-kolestrola, triglicerida i CRP-a u serumu bolesnika s ishemijskim moždanim udarom i kontrolnih ispitanika
- ispitati povezanost genskih čimbenika s pokazateljima lipidnog statusa i nastankom ishemijskog moždanog udara
- izraditi regresijski model s ciljem predviđanja rizika za nastanak ishemijskog moždanog udara

### **3 MATERIJALI I METODE**

#### **4.1 ISPITANICI**

Istraživanje je provedeno u periodu od kolovoza 2002. do travnja 2004. godine u suradnji Kliničkog zavoda za kemiju i Klinike za neurologiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu.

U istraživanje je uključeno 250 uzastopnih ispitanika s ishemijskim moždanim udarom i 100 kontrolnih ispitanika regrutiranih prigodom kontrolnih zdravstvenih pregleda.

Svi ispitanici (ili članovi njihovih obitelji) koji su sudjelovali u istraživanju potpisali su dobrovoljni pristanak, a istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice.

Kriterij uključanja u istraživanje bio je ishemijski moždani udar dijagnosticiran pri primitku u hitnu službu Klinike za neurologiju koji se temeljio na neurološkom pregledu, anamnestičkim podacima i nalazima kompjuterizirane tomografije. Za svakog ispitanika prikupljeni su osnovni demografski podaci i uočeni čimbenici rizika. Napravljene su rutinske biokemijske, hematološke i koagulacijske pretrage s ciljem utvrđivanja etiologije moždanog udara i otkrivanja mogućih čimbenika rizika.

Kontrolni ispitanici bili su podvrgnuti općem liječničkom pregledu, napravljene su im laboratorijske pretrage te su im pregledani anamnestički podaci.

Kriteriji za isključenje iz skupine kontrolnih ispitanika bili su podaci o infarktu miokarda, moždanom udaru ili prolaznoj cerebrovaskularnoj ishemiji u osobnoj anamnezi.

#### **4.2 NEUROLOŠKI TESTOVI**

Svim ispitanicima kojima je dijagnosticiran akutni ishemijski moždani udar specijalist neurolog izvršio je procjenu težine moždanog udara pomoću NIHSS skale (engl. *National Institutes of Health Stroke Scale*). Ocjenska ljestvica za moždani udar sastoji se od 13 kategorija koje se procjenjuju s 0 do maksimalno 4 boda (ovisno o kategoriji), a ukupan zbroj svih kategorija procjenjuje težinu moždanog udara. Najveći zbroj bodova je 42 (Tablica 2) (67).

**Tablica 2.** Težina moždanog udara prema rezultatu NIHSS

<i>NIHSS zbroj</i>	<i>Težina moždanog udara</i>
0	Nema
14	Manji
5 - 15	Srednji
16 – 20	Srednji do teški
21 - 42	Teški

Prije otpusta iz bolnice svim ispitanicima određen je Barthelov indeks (BI) kojim se procjenjuje stupanj samostalnosti za obavljanje svakodnevnih aktivnosti. Indeks predstavlja ukupan zbroj rezultata iz deset kategorija koje su bodovane s 0 do maksimalno 15 bodova (ovisno o kategoriji). Barthelov indeks iznosi 0100 bodova (68).

### **4.3 UZORCI**

Svim ispitanicima uzorci krvi uzeti su venepunkcijom iz kubitalne vene između 7.00 i 9.00 sati ujutro nakon cjelonoćnog gladovanja.

Za potrebe istraživanja ispitanicima su uzeta 2 uzorka krvi, jedan uzorak bez antikoagulansa za određivanje lipidnog statusa i jedan uzorak s K<sub>3</sub>EDTA antikoagulansom za izolaciju DNA i genotipizaciju. Uzorci krvi uzeti su u epruvete s podtlakom tvrtke Becton Dickinson (BD Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ, SAD).

Parametri lipidnog statusa određeni su iz uzorka seruma nakon vađenja krvi, a uzorak s K<sub>3</sub>EDTA antikoagulansom je pohranjen u hladnjak na +4°C do izolacije DNA, ne duže od tjedan dana. Uzorci izolirane DNA pohranjeni su u hladnjaku na +4°C. Genotipizacija je učinjena u razdoblju od jedne do šest godina.

### **4.4 ODREĐIVANJE LIPIDNOG STATUSA**

Određivanje koncentracije ukupnog kolesterola, HDL- i LDL- kolesterola i triglicerida učinjeno je na analizatoru AU 2700 (Beckman Coulter, Brea, SAD) s originalnim reagensima tvrtke Beckman Coulter.

### 3.4.1 Ukupni kolesterol

Koncentracija ukupnog kolesterola određena je enzimskom kolorimetrijskom metodom CHO-PAP. Kolesterol esteraze hidroliziraju estere kolesterola u uzorku te se tako stvoreni slobodni kolesterol oksidira pomoću kolesterol oksidaze u kolesten-3-on uz istodobno stvaranje vodikovog peroksida. Stvoreni vodikov peroksid se uz peroksidazu veže s 4-aminopirinom i fenolom i stvara crveno obojeni kinonimin. Boja se mjeri spektrofotometrijski pri 540/600 nm, a intenzitet obojenja proporcionalan je koncentraciji kolesterola u serumu.

### 3.4.2 HDL-kolesterol

Koncentracija HDL-kolesterola određena je istom metodom kao i ukupni kolesterol (CHO-PAP) uz prethodno odvajanje čestica HDL-a. Humana-beta-lipoproteinska antitijela vežu se za lipoproteine koji nisu HDL (VLDL, LDL i hilomikroni). Uslijed nastanka kompleksa antigen-antitijelo kolesterol se u ovim lipoproteinskim česticama neće razgraditi nakon dodatka enzima, dok je HDL kolesterol dostupan za enzimsko određivanje pomoću CHO-PAP metode.

### 3.4.3 LDL-kolesterol

LDL-kolesterol određen je pomoću Friedwaldove formule iz koncentracija HDL-kolesterola, ukupnog kolesterola i triglicerida (69):

$$\text{LDL (mmol/L)} = \text{ukupni kolesterol (mmol/L)} - (\text{trigliceridi (mmol/L)} - \text{HDL-kolesterol (mmol/L)})$$

### 3.4.4 Trigliceridi

Koncentracija triglicerida u serumu je određena enzimskom kolorimetrijskom metodom GPO-PAP. Trigliceridi iz uzorka hidroliziraju se pomoću lipaza u glicerol i masne kiseline. Nastali glicerol se fosforilira ATP-om u prisustvu glicerol-kinaze i nastaje glicerol-3-fosfat koji se oksidira molekulom kisika u prisustvu glicerol-fosfat-oksidaze i stvara se vodikov peroksid i dihidroxiaceton fosfat. Nastali vodikov peroksid reagira s 4-aminofenazonom i kromogenom u prisutnosti peroksidaze i nastaje kinonimin koji se očitava spektrofotometrijski pri 660/800 nm. Povećanje apsorpcije proporcionalno je koncentraciji triglicerida u serumu.

## 4.5 IZOLACIJA DNA

Izolacija DNA iz uzoraka pune krvi s  $K_3EDTA$  učinjena je pomoću komercijalnog testnog paketa QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Njemačka) prema uputstvima proizvođača.

Uzorak pune krvi inkubira se s proteinazom K i puferom za lizu pri čemu dolazi do denaturacije proteina i pucanja membrane stanica. Denaturirani proteini i produkti razgradnje stanica se odbace, a supernatant, koji sadržava nukleinske kiseline, propušta se kroz QIAmp Spin kolonu. Membrana kolone sadrži polupropusnu membranu na čijoj se površini zadržavaju nukleinske kiseline, a ostatni stanični sadržaji se eluiraju. DNA vezana na površini membrane dva puta se ispere, a nakon toga se eluira s kolone u sterilnu epruvetu. Izolirana DNA se pohranjuje na  $+4^{\circ}C$ .

## 4.6 GENOTIPIZACIJA

Genotipizacija polimorfizama je učinjena u dva koraka. Prvo se umnoži odsječak DNA od interesa pomoću lančane reakcije polimeraze (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) nakon čega slijedi određivanje genotipa pomoću polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata (engl. *restriction fragment length polymorphism*, RFLP).

Genotipizacija polimorfizma *ACE* učinjena je elektroforetskim razdvajanjem PCR produkta.

### 3.4.5 Lančana reakcija polimeraze (PCR)

Lančana reakcija polimeraze je metoda umnažanja odsječka DNA od interesa u velikom broju kopija. Jedan ciklus PCR-a sastoji se od 3 reakcije: razdvajanja dvostrukog DNA lanca, prijanjanja uzvodnih i nizvodnih početnica na jednostruke lance DNA i sinteze novog lanca. Umnažanje DNA se uobičajeno odvija u 3040 ciklusa. U svakom ciklusu novonastala DNA služi kao kalup za sintezu i tako broj kopija odsječka DNA od interesa eksponencijalno raste do  $2^n$  ( $n$ = broj ciklusa).

Za izradu PCR-a učinjena je reakcijska smjesa koja je sadržavala: vodu, Taq polimerazu, nizvodne (engl. *forward*) i uzvodne (engl. *reverse*) početnice (engl. *primer*), deoksinukleotid trifosfat (engl. *deoxynucleotide triphosphate*, dNTP) i reakcijski pufer koji sadržava ione  $Mg^{2+}$ . Priređena reakcijska smjesa razdijeljena je u epruvete, a potom je u svaku epruvetu dodan odgovarajući uzorak.

Za PCR analize korištene su početnice tvrtke MWG Biotech (Operon Biotechnologies, Köln, Njemačka), a ostali potrebni reagensi proizvodi su tvrtke Roche (Mannheim, Njemačka). U Tablica 3 prikazane su početnice koje su korištene za izradu PCR-a.

**Tablica 3.** Početnice korištene za izradu PCR analiza

<i>Analiza</i>	<i>Početnice</i>
<i>FGB</i>	Fw 5-CTGATGTGTATTTTTTCATAGAATAGGG-3
	Rv 5-ATGCTTATGTTTTCTGACAATGAC-3
<i>F2</i>	Fw 5-TCTAGAAACAGTTGCCTGGC-3
	Rv 5-ATAGCACTGGGAGCATTGAAGC-3
<i>F5 Leiden</i>	Fw 5-TGCCCCATTATTTAGCCAGGAG-3
	Rv 5-ACCCACAGAAAATGATGCCAG-3
<i>F13A1</i>	Fw 5-CTTCCAGGACCGCCTTTGGAGGC-3
	Rv 5-GGTTGACGCCCCGGGGCACTA-3
<i>SERPINE1</i>	Fw 5-CACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3
	Rv 5-CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3
<i>ACE</i>	Fw 5-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3
	Rv 5-GATGTGGCCATCACATTCCGTCAGAT-3
<i>APOA5</i>	Fw 5-CCCCAGGAACTGGAGCGAAATT-3
	Rv 5-TTCAAGCAGAGGGAAGCCTGTA-3

Vrste reagensa, koncentracije i količine koje su korištene za izradu PCR-a prikazane su u Tablica 4. Uvjeti PCR reakcija prikazani su u Tablica 5.

**Tablica 4.** Volumeni i koncentracije reagensa u reakcijskim smjesama za PCR

reagens	koncentracija	<i>FGB</i> ( $\mu$ L)	<i>F2</i> ( $\mu$ L)	<i>F5</i> ( $\mu$ L)	<i>F13A1</i> ( $\mu$ L)	<i>SERPINE1</i> ( $\mu$ L)	<i>ACE</i> ( $\mu$ L)	<i>APOA5</i> ( $\mu$ L)
Početnice	5 $\mu$ M (10 $\mu$ M za F5 i APOA5)	1,32	1,98	0,88	1,32	1,32	1,65	0,83
dNTP	25 $\mu$ M	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
Taq polimeraza	5 U/ $\mu$ M	0,13	0,17	0,13	0,13	0,17	0,17	0,13
PCR puffer	100 mM Tris-HCl 15 mM MgCl <sub>2</sub> , 500 mM KCl	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
Voda		25,56	24,31	26,65	25,56	25,63	24,97	26,65
DNA	0,5 $\mu$ M	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

**Tablica 5.** Uvjeti PCR-a

Faza ciklusa	<i>FGB</i>	<i>F2</i>	<i>F5L</i>	<i>F13A1</i>	<i>SERPINE1</i>	<i>ACE</i>	<i>APOA5</i>
početna denaturacija	97°C/5 min	94°C/5 min	92°C/50 min	97°C/5 min	97°C/5 min	97°C/5 min	97°C/5 min
denaturacija	95°C/60s	94°C/60s	92°C/40s	95°C/60s	95°C/60s	94°C/45s	95°C/60s
sljepljivanje početnica	52°C/45s	60°C/45s	66°C/40s	65°C/45s	62°C/45s	66°C/30s	60°C/45s
sinteza lanca	72°C/1 min	72°C/1 min	72°C/1 min	72°C/1 min	72°C/45s	72°C/1 min	72°C/1 min
broj ciklusa	35	38	35	35	35	35	35
završna sinteza	72°C/10 min	72°C/10 min	72°C/10 min	72°C/10 min	72°C/10 min	72°C/10 min	72°C/10 min
hlađenje	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C



### **3.4.6 Provjera uspješnosti PCR-a**

Po završetku umnažanja DNA izvršena je provjera uspješnosti izvedene reakcije. Provjera je učinjena elektroforetski na komercijalnom gelu s dodatkom etidij-bromida PCR ChekIT Mini (Elchrom Scientific, Cham, Švicarska). Za provjeru dužine umnoženog fragmenta DNA korišten je molekularni marker Marker XIII – 50 bp ladder (Roche, Mannheim, Njemačka). Uzorci su se elektroforetski razdvajali 20 min na 120V u sustavu SEA 2000™ (Elchrom Scientific, Cham, Švicarska), a potom su vizualizirani na transiluminatoru MacroVue™ (Hofer, San Francisko, Kalifornija, SAD). Snimke elferograma učinjene su uz narančasti filter pomoću kamere Polaroid DS-34 (Polaroid, Minnetonka, Minnesota, SAD).

### **3.4.7 Analiza polimorfizma ACE**

Genotipizacija ACE učinjena je nakon provjere uspješnosti PCR-a, elektroforetskim razdajanjem PCR produkta 30 minuta na 120V na PCR ChekIT Wide (Elchrom Scientific, Cham, Švicarska). Vizualizacija je učinjena na transiluminatoru MacroVue™ (Hofer, San Francisko, Kalifornija, SAD), a elferogram je snimljen pomoću kamere Polaroid DS-34 (Polaroid, Minnetonka, Minnesota, SAD) uz narančasti filter.

### **3.4.8 Polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata**

Specifične restrikcijske endonukleaze prepoznaju palindromske sekvence i na tom mjestu cijepaju DNA te pritom nastaju fragmenti različitih duljina. Nastali fragmenti se različitom brzinom elektroforetski razdvajaju s obzirom na to da polimorfni aleli imaju različit slijed nukleotida od alela divljeg tipa.

Reakcijske smjese za cijepanje PCR produkata sadržavale su specifične restrikcijske enzime i PCR produkte (Tablica 6). Reakcijska smjesa inkubirala se tijekom noći na 37°C. Restrikcijski enzimi proizvodi su tvrtke New England Biolabs (Ipswich, Velika Britanija).

**Tablica 6.** Restriksijski uvjeti

<i>Genska varijanta</i>	<i>Restriksijski enzim</i>	<i>Konačna koncentracija enzima (U)</i>	<i>Uvjeti restrikcije</i>	<i>Uvjeti elektroforeze</i>	<i>Fragmenti cijepanja</i>
<i>FGB</i>	<i>Hae III</i>	7	37°C/ preko noći	120V / 50 min	Divlji: G (114+45 pb) Mutirani: A (159 pb)
<i>F2</i>	<i>Hind III</i>	8	37°C / preko noći	120V / 60 min	Divlji: G (345 pb) Mutirani: A (322 + 23 pb)
<i>F5L</i>	<i>Mnl I</i>	2,8	37°C / preko noći	130V / 30 min	Divlji: (104 + 82 + 37 pb) Mutirani: (141 + 82 pb)
<i>F13A1</i>	<i>Dde I</i>	14	37°C / preko noći	130V / 60 min	Divlji: V (114 pb) Mutirani: L (92+22 pb)
<i>SERPINE1</i>	<i>Bsi I</i>	15	37°C / preko noći	130V / 60 min	Divlji: 5G (77+23 pb) Mutirani: 4G (99 pb)
<i>APOA5</i>	<i>Mse I</i>	4,8	37°C / preko noći	130V / 80 min	Divlji: T (267 + 109 + 22 pb) Mutirani: C (289 + 109 pb)

## 4.7 STATISTIČKA OBRADA

Statistička obrada podataka provedena je pomoću statističkog programskog paketa Medcalc 17.9.2 (Frank Schoonjans, Ostend, Belgija). Osnovna obilježja varijabli testirana su deskriptivnom statistikom. Kvalitativni podaci prikazani su brojem i postotkom (N, %). Podatak o godinama prikazan je kao medijan i raspon (minimum i maksimum). Normalnost razdiobe podataka ispitana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Za prikazivanje podataka koji su slijedili normalnu razdiobu ( $P > 0,05$ ) korištena je srednja vrijednost i standardna devijacija, dok je za podatke koji nisu slijedili normalnu razdiobu ( $P < 0,05$ ) korišten medijan s pripadajućim interkvartilnim rasponom.

Značajnost razlike između skupina kvalitativnih podataka testirana je  $\chi^2$ -kvadrat testom. Isti test korišten je i za ispitivanje Hardy-Weinbergove ravnoteže. Ako je dobivena P vrijednost bila  $> 0,05$  zaključili smo da raspodjela polimorfizama ne odstupa od Hardy-Weinbergove ravnoteže. U slučaju kada je  $P < 0,05$  postoji razlika između očekivane i dobivene učestalosti genotipova te smo zaključili da raspodjela odstupa od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Značajnost razlike između skupina kvantitativnih podataka koji su slijedili normalnu razdiobu ispitana je parametrijskim nezavisnim t-testom, a za one koji nisu slijedili normalnu razdiobu primijenjen je neparametrijski Mann-Whitney test za nezavisne uzorke. Statistički značajnima smatrale su se razlike  $P < 0,05$ .

Za ispitivanje značajnosti razlike između kvalitativnih i kvantitativnih podataka korištena je jednosmjerna ANOVA za parametrijske podatke ili Kruskal-Wallisov test za neparametrijske podatke. U slučaju kada je dobivena P vrijednost bila  $< 0,05$  učinjeno je *post hoc* testiranje da bi se ispitala razlika među skupinama.

Multipla logistička regresijska analiza učinjena je u dva stupnja. Prvo je učinjena univarijatna logistička regresija kojom je ispitana statistička značajnost ispitivane varijable u predviđanju ishoda. Statistički značajnom se smatrala razlika  $P < 0,05$ . U drugom stupnju učinjena je multivarijatna regresijska analiza koja je uključivala statistički značajne varijable dobivene univarijatnom regresijskom analizom. Sve varijable se opisane pomoću omjera izgleda (OR, engl. *odds ratio*) s pripadajućim intervalom pouzdanosti (95 % CI, engl. *confidence interval*). Varijable koje su u multivarijatnoj regresiji bile statistički značajne ( $P < 0,05$ ) smatrane su prediktivnim varijablama ishoda.

## 4 REZULTATI

### 4.1 DEMOGRAFSKI PODACI ISPITANIKA

Osnovne karakteristike ispitanika s akutnim moždanim udarom i kontrolnih ispitanika prikazane su Tablica 7.

U skupini ispitanika s moždanim udarom (N = 250) bilo je 118 žena i 132 muškarca, dok su u skupini kontrolnih ispitanika (N = 100) bile 63 žene i 37 muškaraca. Skupine ispitanika statistički su se značajno razlikovale po dobi (P < 0,001) i po spolu (P = 0,006). Žene su bile statistički značajno starije u skupini bolesnika (P < 0,001), dok se dob muškaraca nije statistički značajno razlikovala između skupina (P = 0,305).

S obzirom na učestalost čimbenika rizika za nastanak moždanog udara udio ispitanika s arterijskom hipertenzijom u skupini bolesnika statistički se značajno razlikovao od skupine kontrolnih ispitanika (P < 0,001), kao i u slučaju šećerne bolesti (P < 0,001).

Udio pušača kod ispitanika s moždanim udarom i kontrolnih ispitanika bio je 12% te se nije statistički značajno razlikovao između skupina (P = 0,893). Statistički značajna razlika između skupina nije opažena niti u slučaju konzumacije alkohola (P = 0,140).

**Tablica 7.** Demografski podaci ispitanika s akutnim moždanim udarom i kontrolnih ispitanika

		<i>Kontrole</i> (N=100)	<i>MU*</i> (N=250)	P
<b>Dob</b> (godine)	Svi	69 (55-90)	74 (35-92)	<b>&lt;0,001</b>
	ž	68 (55-90)	76 (44-92)	<0,001
	m	69 (57-87)	71 (35-90)	0,305
<b>Spol</b> (N, %)	ž	63 (63)	118 (47)	<b>0,006</b>
	m	37 (37)	132 (53)	
<b>Hipertenzija</b> (N, %)	da	60 (60)	202 (81)	<b>&lt;0,001</b>
	ne	40 (40)	48 (19)	
<b>Pušači</b> (N, %)	da	12 (12)	31 (12)	0,893
	ne	88 (88)	219 (88)	
<b>Šećerna bolest</b> (N, %)	da	8 (8)	67 (27)	<b>&lt;0,001</b>
	ne	92 (92)	183 (73)	
<b>Konzumacija alkohola</b> (N, %)	da	9 (11)	42 (17)	0,140
	ne	76 (89)	200 (83)	

\* MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

U Tablica 8. prikazana je zastupljenost čimbenika rizika za nastanak moždanog udara u skupini ispitanika s moždanim udarom. Najzastupljeniji rizični čimbenik bila je fibrilacija atrijska opažena kod 67/250 ispitanika. Drugi rizični čimbenik po zastupljenosti je bila pretilost koja je zabilježena kod 63 ispitanika. Prethodni moždani udar u anamnezi imalo je 48 (19,4 %) ispitanika. Najniži udio među rizičnim čimbenicima zabilježen je u slučaju preboljenog akutnog infarkta miokarda koji je bio zastupljen kod 11,8 % ispitanika.

**Tablica 8.** Čimbenici rizika u ispitanika s akutnim ishemijskim moždanim udarom (N=250)

<i>Čimbenik rizika</i>	<i>N (%)</i>
Fibrilacija atrijska	67 (27,9%)
Pretilost	63 (25,8%)
Akutni infarkt miokarda	29 (11,8%)
Prethodni moždani udar	48 (19,4%)

## 4.2 BIOKEMIJSKI I HEMATOLOŠKI PARAMETRI U ISPITIVANIM SKUPINAMA

Objema skupinama ispitanika izmjereni su parametri lipidnog statusa i upale (Tablica 9). Koncentracije triglicerida i HDL-kolesterola nisu se statistički značajno razlikovale između skupine ispitanika s moždanim udarom i kontrolnih ispitanika ( $P = 0,387$ ). Statistički značajno niže koncentracije opažene su u skupini ispitanika s oždanim udarom za ukupni kolesterol i LDL-kolesterol ( $P < 0,001$ ). S druge strane, koncentracije glukoze i CRP-a bile su statistički značajno niže u skupini zdravih ispitanika ( $P < 0,001$ ). Broj leukocita pokazao se statistički značajno viši u ispitanika s moždanim udarom ( $P < 0,001$ ).

**Tablica 9.** Koncentracije biokemijskih parametara i broja leukocita u ispitivanim skupinama

<i>Parametar</i>	<i>Kontrole</i> ( <i>N = 100</i> )	<i>MU*</i> ( <i>N = 250</i> )	<i>P</i>
<b>trigliceridi</b> (mmol/L)	1,6 (1,41,7)	1,5 (1,41,6)	0,387
<b>ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	6,5 ± 1,2	5,5 ± 1,3	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL kolesterol</b> (mmol/L)	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,8	0,302
<b>LDL kolesterol</b> (mmol/L)	4,1 (3,94,3)	3,4 (3,33,5)	<b>&lt;0,001</b>
<b>glukoza</b> (mmol/L)	5,0 (4,75,2)	7,0 (6,67,3)	<b>&lt;0,001</b>
<b>broj leukocita</b> ( $10^9/L$ )	6,6 ± 1,7	9,3 ± 4,0	<b>&lt;0,001</b>
<b>CRP</b> (mg/L)	2,3 (2,12,7)	8,5 (7,411,9)	<b>&lt;0,001</b>

\* MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

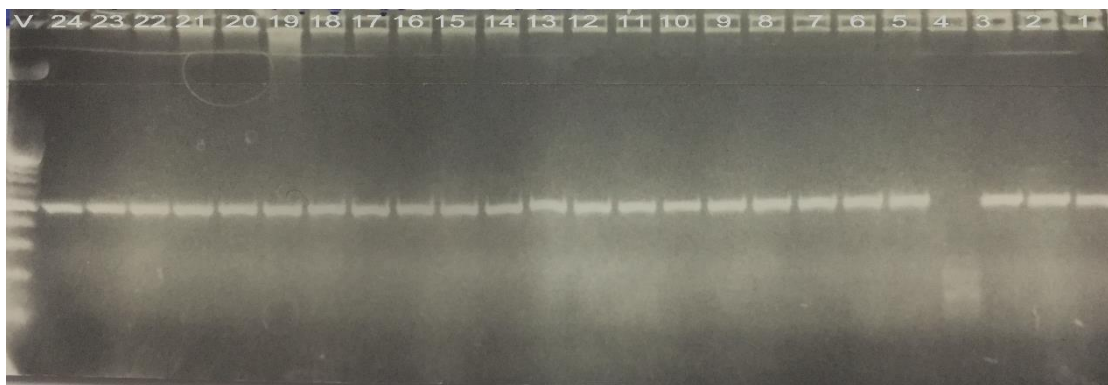
### 4.3 UČESTALOST GENSKIH VARIJANTI U ISPITIVANIM SKUPINAMA

Određivanje genskih varijanti u *F5*, *F2*, *FGB*, *F13A1*, *SERPINE1*, *ACE* i *APOA5* učinjeno je za kontrolne ispitanike i ispitanike s moždanim udarom. Učestalosti genotipova i alela kao i razlike u distribuciji između ispitivanih skupina prikazane su za svaku gensku varijantu.

#### 4.3.1 Učestalost genske varijante u genu *F5* (rs6025)

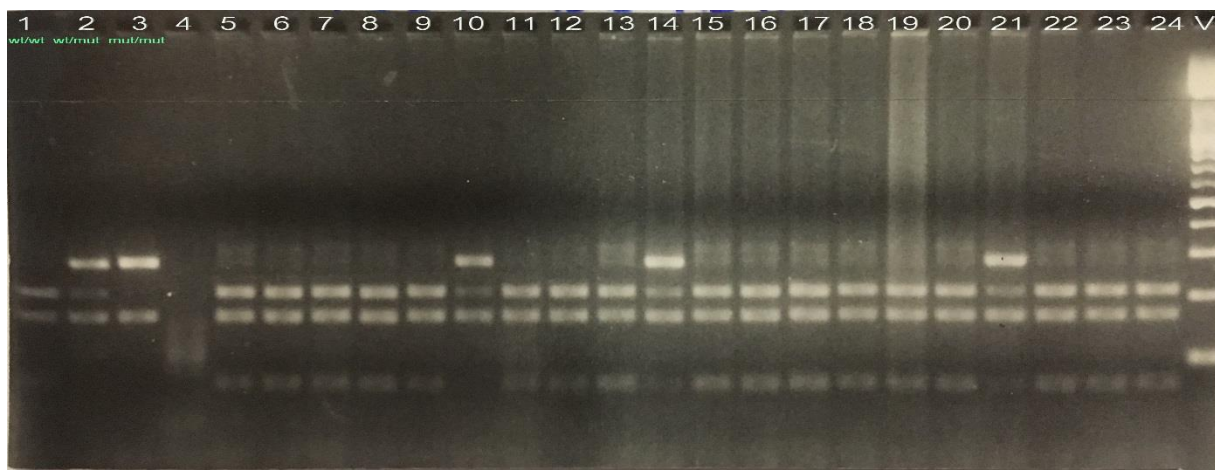
Učestalost varijante Leiden na eksonu 10 gena *F5* koja zbog tranzicije gvanina u adenin na poziciji 1691 rezultira zamjenom arginina glicinom na 506 mjestu (R506Q) u proteinu faktor V ispitana je u obje ispitivane skupine.

Na Slika 1. prikazana je kontrolna elektroforeza umnoženog PCR produkta dugačkog 223 bp.



**Slika 1.** Kontrolna elektroforeza umnoženog PCR produkta za F5 Leiden. U linijama 13 nalaze se kontrolni uzorci, u liniji 4 je slijepa proba, a u linijama 5 – 24 uzorci ispitanika. U liniji 25 nalazi se marker XIII (50 bp).

Dobiveni PCR produkti cijepani su restrikcijским enzimom *Mnl I*. Enzim cijepa mutirani alel (A) na dva odsječka, od 141 bp i 82 bp. U slučaju divljeg alela (G) enzim će pocijepati DNA na poziciji 1691 te se na elektroforezi restrikcijских odsječaka uočavaju odsječci od 104 bp, 82 bp i 37 bp. Na Slika 2 prikazana je elektroforeza restrikcijских odsječaka varijante 1691G/A u genu *F5*.



**Slika 2.** Elektroforetsko razdvajanje restrikcijskih odsječaka varijante 1691G/A u genu za *F5*. U linijama 1 – 3 nalaze se kontrolni uzorci (G/G, G/A, A/A); u liniji 4 je slijepa proba; u linijama 5 – 9, 11 – 13, 15 – 20 i 22 – 24 vidljiv je genotip G/G; u linijama 10, 14 i 21 prisutan je genotip G/A; u liniji V nalazi se marker od 50 bp.

U Tablica 10. prikazane su učestalosti genotipova i alela u skupini zdravih ispitanika i ispitanika s moždanim udarom. Distribucija genotipova nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,758$ ). Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti ispitivanog genotipa između ispitivanih skupina [OR (95% CI) 1,22 (0,324,60);  $P = 0,769$ ].

**Tablica 10.** Distribucija varijante *F5* (rs6025)

<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole</i> N (%)	<i>MU*</i> N (%)	<i>OR (95% CI)</i>	<i>P</i>
G/G	94 (94,0)	241 (96,4)	1,22 (0,324,60)	0,769
G/A	6 (6,0)	9 (3,6)		
A/A	/	/		
G	194 (97,0)	491 (98,2)	1,22 (0,334,54)	0,771
A	6 (3,0)	9 (1,8)		

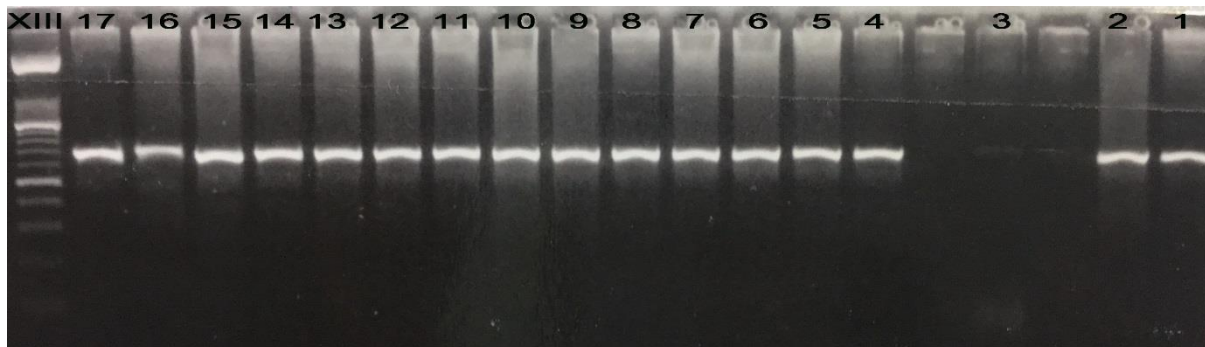
\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom



### 4.3.2 Učestalost genske varijante u genu *F2* (rs1799963)

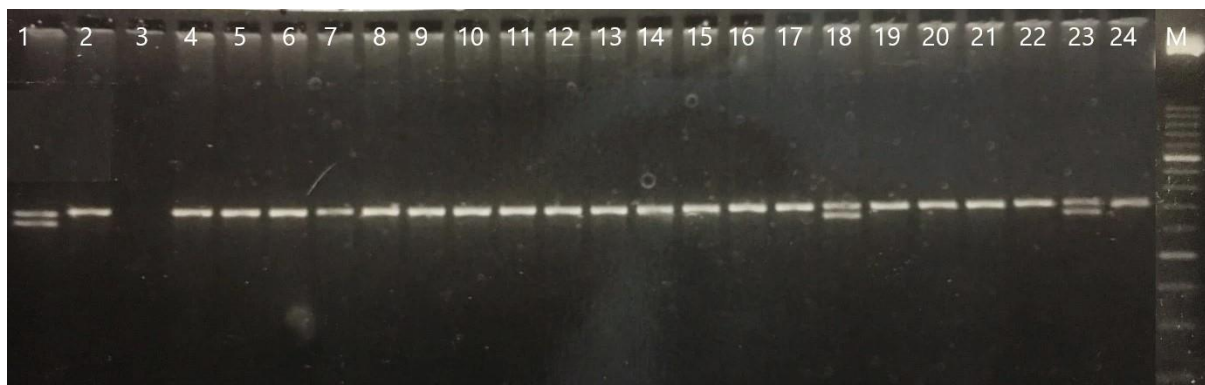
Genska varijanta rs1799963 karakterizirana je zamjenom gvanina adeninom na 3'-netranslacijske regije (20210G/A) gena za *F2* i rezultira povećanom sintezom faktora II.

Na Slika 3. prikazana je kontrolna elektroforeza umnoženog PCR produkta dugačkog 345 bp.



**Slika 3.** Kontrolna elektroforeza PCR produkta *F2*. U linijama 1 i 2 nalaze se kontrolni uzorci, u liniji 3 je slijepa proba, a linije 4 – 17 su uzorci ispitanika. U jažice neoznačenih linija nije nanesen uzorak. U liniji XIII nalazi se marker od 100 bp.

Restriksijski enzim *Hind III* cijepa mutirani alel (A) na odječke od 322 bp i 23 bp, dok divlji alel (G) ostaje nepocijepan restriksijskim enzimom (345 bp). Slika 4. prikazuje elektroforezu restriksijskih odsječaka za varijantu 20210G/A.



**Slika 4.** Elektroforetsko razdvajanje restriksijskih odsječaka varijante 20210G/A u genu za *F2*. U linijama 1 i 2 vidljivi su genotipovi kontrolnih uzoraka (1 – G/A; 2 – G/G), u liniji 3 je slijepa proba; u linijama 4 – 17, 19, 22 i 24 vidljiv je genotip G/G, dok je u linijama 18 i 23 vidljiv genotip G/A. U liniji M je marker od 100 bp.

U Tablica 11. prikazana je učestalost varijante 20210G/A u genu *F2* u zdravih i ispitanika s moždanim udarom. Učestalost ispitivanog genotipa nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,880$ ). Nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti ispitivanog genotipa između skupina [OR 0,39 (95% CI 0,1 – 1,24);  $P = 0,110$ ].

**Tablica 11.** Distribucija varijante u genu *F2* (rs1799963)

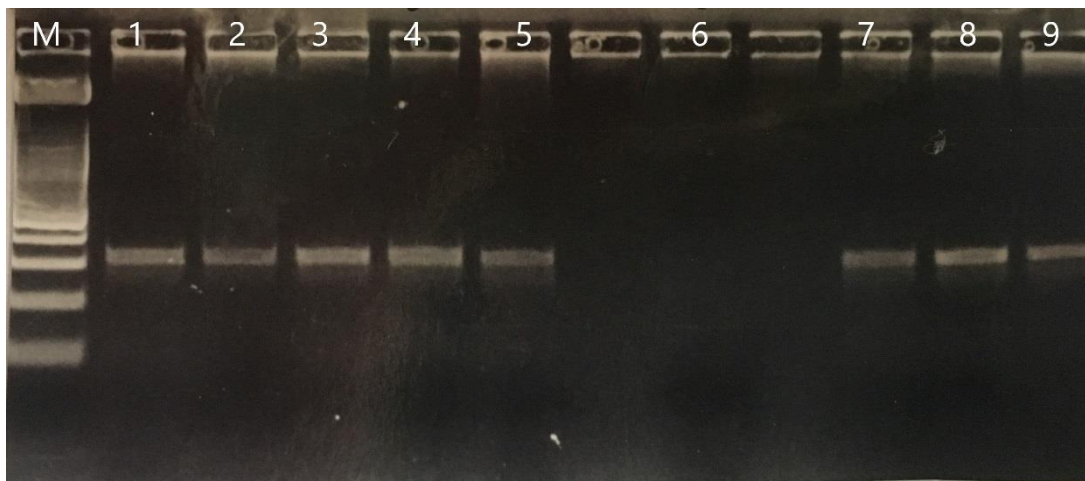
<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole</i> <i>N (%)</i>	<i>MU*</i> <i>N (%)</i>	<i>OR (95 % CI)</i>	<i>P</i>
G/G	97 (97,0)	244 (97,6)	0,39 (0,121,24)	0,110
G/A	3 (3,0)	6 (2,4)		
A/A	/	/		
G	194 (98,5)	494 (98,8)	0,40 (0,131,25)	0,113
A	3 (1,5)	6 (1,2)		

\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

### 4.3.3 Učestalost genske varijante u genu za *FGB* (rs1800790)

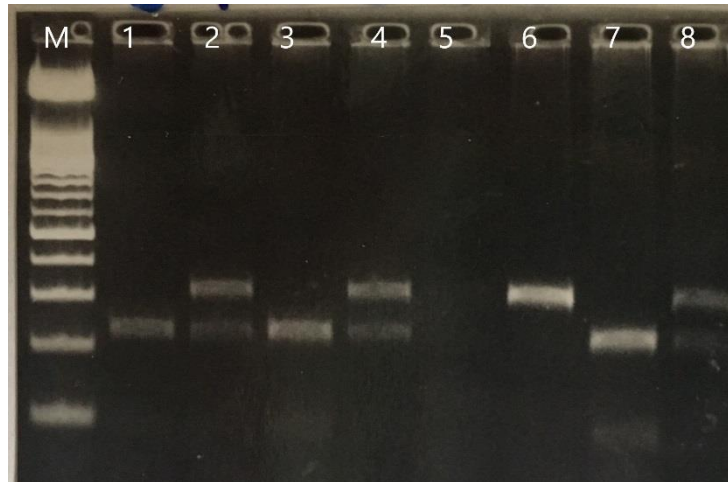
U obje skupine ispitanika određena je učestalost genske varijante rs1800790 u kojoj dolazi do zamjene gvanina s adeninom na 455 mjestu u promotoru gena za beta lanac fibrinogena (-455G/A) što za posljedicu ima pojačanu sintezu fibrinogena.

Uspješnost umožavanja odječka DNA dugačkog 159 bp za analizu genotipova *FGB* prikazana je na Slika 5.



**Slika 5.** Kontrolna elektroforeza PCR-a produkata *FGB*. U liniji M nalazi se molekularni marker od 50 bp. U linijama 1 – 5 uzorci ispitanika, u liniji 6 je slijepa proba, a linije 7 – 8 su kontrolni uzorci. U neoznačenim linijama nije bio nanesen uzorak.

Restrikcija PCR produkta duljine 159 bp učinjena je pomoću enzima *Hae III*. Restriksijski enzim cijepa alel G na odsječke duljine 114 bp i 45 bp, dok alel A ne cijepa te se na elektroforezi restriksijskih odsječaka uočava kao odsječak duljine 159 bp (Slika 6).



**Slika 6.** Elektroforetsko razdvajanje odsječaka genotipova *FGB*. U liniji M je molekularni marker od 50 bp. U linijama 1 i 3 vidljiv je genotip G/G, u linijama 2 i 4 genotip G/A, u liniji 5 je slijepa proba. U linijama 6 – 8 su kontrolni uzorci: linija 6 je kontrolni uzorak za genotip A/A, u liniji 7 za genotip G/G, a u liniji 8 za genotip G/A.

Razlike u učestalosti genetske varijante -455GA u genu za *FGB* između skupine zdravih ispitanika i ispitanika s moždanim udarom prikazana je u Tablica 12. Ispitivani genotip nije odstupao od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,381$ ). Analiza učestalosti ispitivanog genotipa nije pokazala statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina [OR 1,12 (95% CI 0,69 – 1,82);  $P = 0,643$ ].

**Tablica 12.** Distribucija varijante u genu *FGB* (rs1800790)

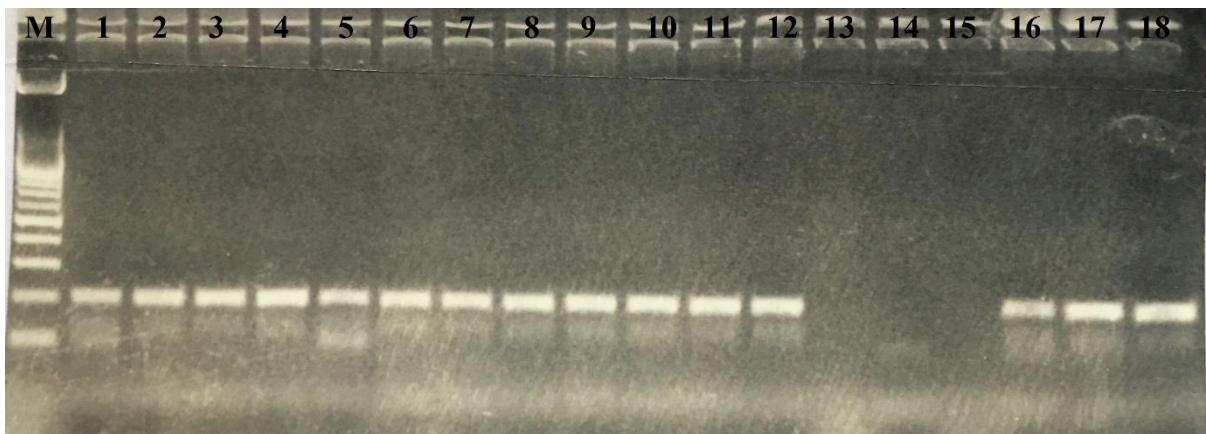
<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole</i> <i>N (%)</i>	<i>MU*</i> <i>N (%)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>P</i>
G/G	56 (56,6)	128 (52,5)	1,12 (0,691,82)	0,643
G/A	39 (39,4)	100 (41,0)	1,75 (0,565,47)	0,336
A/A	4 (4,0)	16 (6,6)		
G	151 (76,3)	356 (73,0)	1,19 (0,811,75)	0,371
A	47 (23,7)	132 (27,0)		

\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

#### 4.3.4 Učestalost genske varijante u genu za *SERPINE1* (rs1799768)

U genskoj varijanti rs1799768 dolazi do delecije jednog nukleotida gvanina (5G/4G) u promotoru gena za *SERPINE1* što rezultira nemogućnošću vezanja transkripcijskog represora i posljedično pojačanom sintezom proteina.

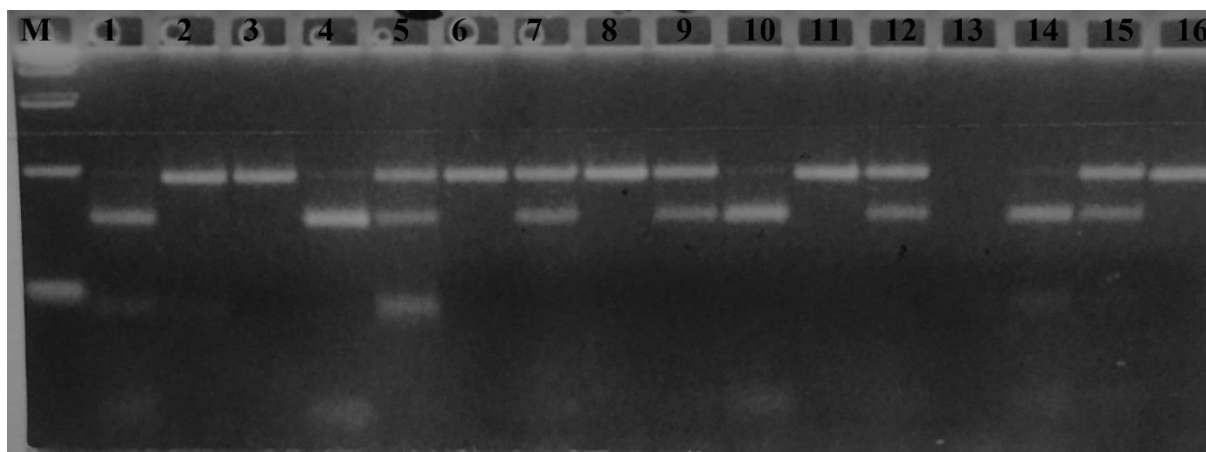
Uspješnost umnožavanja odsječka DNA dugačkog 100 bp za analizu genotipova *SERPINE1* prikazana je na Slika 7.



**Slika 7.** Kontrolna elektroforeza PCR produkta varijante 4G/5G *SERPINE1*. U liniji M nalazi se molekularni marker duljine 100 bp. Linije 1 – 12 su uzorci ispitanika, linija 13 i 15 su prazne, a linija 14 je slijepa proba. U linijama 16 – 18 su kontrolni uzorci.

Analiza duljina restrikcijskih odsječaka učinjena je pomoću restrikcijskog enzima *Bsi I*. Enzim cijepa divlji alel (5G) na dva odsječka, od 77 i 23 bp, dok mutirani alel (4G) ostaje nepocijepan i duljine je 99 bp.

Na Slika 8. prikazano je elektroforetsko razdvajanje genotipova 5G/4G u genu *SERPINE1*.



**Slika 8.** Elektroforetsko razdvajanje restrikcijskih odsječaka varijante gena *SERPINE1*. U liniji M nalazi se molekularni marker od 100 bp. U linijama 1, 4 i 10 je prisutan genotip 5G/5G, u linijama 5, 7, 9 i 12 vidljiv je genotip 5G/4G, a u linijama 2, 3, 6, 8 i 11 genotip 4G/4G. U liniji 13 je slijepa proba, a linije 14-16 su kontrolni uzorci. U liniji 14 je kontrola 5G/5G, u liniji 15 je 5G/4G, a u liniji 16 je kontrola 4G/4G.

Učestalost insercijsko-delecijske varijante 1 bp (5G/4G) gena *SERPINE1* prikazana je u Tablica 13. Učestalost ispitivanog genotipa nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,380$ ). Nije bilo statistički značajne razlike između ispitivanih skupina i genotipova: 5G/5G vs 5G/4G [OR 0,59 (95% CI 0,31 – 1,11);  $P = 0,103$ ]; 5G/5G vs 4G/4G [OR 0,75 (95% CI 0,38 – 1,49);  $P = 0,416$ ]. Također, nije bilo statistički značajne razlike niti u učestalosti alela između ispitivanih skupina [OR 0,90 (95% CI 0,651,26);  $P = 0,542$ ]. 0,75 (0,381,49)

**Tablica 13.** Distribucija varijante u genu *SERPINE1* (rs1799768)

<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole</i> <i>N (%)</i>	<i>MU*</i> <i>N (%)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>P</i>
5G/5G	17 (16,8)	58 (23,8)	0,59 (0,311,11)	0,103
5G/4G	54 (53,5)	109 (44,7)	0,75 (0,381,49)	0,416
4G/4G	30 (29,7)	77 (31,6)		
5G	88 (43,6)	225 (46,1)	0,90 (0,651,26)	0,542
4G	114 (56,4)	263 (53,9)		

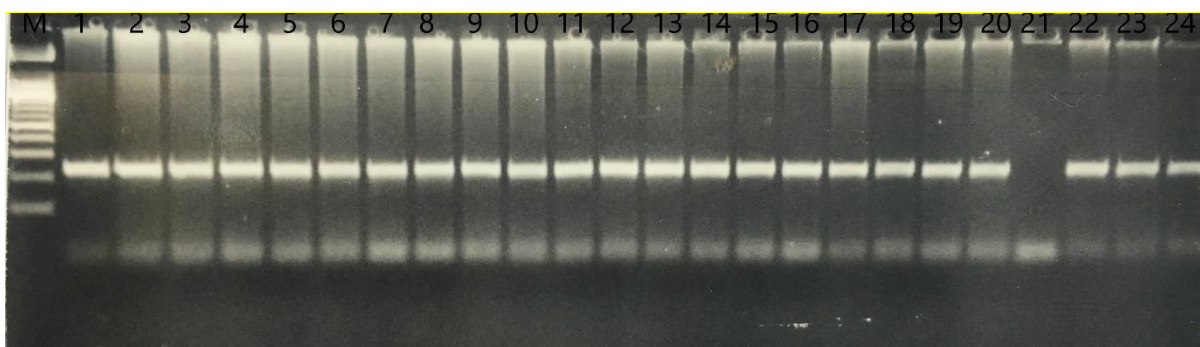
\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom



#### 4.3.5 Učestalost genske varijante u genu *F13A1* (rs5985)

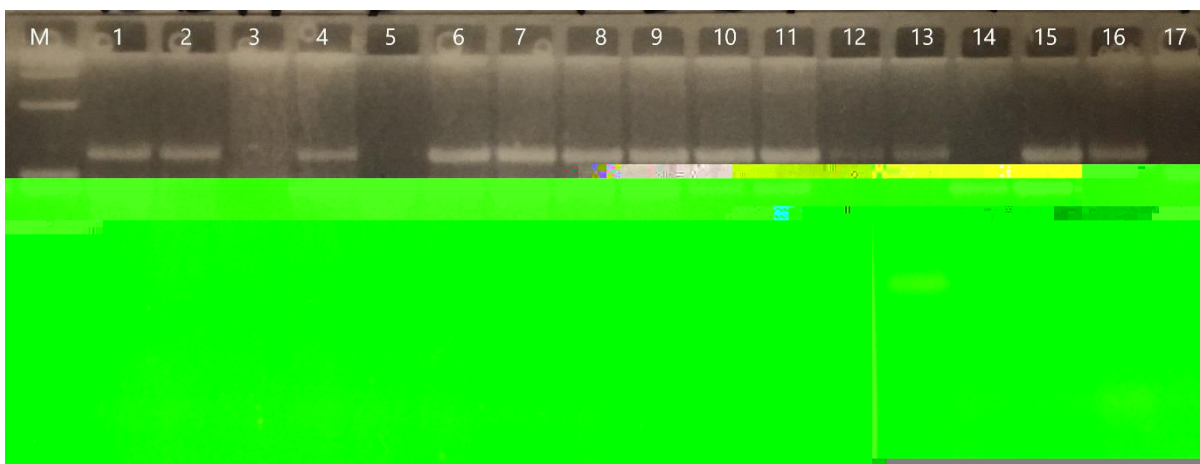
Gensku varijantu rs5985 karakterizira zamjena gvanina timinom u eksonu 2 gena za F13 podjedinice A1. Zamjena G-T rezultira supstitucijom valina leucinom na 34 poziciji (V34L) u podjedinici A faktora XIII što za posljedicu ima sintezu proteina koji se pojačano aktivira pomoću trombina.

Na Slika 9. prikazana je kontrolna elektroforeza PCR produkata V34L duljine 114 bp.



**Slika 9.** Kontrolna elektroforeza PCR produkata *F13A1*. U liniji M je molekularni marker od 50 bp. U linijama 1-20 su uzorci ispitanika, u liniji 21 je slijepa proba, a u linijama 22 – 24 su kontrolni uzorci.

Analiza duljine restrikcijskih odsječaka učinjena je pomoću restrikcijskog enzima *Dde I*. Enzim cijepa mutirani alel (L) na odsječke duljine 92 i 22 bp, dok divlji alel (V) ostaje nepocijepan, duljine 114 bp. Slika 10. prikazuje elektroforetsko razdvajanje genotipova V34L.



**Slika 10.** Elektroforetsko razdvajanje restrikcijskih odsječaka varijanti *F13A1*. U liniji M je molekularni marker od 50 bp. U linijama 1, 2, 6 – 13 je vidljiv genotip V/L, u liniji 3 je uočljiv genotip L/L, a u liniji 4 genotip V/V. U liniji 14 je slijepa proba, u liniji 15 kontrolni uzorak za genotip V/V, u liniji 16 za genotip V/L, a u liniji 17 kontrolni uzorak za genotip L/L.

U Tablica 14. prikazana je učestalost genotipa V34L u genu za podjedinicu A1 F13 (rs5985) u skupini zdravih ispitanika i ispitanika s moždanim udarom. Ispitivani genotip odstupao je od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,035$ ). Između skupina nije bio statistički značajne razlike u učestalosti ispitivanih genotipova [OR 1,02 (0,61 – 1,70),  $P = 0,941$ ].

**Tablica 14.** Distribucija varijante u genu *F13A1* (rs5985)

<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole</i> <i>N (%)</i>	<i>MU*</i> <i>N (%)</i>	<i>OR (95 % CI)</i>	<i>P</i>
V/V	57 (56,4)	138 (57,5)	1,02 (0,611,70)	0,941
V/L	32 (31,7)	79 (32,9)	0,79 (0,371,70)	0,549
L/L	12 (11,9)	23 (9,6)		
V	146 (72,3)	355 (74,0)	0,92 (0,631,33)	0,650
L	56 (27,7)	125 (26,0)		

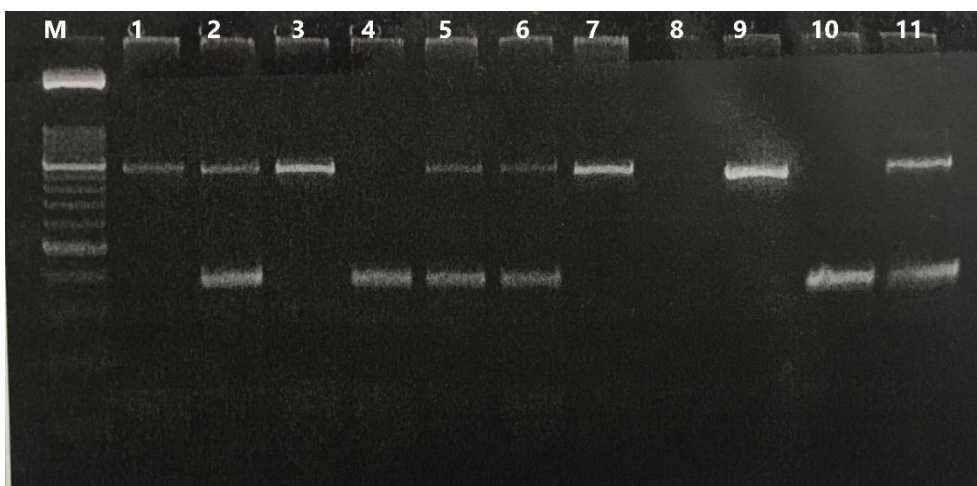
\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom



#### 4.3.6 Učestalost varijante u genu *ACE* (rs4340)

Gensku varijantu rs4340 karakterizira insercija/delecija *Alu* ponavljajućeg slijeda 288 bp u intronu 16 gena *ACE*. Delecijski alel D rezultira pojačanom sintezom enzima ACE.

Analiza genotipova za *ACE* učinjena je elektroforetskim razdvajanjem PCR produkata (Slika 11). Insercijski alel (I) sadrži *Alu* ponavljajući slijed te zbog svoje duljine (490bp) zaostaje u elektroforetskom razdvajanju za delecijskim alelom (D) (190bp).



**Slika 11.** Elektroforetsko razdvajanje genotipova *ACE*. U liniji 1 je molekularni marker 100 bp, linije 1 – 7 su uzorci ispitanika, u liniji 8 je slijepa proba, a linije 9 – 11 su kontrolni uzorci. U liniji 9 je kontrolni uzorak za genotip I/I, u liniji 10 kontrolni uzorak za genotip D/D, a u liniji 11 kontrolni uzorak za genotip I/D.

Učestalost insercijsko-delecijske varijante u intronu 16 gena *ACE* (rs4340) prikazana je u Tablica 15. Učestalost ispitivanog genotipa nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,313$ ). Razlika učestalosti genotipova *ACE* između ispitivanih skupina nije bila statistički značajna [OR 0,74 (95 % CI 0,38 – 1,43);  $P = 0,371$ ].

**Tablica 15.** Distribucija varijante u genu *ACE* (rs4340)

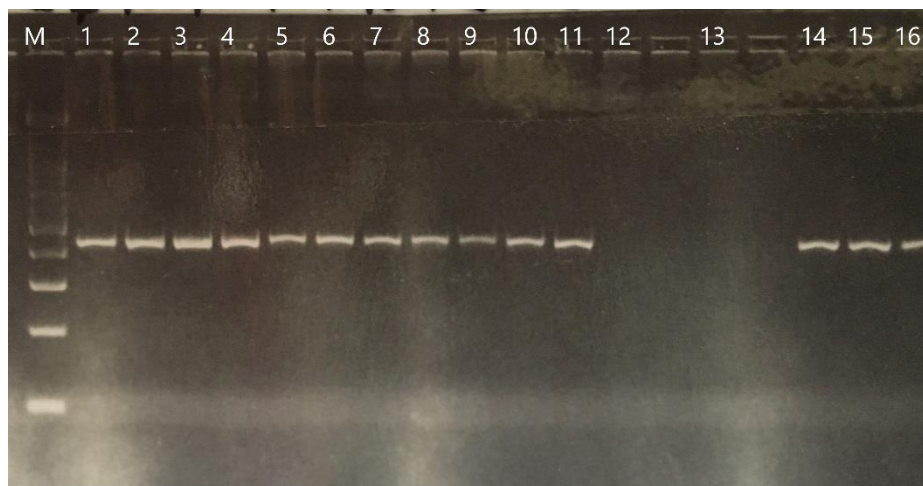
<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole</i> <i>N (%)</i>	<i>MU*</i> <i>N (%)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>P</i>
I/I	15 (14,9)	47 (19,2)	0,74 (0,381,43)	0,371
I/D	54 (53,5)	125 (51,0)	0,73 (0,361,49)	0,384
D/D	32 (31,7)	73 (29,8)		
I	84 (41,6)	219 (44,7)	0,88 (0,631,23)	0,454
D	118 (58,4)	271 (55,3)		

\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

#### 4.3.7 Učestalost varijante u genu *APOA5* (rs662779)

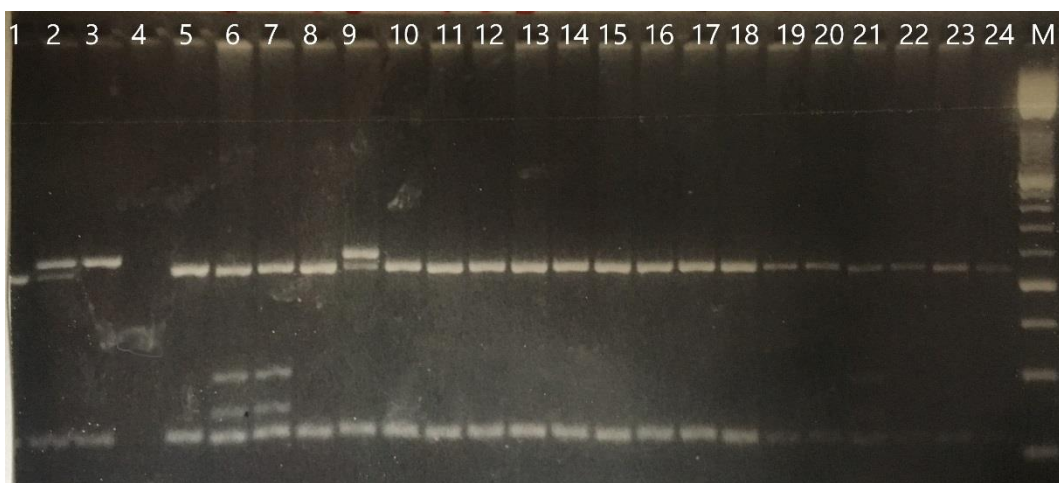
Gensku varijantu rs662779 karakterizira zamjena timina citozinom na -1131 mjestu (-1131T/C) u promotorskoj regiji gena *APOA5*, a rezultira smanjenom sintezom proteina Apo AV.

Kontrolna elektroforeza PCR produkata duljine 398 bp prikazana je na Slika 12.



**Slika 12.** Kontrolna elektroforeza PCR produkata *APOA5*. U liniji M je molekularni marker od 100 bp. U linijama 1 – 12 uzorci ispitanika, u liniji 13 je slijepa proba, a u linijama 14 -16 kontrolni uzorci. U neoznačene linije nije nanesen uzorak. U liniji 12 nema PCR produkta tj. nije uspjelo umnažanje DNA.

Analiza duljine restrikcijskih odsječaka učinjena je pomoću restrikcijskog enzima *Mse I*. Enzim cijepa mutirani alel (C) na odsječke duljine 289 i 109 bp, dok divlji alel (T) cijepa na tri odsječka duljine 267, 109 i 22 bp. Slika 13 prikazuje elektroforetsko razdvajanje genotipova *APOA5*.



**Slika 13.** Elektroforetsko razdvajanje restrikcijskih odsječaka *APOA5*. U linijama 1 -3 nalaze se kontrolni uzorci: u liniji 1 je kontrolni uzorak za genotip T/T, u liniji 2 za genotip T/C, a u liniji 3 za genotip C/C. U linijama 5 – 8 i 10 – 24 vidljivi su genotipovi T/T, a u liniji 9 uočava se genotip T/C. U liniji M je molekularni marker od 50 bp.

U Tablica 16 prikazana je učestalost varijante -1131T/C u genu *APOA5* u skupini zdravih ispitanika i ispitanika s moždanim udarom. Učestalost ispitivanog genotipa nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže ( $P = 0,444$ ). Ispitivanje razlike učestalosti genotipova između skupina nije pokazalo statistički značajnu razliku [OR 1,02 (0,52 – 1,99);  $P = 0,960$ ].

**Tablica 16.** Distribucija varijante u genu *APOA5* (rs662779)

<i>Genotip/alel</i>	<i>Kontrole N (%)</i>	<i>MU* N (%)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>P</i>
T/T	83 (85,6)	204 (85,0)	1,02 (0,52-1,99)	0,960
T/C	14 (14,4)	35 (14,6)	1,22 (0,05-30,37)	0,901
C/C	/	1 (0,4)		
T	180 (86,5)	443 (92,3)	1,07 (0,57 – 2,03)	0,827
C	14 (7,2)	37 (7,7)		

\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

## **4.4 POVEZANOST BIOKEMIJSKIH PARAMETARA I GENSKIH VARIJANTI**

### **4.4.1 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova *APOA5***

U Tablica 17 prikazana je povezanost genotipova za gensku varijantu *APO5* i ispitivanih biokemijskih parametara. Koncentracija ukupnog kolesterola pokazala se statistički značajno nižom kod nositelja C alela *APO5* u zdravih ispitanika ( $P = 0,005$ ). Za ostale biokemijske parametre nije pronađena statistički značajna razlika u koncentraciji u ovisnosti o genotipu - 1131T/C *APOA5*. U skupini ispitanika s moždanim udarom, također, nije pronađena značajna povezanost ispitivanih genotipova *APOA5* i biokemijskih parametara.

**Tablica 17** Povezanost genotipova *APOA5* i biokemijskih parametara

<i>Parametar</i>	<i>Kontrole</i> ( <i>N</i> = 98)		<i>MU**</i> ( <i>N</i> = 231)		<i>Svi</i> ( <i>N</i> = 329)	
	T/T	T/C + C/C	T/T	T/C + C/C	T/T	T/C + C/C
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,5 (1,1-1,9)	2,0 (1,2-3,4)	1,5 (1,1-2,1)	1,5 (0,9-2,2)	1,5 (1,1-2,1)	1,6 (1,1-2,6)
	$P^* = 0,066$		$P^\# = 0,759$		$P^\dagger = 0,432$	
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	6,3 (5,6-7,1)	6,3 (5,7-7,3)	5,5 (4,5-6,3)	5,1 (4,7-6,4)	5,7 (4,8-6,6)	5,6 (4,8-6,5)
	$P^* = 0,985$		$P^\# = 0,573$		$P^\dagger = 0,708$	
<b>HDL – kolesterol</b> (mmol/L)	1,5 (1,3-1,6)	1,2 (1,0-1,4)	1,2 (1,0-1,5)	1,3 (1,1-1,7)	1,3 (1,1-1,5)	1,3 (1,1-1,6)
	$P^* = 0,005$		$P^\# = 0,112$		$P^\dagger = 0,941$	
<b>LDL – kolesterol</b> (mmol/L)	4,1 (3,4-4,9)	4,0 (3,3-4,7)	3,4 (2,8-4,1)	3,4 (2,8-4,0)	3,6 (3,0-4,3)	3,4 (2,9-4,2)
	$P^* = 0,704$		$P^\# = 0,368$		$P^\dagger = 0,396$	
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	5,0 (4,3-6,1)	4,8 (4,3-5,4)	7,0 (5,8-9,7)	6,9 (6,0-7,7)	6,3 (5,3-8,7)	6,2 (5,1-7,4)
	$P^* = 0,397$		$P^\# = 0,402$		$P^\dagger = 0,275$	
<b>CRP (mg/L)</b>	2,3 (1,7-3,9)	2,7 (2,2-15,3)	9,4 (5,0-30,8)	8,0 (5,0-23,3)	6,0 (3,6-22,2)	6,0 (4,9-20,6)
	$P^* = 0,136$		$P^\# = 0,767$		$P^\dagger = 0,627$	

$P^*$  razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika;  $P^\#$  razlika između genotipova u ispitanika s MU;  $P^\dagger$  razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU – ispitanici s akutnim ishemijskim moždanim udarom

#### 4.4.2 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova F2

U Tablica 18 prikazana je povezanost genotipova F2 i biokemijskih parametara unutar ispitivanih skupina i za sve ispitanike. Koncentracija ukupnog kolesterola značajno je niža u skupini ispitanika s moždanim udarom koji su nositelji A alela ( $P = 0,018$ ), kao i u slučaju koncentracije HDL – kolesterola ( $P = 0,018$ ). Kod nositelja alela A u kontrolnoj skupini uočena je statistički značajno viša koncentracija LDL – kolesterola ( $P = 0,037$ ). Koncentracija CRP-a bila je statistički značajno viša kod nositelja A alela u skupini ispitanika s moždanim udarom ( $P = 0,017$ ).

**Tablica 18.** Povezanost genotipova F2 i biokemijskih parametara

Parametar	Kontrole (N = 100)		MU** (N = 242)		Svi (N = 342)	
	G/G	G/A	G/G	G/A	G/G	G/A
Trigliceridi (mmol/L)	1,6 (1,2 – 2,1)	1,3 (1,1 – 1,5)	1,5 (1,0 – 2,1)	1,5 (1,2 – 1,8)	1,5 (1,1 – 2,1)	1,3 (1,1 – 1,6)
	$P^* = 0,139$		$P^\# = 0,915$		$P^\dagger = 0,359$	
Ukupni kolesterol (mmol/L)	6,3 (5,6 – 7,1)	7,7 (6,2 – 7,8)	5,5 (4,6 – 6,3)	4,5 (3,9 – 4,9)	5,7 (4,8 – 6,6)	5,3 (4,5 – 7,7)
	$P^* = 0,093$		$P^\# = 0,018$		$P^\dagger = 0,908$	
HDL – kolesterol (mmol/L)	1,4 (1,2 – 1,6)	1,5 (1,4 – 1,5)	1,2 (1,0 – 1,5)	0,9 (0,9 – 0,9)	1,3 (1,1 – 1,6)	1,3 (0,9 – 1,5)
	$P^* = 0,385$		$P^\# = 0,018$		$P^\dagger = 0,477$	
LDL – kolesterol (mmol/L)	4,1 (3,4 – 4,7)	5,7 (4,1 – 5,9)	3,4 (2,8 – 4,1)	2,8 (2,4 – 3,3)	3,6 (3,0 – 4,2)	3,4 (2,8 – 5,7)
	$P^* = 0,037$		$P^\# = 0,096$		$P^\dagger = 0,684$	
Glukoza (mmol/L)	5,0 (4,3 – 6,1)	5,0 (4,3 – 5,3)	7,0 (5,8 – 9,3)	9,4 (5,7 – 12,2)	6,3 (5,3 – 8,4)	5,4 (5,0 – 9,4)
	$P^* = 0,646$		$P^\# = 0,407$		$P^\dagger = 0,370$	
CRP (mg/L)	2,4 (1,84,4)	1,7 (1,5 – 2,2)	8,2 (5,0 – 28,2)	49,5 (21,1 – 62,6)	6,0 (3,8 – 21,2)	6,7 (1,7 – 49,5)
	$P^* = 0,065$		$P^\# = 0,017$		$P^\dagger = 0,704$	

$P^*$  razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika;  $P^\#$  razlika između genotipova u ispitanika s MU;  $P^\dagger$  razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU ispitanici s moždanim udarom

#### 4.4.3 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova *F5*

U Tablica 19. prikazana je povezanost biokemijskih parametara i genotipova *F5 Leiden*. Nije uočena statistički značajna razlika u koncentracijama ispitivanih biokemijskih parametara i genotipova *F5 Leiden* u kontrolnoj skupini ispitanika. Također, niti u skupini ispitanika s moždanim udarom nije pronađena statistički značajna povezanost između biokemijskih parametara i genotipova *F5 Leiden*.

**Tablica 19.** Povezanost genotipova *F5 Leiden* i biokemijskih parametara

<i>Parametar</i>	<i>Kontrole</i> ( <i>N</i> = 100)		<i>MU**</i> ( <i>N</i> = 242)		<i>Svi</i> ( <i>N</i> = 342)	
	G/G	G/A	G/G	G/A	G/G	G/A
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,6 (1,2 – 2,1)	1,6 (1,42,4)	1,5 (1,0 – 2,1)	2,0 (1,3 – 2,2)	1,5 (1,1 – 2,1)	1,9 (1,4 – 2,2)
	P* = 0,660		P# = 0,270		P† = 0,240	
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	6,4 (5,7 – 7,2)	5,5 (4,5 – 6,3)	5,5 (4,5 – 6,3)	5,3 (5,0 – 5,6)	5,7 (4,8 – 6,6)	5,4 (4,9 – 6,1)
	P* = 0,496		P# = 0,857		P† = 0,469	
<b>HDL – kolesterol</b> (mmol/L)	1,4 (1,2 – 1,6)	1,5 (1,0 – 1,8)	1,2 (1,0 – 1,5)	1,1 (1,0 – 1,4)	1,3 (1,1 – 1,5)	1,2 (1,0 – 1,5)
	P* = 0,928		P# = 0,741		P† = 0,588	
<b>LDL – kolesterol</b> (mmol/L)	4,1 (3,4 – 4,9)	4,1 (2,54,4)	3,4 (2,8 – 4,1)	3,1 (2,9 – 3,8)	3,6 (3,0 – 4,3)	3,2 (2,8 – 4,0)
	P* = 0,502		P# = 0,560		P† = 0,330	
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	5,0 (4,36,1)	5,1 (4,95,7)	7,0 (5,8 – 9,5)	7,9 (5,6 – 12,6)	6,3 (5,3 – 8,4)	5,9 (5,2 – 10,2)
	P* = 0,652		P# = 0,769		P† = 0,778	
<b>CRP</b> (mg/L)	2,4 (1,7 – 4,2)	1,8 (1,52,0)	8,6 (5,0 – 29,2)	6,0 (5,0 – 40,4)	6,0 (3,621,6)	5,1 (3,6 – 18,0)
	P* = 0,152		P# = 0,925		P† = 0,770	

P\* razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika; P# razlika između genotipova u ispitanika s MU; P† razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU ispitanici s moždanim udarom



#### 4.4.4 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova *F13A1*

U skupini kontrolnih ispitanika nije pronađena statistički značajna povezanost između koncentracije ispitivanih biokemijskih parametara i genotipova *F13A1*. Koncentracije biokemijskih parametara nisu se značajno razlikovale po genotipu *F13A1* niti u skupini ispitanika s moždanim udarom. Podaci su prikazani u Tablica 20.

**Tablica 20.** Povezanost genotipova *F13A1* i biokemijskih parametara

Parametar	Kontrole (N = 100)			MU** (N = 240)			Svi (N = 340)		
	V/V	V/L	L/L	V/V	V/L	L/L	V/V	V/L	L/L
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,6 (1,1-2,1)	1,6 (1,2 – 1,9)	1,6 (1,1 – 2,9)	1,5 (1,1 – 2,1)	1,6 (1,1 – 2,1)	1,5 (1,3 – 2,2)	1,5 (1,1 – 2,1)	1,6 (1,2 – 2,1)	1,5 (1,2 – 2,3)
	P* = 0,872			P# = 0,739			P† = 0,668		
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	6,3 (5,7 – 7,0)	6,4 (5,77,6)	6,5 (5,5 – 7,4)	5,3 (4,5 – 6,1)	5,7 (4,7 – 6,8)	5,4 (4,6 – 6,4)	5,7 (4,8 – 6,4)	6,0 (4,9 – 7,1)	5,7 (4,8 – 6,6)
	P* = 0,713			P# = 0,175			P† = 0,150		
<b>HDL – kolesterol</b> (mmol/L)	1,4 (1,2 – 1,6)	1,4 (1,3 – 1,6)	1,5 (1,3 – 1,6)	1,2 (1,0 – 1,5)	1,2 (1,0 – 1,5)	1,2 (0,9 – 1,5)	1,3 (1,1 – 1,5)	1,3 (1,1 – 1,6)	1,3 (0,9 – 1,5)
	P* = 0,811			P# = 0,705			P† = 0,855		
<b>LDL – kolesterol</b> (mmol/L)	4,0 (3,5 – 4,7)	4,2 (3,45,4)	3,8 (3,2 – 4,8)	3,4 (2,7 – 4,0)	3,4 (2,9 – 4,4)	3,5 (2,4 – 4,2)	3,6 (3,0 – 4,2)	3,8 (3,0 – 4,7)	3,6 (2,8 – 4,3)
	P* = 0,625			P# = 0,343			P† = 0,293		
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	4,9 (4,3 – 5,7)	5,1 (4,36,2)	5,3 (4,67,5)	7,0 (5,8 – 8,8)	6,8 (5,8 – 10,0)	7,9 (6,1 – 10,3)	6,2 (5,28,3)	6,3 (5,3 – 8,8)	7,0 (5,4 – 9,5)
	P* = 0,271			P# = 0,483			P† = 0,347		
<b>CRP (mg/L)</b>	2,2 (1,7 – 3,9)	2,4 (1,8 – 4,5)	3,6 (2,2 – 5,5)	8,0 (5,0 – 32,1)	11,3 (5,0 – 30,4)	5,2 (5,0 – 28,0)	6,0 (3,6 – 21,7)	7,2 (3,2 – 22,3)	5,0 (3,6 – 12,5)
	P* = 0,546			P# = 0,618			P† = 0,621		

P\* razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika; P# razlika između genotipova u ispitanika s MU; P† razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU ispitanici s moždanim udarom

#### 4.4.5 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova *SERPINE1*

Ispitivanje povezanosti biokemijskih parametara i genotipova *SERPINE1* u skupini kontrolnih ispitanika nije pokazalo statistički značajnu razliku u koncentraciji biokemijskih parametara u ovisnosti o genotipu *SERPINE1*. Također, statistički značajna razlika nije pronađena niti u skupini ispitanika s moždanim udarom (Tablica 21).

**Tablica 21.** Povezanost genotipova *SERPINE1* i biokemijskih parametara

Parametar	Kontrolne (N = 100)			MU** (N = 244)			Svi (N = 344)		
	5G/5G	5G/4G	4G/4G	5G/5G	5G/4G	4G/4G	5G/5G	5G/4G	4G/4G
Trigliceridi (mmol/L)	1,4 (1,1 – 1,8)	1,7 (1,2 – 2,4)	1,5 (1,2 – 1,8)	1,6 (1,2-2,2)	1,0 (1,5 – 2,2)	1,4 (1,0-1,9)	1,5 (1,2 – 2,1)	1,6 (1,1 – 2,3)	1,5 (1,1 – 1,8)
	P* = 0,235			P# = 0,272			P† = 0,239		
Ukupni kolesterol (mmol/L)	6,2 (5,6 – 6,7)	6,4 (5,4 – 7,4)	6,4 (6,0 – 7,1)	5,5 (4,6 – 6,2)	5,4 (4,6 – 6,3)	5,4 (4,6 – 6,5)	5,6 (4,9 – 6,2)	5,8 (4,8 – 6,7)	5,7 (4,9 – 6,7)
	P* = 0,623			P# = 0,924			P† = 0,449		
HDL – kolesterol (mmol/L)	1,4 (1,3 – 1,6)	1,4 (1,21,5)	1,5 (1,3 – 1,7)	1,2 (1,0-1,3)	1,2 (1,0-1,5)	1,3 (1,0 – 1,6)	1,2 (1,1 – 1,5)	1,3 (1,0 – 1,5)	1,3 (1,1 – 1,6)
	P* = 0,488			P# = 0,596			P† = 0,385		
LDL – kolesterol (mmol/L)	4,1 (3,4 – 4,4)	4,1 (3,3 – 4,9)	4,1 (3,7 – 4,8)	3,4 (2,8-4,1)	3,5 (2,8-4,2)	3,4 (2,9-4,1)	3,5 (3,0 – 4,1)	3,6 (2,9 – 4,3)	3,7 (3,0 – 4,5)
	P* = 0,775			P# = 0,752			P† = 0,460		
Glukoza (mmol/L)	4,7 (4,5 – 5,0)	5,2 (4,3 – 6,1)	4,8 (4,2 – 5,5)	6,9 (5,7 – 8,7)	6,9 (5,8 – 9,6)	7,3 (6,0 – 9,2)	6,1 (5,1 – 8,5)	6,1 (5,3 – 8,2)	6,3 (5,2 – 8,5)
	P* = 0,304			P# = 0,499			P† = 0,913		
CRP (mg/L)	3,4 (1,9 – 6,3)	2,4 (1,8 – 4,5)	2,2 (1,7 – 2,7)	9,9 (5,0 – 40,8)	9,0 (5,0 – 31,7)	8,1 (5,0 – 25,0)	8,0 (4,8 – 22,7)	5,8 (3,6 – 22,3)	6,0 (2,9 – 18,8)
	P* = 0,374			P# = 0,938			P† = 0,494		

P\* razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika; P# razlika između genotipova u ispitanika s MU; P† razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU ispitanici s moždanim udarom

#### 4.4.6 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova *FBG*

U Tablica 22. prikazani su rezultati ispitivanja povezanosti genotipova *FBG* i ispitivanih biokemijskih parametara. U kontrolnoj skupini pronađena je statistički značajna razlika u koncentraciji LDL – kolesterola ovisnosti o genotipu *FBG*. Nositelji genotipa G/G imali su značajno višu koncentraciju LDL – kolesterola u odnosu na nositelje genotipova G/A i A/A ( $P = 0,038$ ). Koncentracije drugih biokemijskih parametara nisu pokazale statistički značajnu povezanost s genotipovima *FBG*. U skupini ispitanika s moždanim udarom nije pronađena povezanost koncentracije biokemijskih parametara u ovisnosti o genotipu *FBG*.

**Tablica 22.** Povezanost genotipova *FBG* i biokemijskih parametara

Parametar	Kontrola ( <i>N</i> = 99)			MU** ( <i>N</i> = 244)			Svi ( <i>N</i> = 343)		
	G/G	G/A	A/A	G/G	G/A	A/A	G/G	G/A	A/A
Trigliceridi (mmol/L)	1,5 (1,1–2,2)	1,6 (1,2–2,0)	2,4 (1,5–3,4)	1,4 (1,0–2,3)	1,6 (1,1–2,0)	1,7 (1,4–2,1)	1,4 (1,0–2,2)	1,6 (1,2–2,0)	1,8 (1,4–2,6)
	$P^* = 0,433$			$P^\# = 0,306$			$P^\ddagger = 0,189$		
Ukupni kolesterol (mmol/L)	6,3 (5,7–7,4)	6,4 (5,9–7,1)	5,1 (4,8–5,8)	5,3 (4,4–6,3)	5,5 (4,8–6,2)	5,6 (4,5–6,4)	5,8 (4,8–6,7)	5,7 (5,0–6,6)	5,3 (4,6–6,4)
	$P^* = 0,114$			$P^\# = 0,967$			$P^\ddagger = 0,610$		
HDL – kolesterol (mmol/L)	1,5 (1,3–1,6)	1,4 (1,2–1,5)	1,0 (0,8–1,3)	1,2 (1,0–1,4)	1,2 (1,0–1,6)	1,2 (0,9–1,8)	1,3 (1,1–1,5)	1,3 (1,1–1,6)	1,2 (0,9–1,6)
	$P^* = 0,071$			$P^\# = 0,782$			$P^\ddagger = 0,661$		
LDL – kolesterol (mmol/L)	4,1 (3,5–4,9)	3,0 (3,7–5,0)	3,2 (2,8–3,5)	3,5 (2,7–4,2)	3,3 (2,9–3,9)	3,3 (2,8–4,2)	3,7 (2,9–4,3)	3,5 (3,0–4,3)	3,3 (2,8–4,0)
	$P^* = 0,038$			$P^\# = 0,667$			$P^\ddagger = 0,503$		
Glukoza (mmol/L)	4,8 (4,2–5,6)	5,1 (4,4–6,3)	6,4 (5,5–7,3)	7,1 (5,8–10,0)	6,8 (5,8–8,7)	6,8 (5,2–10,3)	6,2 (5,1–8,5)	6,3 (5,4–8,1)	6,7 (6,1–8,6)
	$P^* = 0,075$			$P^\# = 0,641$			$P^\ddagger = 0,297$		
CRP (mg/L)	2,3 (1,7–3,9)	2,4 (1,7–4,5)	10,3 (1,4–20,4)	11,0 (5,0–32,3)	8,0 (5,0–29,2)	5,2 (5,0–19,0)	6,5 (2,9–22,4)	6,0 (3,8–20,8)	5,2 (5,0–20,2)
	$P^* = 0,617$			$P^\# = 0,325$			$P^\ddagger = 0,986$		

$P^*$  razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika;  $P^\#$  razlika između genotipova u ispitanika s MU;  $P^\ddagger$  razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU ispitanici s moždanim udarom

#### 4.4.7 Povezanost biokemijskih parametara i genotipova ACE

Ispitivanje povezanosti biokemijskih parametara i genotipova ACE prikazano je u Tablica 23. Nije pronađena statistički značajna povezanost ispitivanih genotipova ACE i biokemijskih parametara u skupini kontrolnih ispitanika, kao niti u skupini ispitanika s moždanim udarom.

**Tablica 23.** Povezanost genotipova ACE i biokemijskih parametara

Parametar	Kontrole (N = 100)			MU** (N = 245)			Svi (N = 345)		
	I/I	I/D	D/D	I/I	I/D	D/D	I/I	I/D	D/D
Trigliceridi (mmol/L)	1,7 (1,2 – 2,4)	1,4 (1,1 – 2,0)	1,6 (1,3 – 2,3)	1,6 (1,2 – 2,3)	1,4 (1,0 – 2,1)	1,6 (1,0 – 2,0)	1,6 (1,2 – 2,4)	1,4 (1,1 – 2,1)	1,6 (1,1 – 2,1)
	P* = 0,461			P# = 0,393			P† = 0,257		
Ukupni kolesterol (mmol/L)	6,4 (5,9 – 7,3)	6,2 (5,6 – 7,4)	6,4 (5,8 – 7,1)	5,4 (4,6 – 6,5)	5,4 (4,6 – 6,2)	5,5 (4,6 – 6,5)	5,8 (4,8 – 6,7)	5,7 (4,8 – 6,4)	5,8 (4,8 – 6,6)
	P* = 0,917			P# = 0,768			P† = 0,823		
HDL – kolesterol (mmol/L)	1,4 (1,0 – 1,6)	1,5 (1,3 – 1,6)	1,4 (1,2 – 1,5)	1,2 (1,0 – 1,4)	1,2 (1,0 – 1,5)	1,2 (1,0 – 1,5)	1,2 (1,0 – 1,5)	1,3 (1,1 – 1,6)	1,3 (1,1 – 1,5)
	P* = 0,146			P# = 0,699			P† = 0,271		
LDL – kolesterol (mmol/L)	4,4 (3,2 – 4,7)	4,0 (3,4 – 4,9)	4,1 (3,7 – 4,7)	3,4 (2,8 – 4,2)	3,4 (2,8 – 4,1)	3,4 (2,8 – 4,1)	3,7 (3,0 – 4,4)	3,6 (2,9 – 4,2)	3,6 (3,0 – 4,3)
	P* = 0,949			P# = 0,804			P† = 0,929		
Glukoza (mmol/L)	5,0 (4,4 – 6,5)	5,1 (4,3 – 5,9)	4,7 (4,3 – 5,8)	7,1 (5,8 – 10,5)	6,8 (5,7 – 8,7)	7,0 (5,9 – 10,0)	6,8 (5,4 – 9,3)	6,1 (5,2 – 7,9)	6,2 (5,2 – 8,6)
	P* = 0,622			P# = 0,330			P† = 0,365		
CRP (mg/L)	2,4 (1,8 – 3,6)	2,3 (1,7 – 4,0)	2,3 (1,8 – 7,4)	8,0 (5,0 – 21,1)	11,3 (5,0 – 29,0)	8,0 (5,0 – 39,6)	5,9 (3,6 – 12,6)	6,0 (3,8 – 23,8)	6,0 (3,2 – 22,4)
	P* = 0,903			P# = 0,381			P† = 0,968		

P\* razlika između genotipova u kontrolnih ispitanika; P# razlika između genotipova u ispitanika s MU; P† razlika između genotipova u svih ispitanika; \*\*MU ispitanici s moždanim udarom

#### 4.4.8 Multivarijatna logistička regresijska analiza

Da bi se identificirali čimbenici koji su neovisno povezani s moždanim udarom učinjena je multivarijatna logistička regresijska analiza koja je uključila 99 zdravih ispitanika i 238 ispitanika s moždanim udarom. U prvom koraku je učinjena univarijatna logistička regresija da bi se izlučili statistički značajni prediktori ( $P < 0,05$ ), a potom su te varijable uključene u multiplu logističku regresijsku analizu. Multiplom logističkom regresijskom analizom dobiveni su sljedeći prediktori moždanog udara: koncentracija CRP-a [OR (95 % CI) = 1,04 (1,01 – 1,08);  $P = 0,017$ ]; koncentracija glukoze [OR (95 % CI) = 1,76 (1,38 – 2,25);  $P < 0,001$ ]; spol [OR (95 % CI) = 2,86 (1,43 – 5,69);  $P = 0,003$ ]; hipertenzija [OR (95 % CI) = 2,39 (1,18 – 4,87);  $P = 0,016$ ] i broj leukocita [OR (95 % CI) = 1,37 (1,15 – 1,63)];  $P < 0,001$ ) (Tablica 24).

**Tablica 24.** Logistička regresija

	<i>Univarijatna logistička regresija</i>			<i>Multivarijatna logistička regresija</i>		
	OR	CI	P	OR	CI	P
<i>ACE</i>	0,87	0,62-1,23	0,441	/	/	/
<i>APOA5</i>	0,90	0,48-1,72	0,759	/	/	/
<i>F2</i>	0,39	0,12-1,24	0,115	/	/	/
<i>F5 Leiden</i>	1,22	0,32-4,60	0,766	/	/	/
<i>F13A1</i>	0,93	0,66-1,31	0,675	/	/	/
<i>FGB</i>	1,20	0,81-1,78	0,355	/	/	/
<i>SERPINE1</i>	0,91	0,66-1,25	0,551	/	/	/
<b>kolesterol</b>	0,54	0,44-0,67	<b>&lt; 0,001</b>	0,54	0,25-1,20	0,130
<b>CRP</b>	1,09	1,05-1,13	<b>&lt; 0,001</b>	1,04	1,01-1,08	<b>0,017</b>
<b>glukoza</b>	1,64	1,39-1,94	<b>&lt; 0,001</b>	1,76	1,38-2,25	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDLkolesterol</b>	0,52	0,31-0,89	<b>0,015</b>	1,64	0,67-3,98	0,275
<b>LDLkolesterol</b>	0,51	0,41-0,65	<b>&lt; 0,001</b>	1,05	0,42-2,64	0,918
<b>trigliceridi</b>	0,89	0,71-1,10	0,276	/	/	/
<b>dob</b>	1,04	1,01-1,06	<b>0,006</b>	1,02	0,99-1,06	0,231
<b>spol</b>	1,94	1,20-3,11	<b>0,006</b>	2,86	1,43-5,69	<b>0,003</b>
<b>šećerna bolest</b>	4,21	1,94-9,14	<b>&lt; 0,001</b>	0,44	0,13-1,50	0,190
<b>alkohol</b>	1,77	0,82-3,82	0,126	/	/	/
<b>hipertenzija</b>	2,86	1,73-4,77	<b>&lt; 0,001</b>	2,39	1,18-4,87	<b>0,016</b>
<b>pušenje</b>	1,05	0,52-2,14	0,893	/	/	/
<b>leukociti</b>	1,65	1,43-1,91	<b>&lt; 0,001</b>	1,37	1,15-1,63	<b>&lt; 0,001</b>

HosmerLemeshow test ( $\chi^2 = 20,4$ ;  $P < 0,008$ ) pokazuje da odabrane varijable ne čine dobar regresijski model te pomoću ispitivanih varijabli nije moguće učiniti odgovarajući prediktivni model za moždani udar.

$$\text{logit}(p) = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + \dots + b_n X_n$$

$$\text{logit}(p) = -5,55 + 0,04 \cdot \text{CRP} + 0,57 \cdot \text{GUK} + 0,87 \cdot \text{hipertenzija} + 0,32 \cdot \text{leukociti} + 1,05 \cdot \text{spol}$$

## 4.5 POVEZANOST GENSKIH VARIJANTI S OBILJEŽJIMA MOŽDANOG UDARA

### 4.5.1 Podaci o tipovima moždanog udara u ispitanika s moždanim udarom

Ispitanicima s moždanim udarom je kod prijema u bolnicu mjerena jakost moždanog udara NIHSS skalom, a stanje ispitanika pri otpustu iz bolnice procijenjeno je Barthelovim indeksom. Također, ispitanicima je određen tip moždanog udara, a podtip moždanog udara je određen prema OCSF i TOAST klasifikaciji, (Tablica 25). Od tipova moždanog udara najzastupljeniji su bili lakunarni (49,4 %) i tromboembolijski tip (48,1 %). Prema OCSF klasifikaciji, najveći udio zauzeo je totalni anteriorni cerebralni infarkt (TACI) (37,6 %), 34,8 % ispitanika imalo je lakunarni infarkt (LACI), posteriorni cirkulacijski infarkt imalo je 15,6 %, a posteriorni anteriorni cirkulacijski infarkt je bio zastupljen kod 8,8 % ispitanika. U podjeli prema TOAST klasifikaciji najzastupljeniji je bio podtip SAD (okluzija malih arterija) s 34,7 %, potom LAD (ateroskleroza velikih arterija) s 37,3 %, a treći po zastupljenosti bio je podtip udara nastao kao posljedica srčane embolije (26,1 %). Podtipovi moždanog udara ostalih etiologija i neodređene etiologije utvrđeni su kod 4,5 %, odnosno 7,3 % ispitanika. S obzirom na jakost moždanog udara medijan NIHSS skale iznosio je 15 (7 – 27), a Barthelov indeks 40 (35 – 45).

**Tablica 25.** Podaci o tipu, podtipu i težini moždanog udara u skupini ispitanika

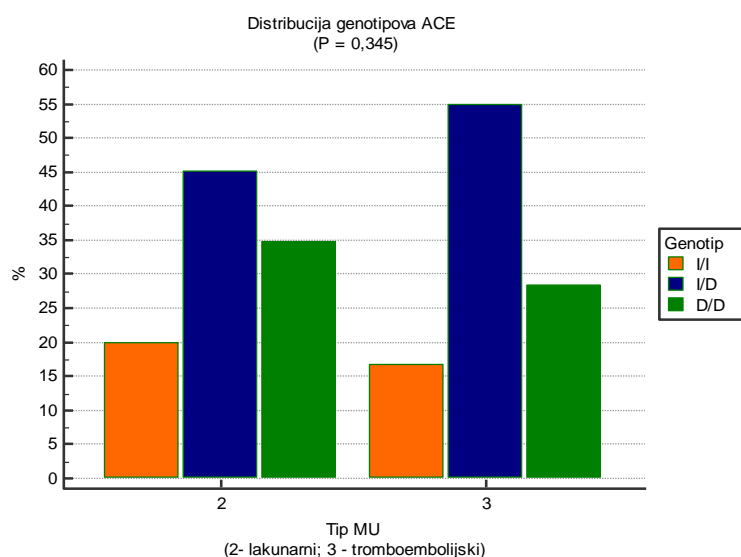
NIHSS		15 (7-27)
Barthelov indeks		40 (35-45)
OCSF klasifikacija (N = 242)	LACI (N, %)	87 (34,8)
	TACI (N, %)	94 (37,6)
	PACI (N, %)	22 (8,8)
	POCI (N, %)	39 (15,6)
	LAD (N, %)	67 (27,3)
TOAST klasifikacija (N = 245)	Srčana embolija (N, %)	64 (26,1)
	SAD (N, %)	85 (34,7)
	MU* ostalih etiologija (N, %)	11 (4,5)
	MU* neodređene etiologije (N, %)	18 (7,3)
Tip MU* (N = 239)	Lakunarni (N, %)	118 (49,4)
	Tromboembolijski (N, %)	115 (48,1)
	Kardioembolijski (N, %)	4 (1,7)
	Kombinacija (N, %)	1 (0,4)
	Nepoznat (N, %)	1 (0,4)

\*MU moždani udar

## 4.5.2 Distribucija genskih varijanti prema tipu moždanog udara

Zbog malog broja kardioembolijskog (4/239), kombiniranog (1/239) i moždanog udara nepoznatog tipa (1/239) ispitanici s ovim tipovima moždanog udara isključeni su iz obrade.

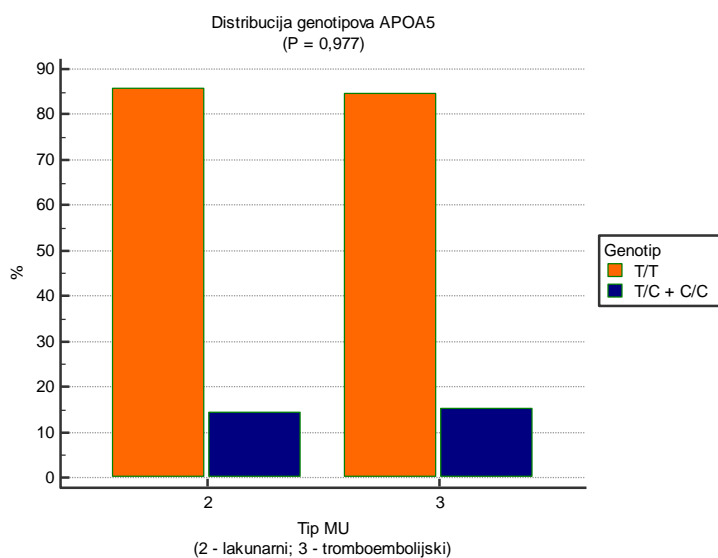
### 4.5.2.1 Genotip ACE



**Slika 14.** Distribucija genotipova ACE prema tipu moždanog udara. Prikazan je udio genotipova ACE u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji genotipova ACE među tipovima moždanog udara ( $P = 0,345$ ). Distribucija genotipova ACE prikazana je na Slika 14.

#### 4.5.2.2 Genotip APOA5

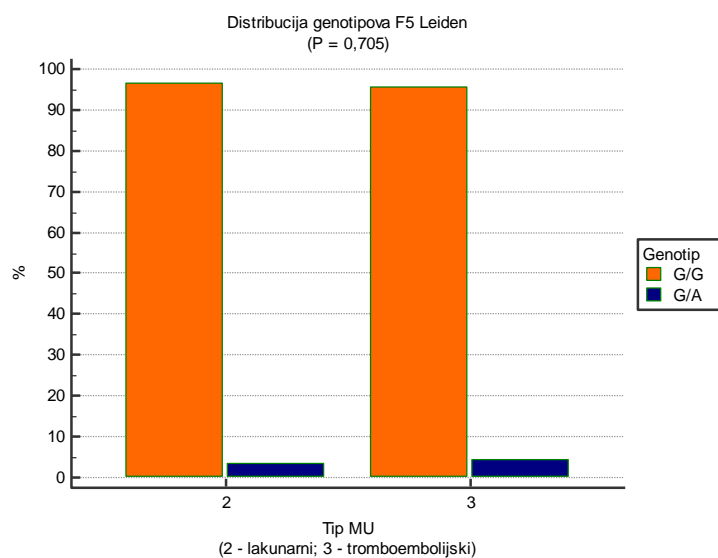


**Slika 15.** Distribucija genotipova *APOA5* prema tipu moždanog udara. Prikazan je udio genotipova *APOA5* u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Distribucija genotipova *APOA5* prema tipu moždanog udara prikazana je na Slika 15. Nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli ispitanog genotipa po tipu moždanog udara (P = 0,977).



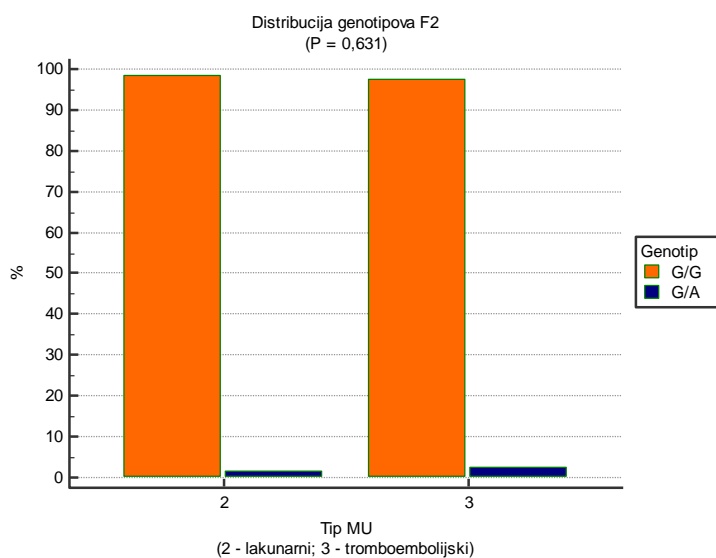
### 4.5.2.3 Genotip *F5 Leiden*



**Slika 16.** Distribucija genotipova *F5 Leiden* prema tipu moždanog udara. Prikazan je udio genotipova *F5 Leiden* u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Nije utvrđena statistički značajna razlika u distribuciji genotipova *F5 Leiden* prema tipu moždanog udara ( $P = 0,705$ ) (Slika 16).

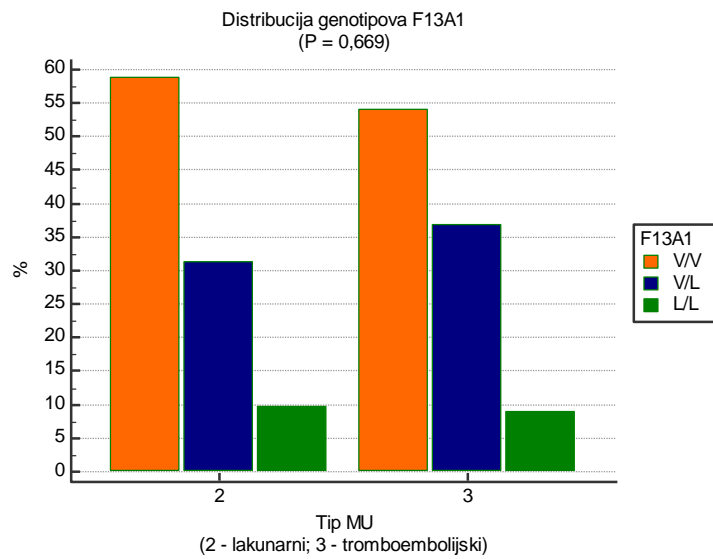
#### 4.5.2.4 Genotip F2



**Slika 17.** Distribucija genotipova *F2* prema tipu moždanog udara. Prikazan je udio genotipova *F2* u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Nije pronađena statistički značajna razlika u distribuciji genotipova *F2* između tipova moždanog udara ( $P = 0,631$ ) (Slika 17).

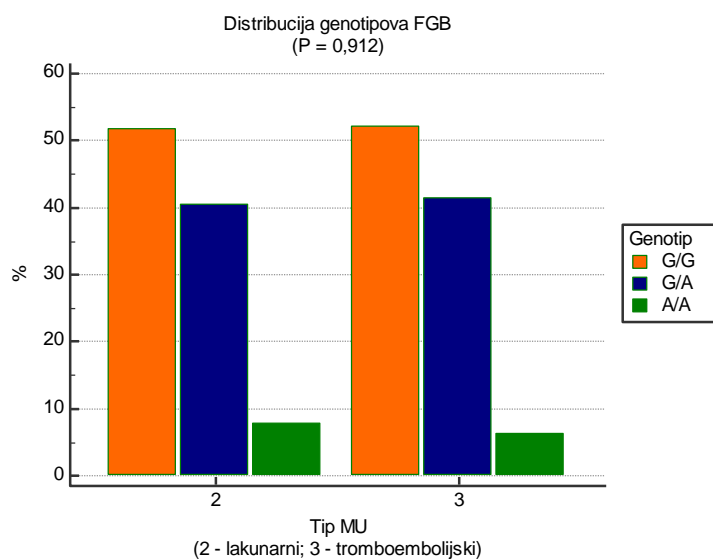
#### 4.5.2.5 Genotip *F13A1*



**Slika 18** Distribucija genotipova *F13A1* po tipu moždanog udara. Prikazan je udio genotipova *F13A1* u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Distribucija genotipova *F13A1* nije se statistički značajno razlikovala po tipu moždanog udara ( $P = 0,669$ ). (Slika 18)

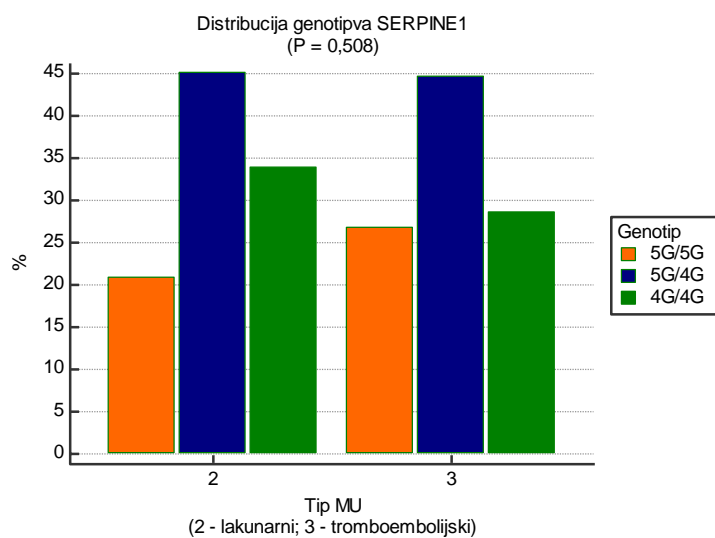
#### 4.5.2.6 Genotip *FGB*



**Slika 19** Distribucija genotipova *FGB* po tipu moždanog udara. Prikazana je distribucija po genotipu *FGB* u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Nije pronađena statistički značajna razlika u distribuciji ispitivanog genotipa po tipu moždanog udara ( $P = 0,912$ ) (Slika 19).

#### 4.5.2.7 Genotip *SERPINE1*

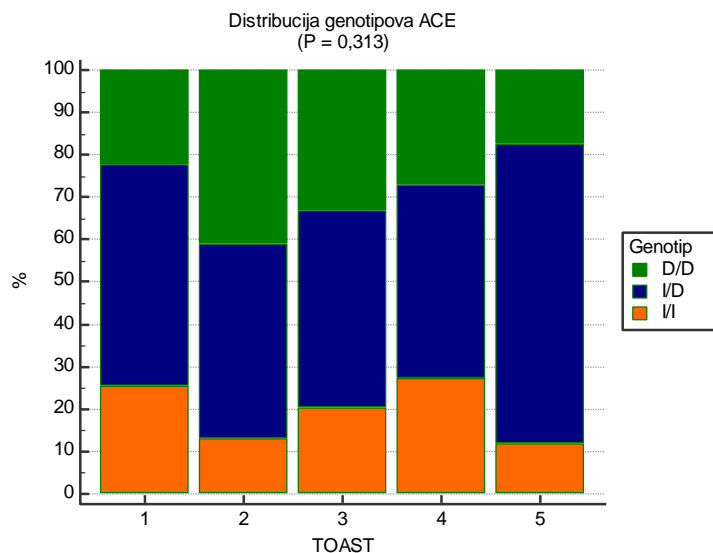


**Slika 20** Distribucija genotipova *SERPINE1* prema tipu moždanog udara. Prikazan je udio genotipova 5G/4G u ispitanika s lakunarnim (2) i tromboembolijskim moždanim udarom (3).

Nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji genotipova *SERPINE1* prema tipu moždanog udara (P = 0,508) (Slika 20).

### 4.5.3 Distribucija genskih varijanti u podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji

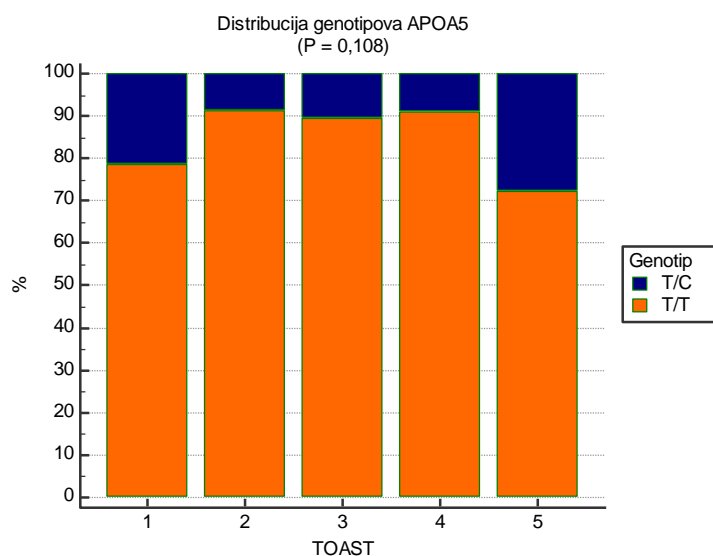
#### 4.5.3.1 Genotip ACE



**Slika 21** Distribucija genotipova ACE u podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređena etiologija)

Učestalost genotipova ACE nije se statistički značajno razlikovala između podtipova moždanog udara podijeljenima prema TOAST klasifikaciji (P = 0,313) (Slika 21).

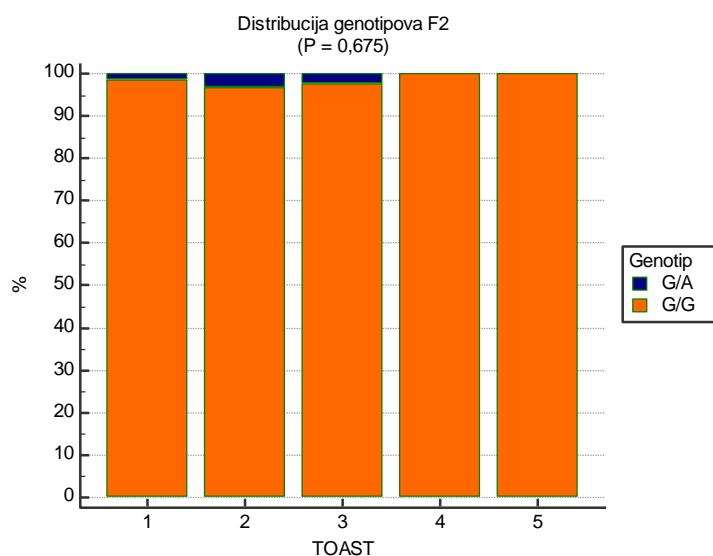
#### 4.5.3.2 Genotip APOA5



**Slika 22** Distribucija genotipova *APOA5* u podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređene etiologija)

U skupini ispitanika s moždanim udarom podijeljenima prema TOAST klasifikaciji nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli genotipova *APOA5* ( $P = 0,108$ ) (Slika 22).

### 4.5.3.3 Genotip *F2*

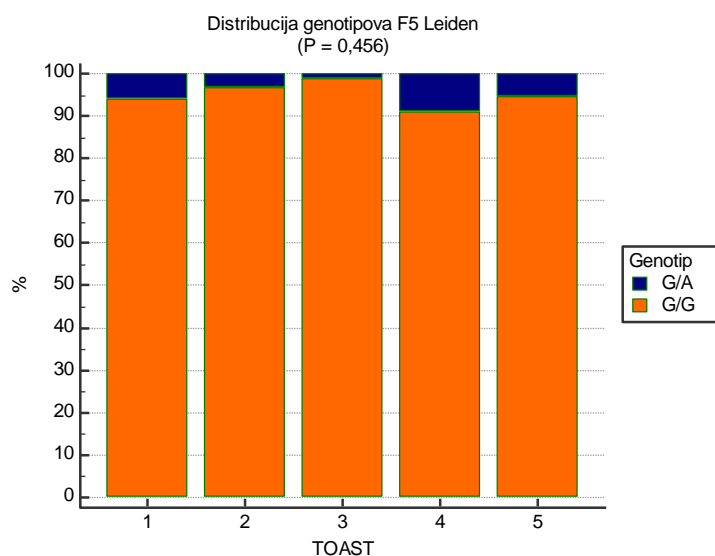


**Slika 23** Distribucija genotipova *F2* u podtipovima moždanim udarom prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređene etiologija)

U ispitivanoj skupini nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli genotipova *F2* po podtipu moždanog udara prema TOAST klasifikaciji ( $P = 0,675$ ) (Slika 23).



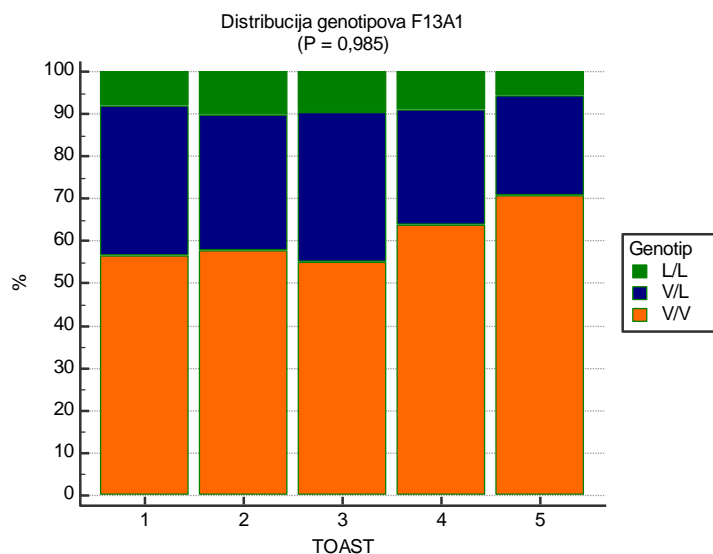
#### 4.5.3.4 Genotip *F5 Leiden*



**Slika 24** Distribucija genotipova *F5 Leiden* u podtipovima prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređene etiologija)

Nije pronađena statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova *F5 Leiden* u podtipovima moždanog udara razvrstanim prema TOAST klasifikaciji ( $P = 0,456$ ) (Slika 24).

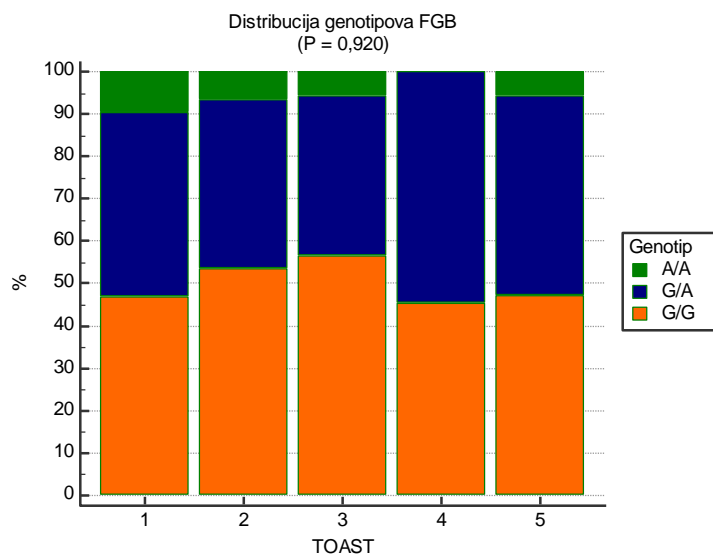
#### 4.5.3.5 Genotip *F13A1*



**Slika 25** Distribucija genotipova *F13A1* u podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređene etiologija)

Raspodjela genotipova *F13A1* nije se statistički značajno razlikovala između podtipova moždanog udara podijeljenih prema TOAST klasifikaciji ( $P = 0,985$ ) (Slika 25).

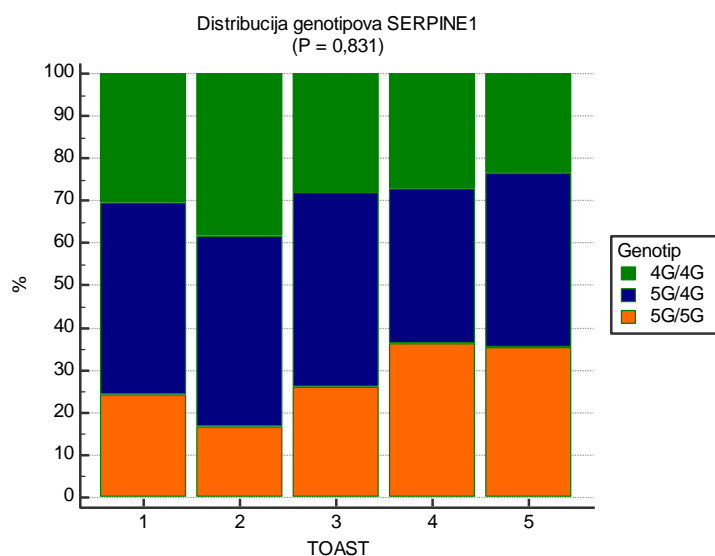
#### 4.5.3.6 Genotip *FGB*



**Slika 26** Distribucija genotipova *FGB* po podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređene etiologija)

Nije pronađena statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova *FGB* po podtipu moždanog udara prema TOAST klasifikaciji ( $P = 0,920$ ) (Slika 26).

#### 4.5.3.7 Genotip *SERPINE1*

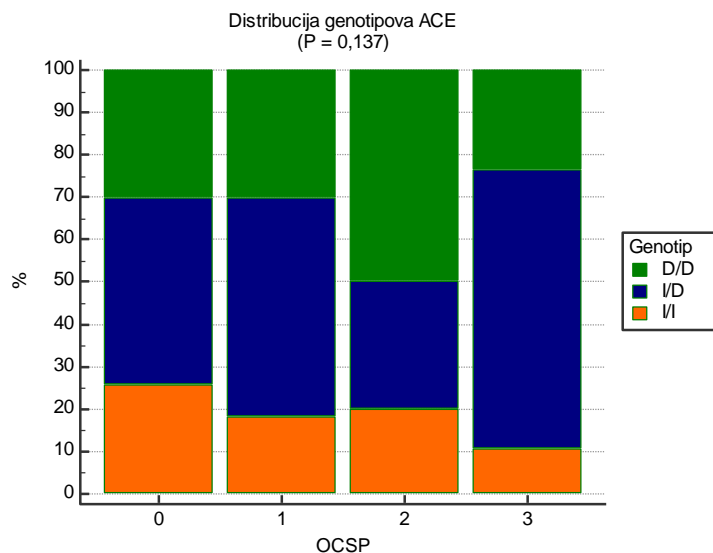


**Slika 27** Distribucija genotipova *SERPINE1* po podtipovima moždanog udara prema TOAST klasifikaciji (1 = LAD; 2 = kardioembolijski; 3 = SAD; 4 = moždani udar ostalih etiologija; 5 = moždani udar neodređene etiologija)

Nije pronađena statistički značajna razlika u distribuciji genotipova *SERPINE1* između podtipova moždanog udara prema TOAST klasifikaciji ( $P = 0,831$ ) (Slika 27).

#### 4.5.4 Distribucija genskih varijanti u podtipovima moždanog udara prema OCSP klasifikaciji

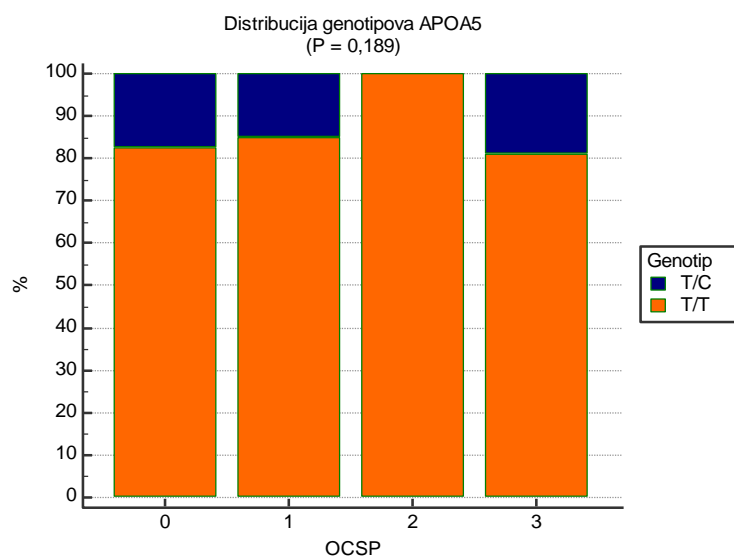
##### 4.5.4.1 Genotip ACE



**Slika 28.** Distribucija genotipova ACE u podtipovima moždanog udara prema OCSP klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Distribucija genotipova ACE nije se statistički značajno razlikovala između podskupina moždanog udara klasificiranih prema OCSP klasifikaciji (P = 0,137) (Slika 28).

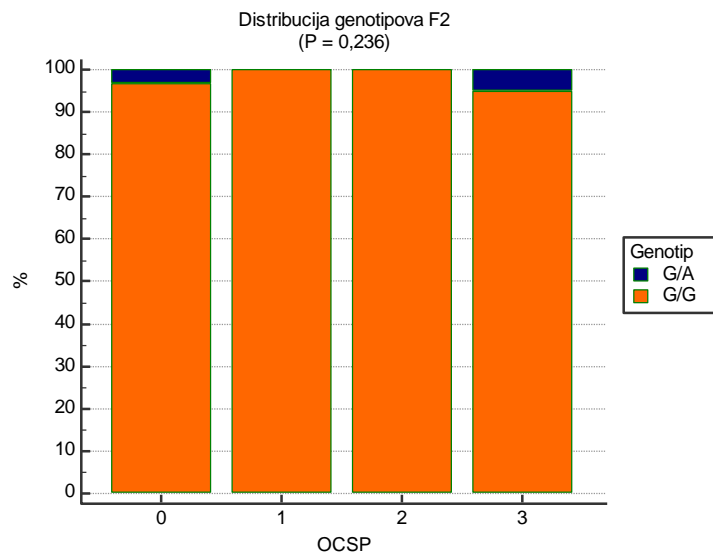
#### 4.5.4.2 Genotip APOA5



**Slika 29.** Distribucija genotipova *APOA5* po podtipovima moždanog udara prema OCSP klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Raspodjela genotipova *APOA5* nije se statistički značajno razlikovala između podskupina moždanog udara određenih prema OCSP klasifikaciji (P = 0,189) (Slika 29).

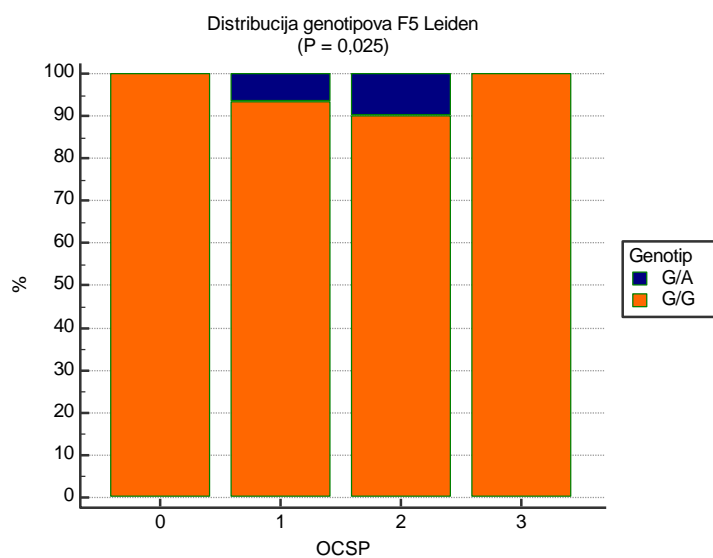
#### 4.5.4.3 Genotip *F2*



**Slika 30.** Distribucija genotipova *F2* u podtipovima moždanog udara prema OCSF klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Nije utvrđena statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova *F2* u podskupinama moždanog udara prema OCSF klasifikaciji ( $P = 0,236$ ) (Slika 30).

#### 4.5.4.4 Genotip *F5 Leiden*

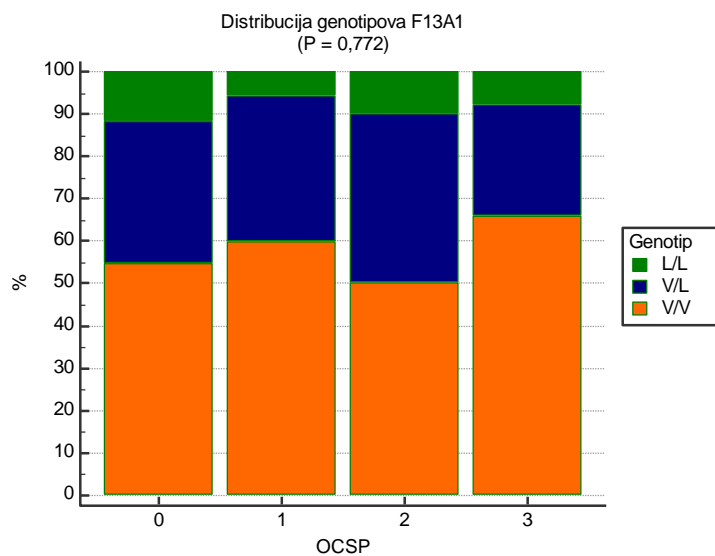


**Slika 31.** Distribucija genotipova *F5 Leiden* u podtipovima moždanog udara prema OCSF klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Raspodjela genotipova *F5 Leiden* statistički je značajno različita među podskupinama moždanog udara podijeljenima prema OCSF klasifikaciji ( $P = 0,025$ ) (Slika 31).



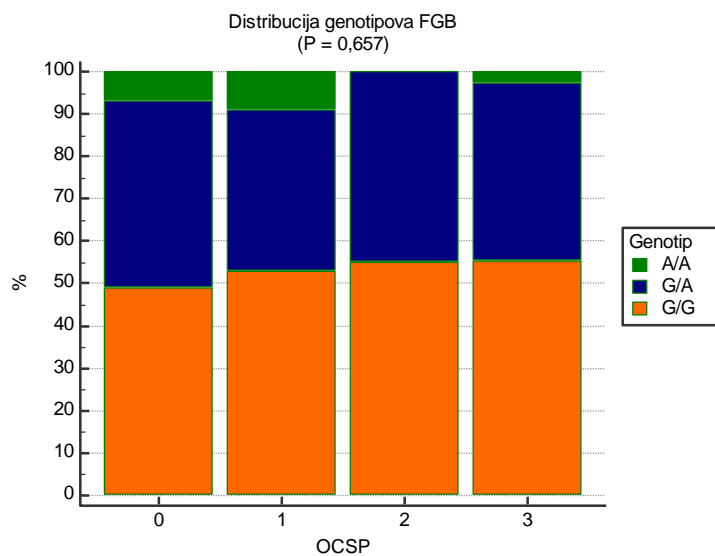
#### 4.5.4.5 Genotip *F13A1*



**Slika 32.** Distribucija genotipova *F13A1* u podtipovima moždanog udara prema OCSF klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Nije pronađena statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova *F13A1* između podskupina moždanog udara klasificiranim prema OCSF klasifikaciji ( $P = 0,772$ ) (Slika 32).

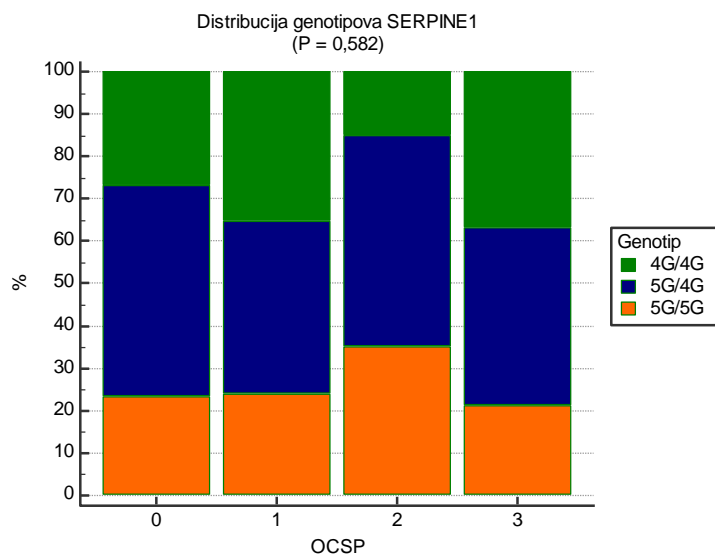
#### 4.5.4.6 Genotip *FGB*



**Slika 33.** Distribucija genotipova *FGB* u podtipovima moždanog udara prema OCSF klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Raspodjela genotipova *FGB* nije se statistički značajno razlikovala među podskupinama moždanog udara klasificiranim prema OCSF ( $P = 0,657$ ) (Slika 33).

#### 4.5.4.7 Genotip *SERPINE1*



**Slika 34.** Distribucija genotipova *SERPINE1* u podtipovima moždanog udara prema OCSF klasifikaciji (1 = LACI; 2 = PACI; 3 = POCI; 4 = TACI)

Raspodjela genotipova *SERPINE1* nije se statistički značajno razlikovala između podtipova moždanog udara prema klasifikaciji OCSF (P = 0,582) (Slika 34).

#### 4.5.5 Povezanost genskih varijanti i težine moždanog udara prema NIHSS

U Tablica 26 prikazana je povezanost genotipova svih ispitivanih genskih varijanti s težinom moždanog udara određenom prema NIHSS skali. Nositelji genotipa I/I (divlji tip) za varijantu *ACE* imali su statistički značajno niži NIHSS rezultat od nositelja I/D i D/D genotipa ( $P = 0,050$ ).

U slučaju ostalih genskih varijanti nije pronađena statistički značajna povezanost genotipova i NIHSS rezultata.

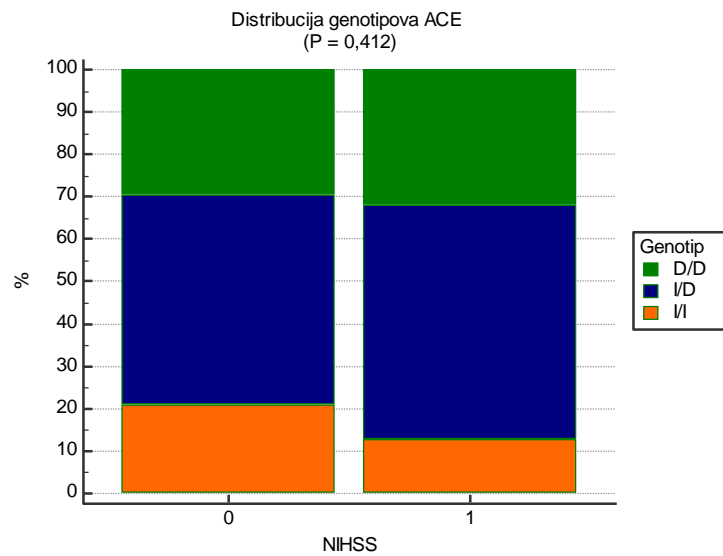
**Tablica 26.** Povezanost genotipova s težinom moždanog udara prema NIHSS skali

<i>Genska varijanta</i>	<i>Divlji tip</i> ( <i>N</i> )	<i>Heterozigot</i> ( <i>N</i> )	<i>Homozigot</i> ( <i>N</i> )	<i>P</i>
<i>ACE</i> N = 244	47	125	73	<b>0,050</b>
<i>APOA5</i> N = 239	203	36	/	0,347
<i>F2</i> N = 249	243	6	/	0,879
<i>F5 Leiden</i> N = 249	240	9	/	0,942
<i>F13A1</i> N = 243	137	79	23	0,700
<i>FGB</i> N = 243	128	99	16	0,815
<i>SERPINE1</i> N = 243	58	108	77	0,795

##### 4.5.5.1 Učestalost genskih varijanti u podskupinama prema NIHSS rezultatu

Da bi se ispitala učestalost odabranih genskih varijanti prema težini moždanog udara, ispitanici su podijeljeni u dvije skupine prema zbroju bodova dobivenih procjenom po NIHSS skali (Tablica 2). Prvu skupinu čine ispitanici s manjim do srednje teškim moždanim udarom (NIHSS < 21), a drugu skupinu ispitanici s vrlo teškim moždanim udarom (NIHSS  $\geq$  21).

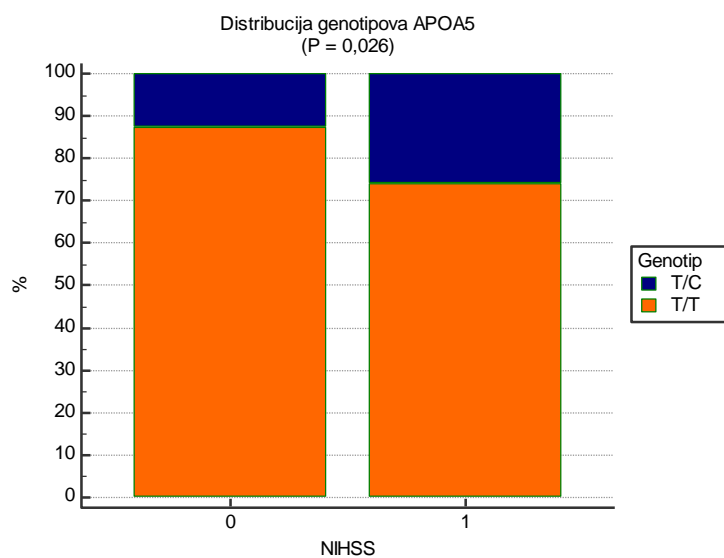
#### 4.5.5.5.1 Genotip ACE



**Slika 35.** Distribucija genotipova ACE u podskupinama moždanog udara prema NIHSS rezultatu. Na apscisi je 0 skupina s NIHSS < 21, a 1 skupina s NIHSS ≥ 21.

Raspodjela genotipova ACE nije se statistički značajno razlikovala između ispitivanih podskupina (P = 0,412) (Slika 35).

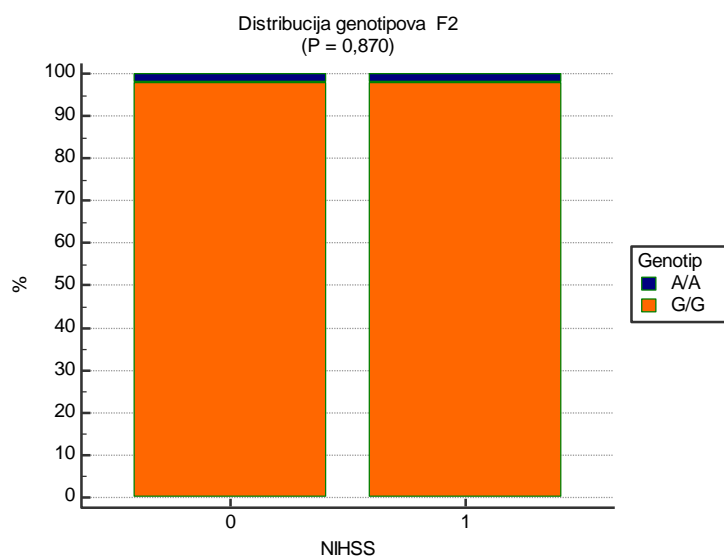
#### 4.5.5.5.2 Genotip *APOA5*



**Slika 36.** Distribucija genotipova *APOA5* u podskupinama moždanim udarom prema NIHSS. Na apscisi je 0 skupina s  $NIHSS < 21$ , a 1 skupina s  $NIHSS \geq 21$ .

Učestalost genotipova *APOA5* statistički je značajno različita između podskupina moždanog udara prema NIHSS ( $P = 0,026$ ) (Slika 36).

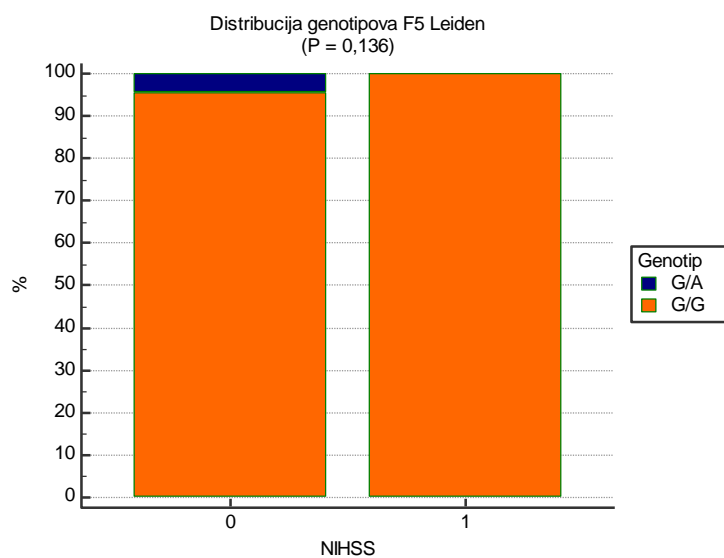
#### 4.5.5.5.3 Genotip *F2*



**Slika 37.** Distribucija genotipova *F2* u podskupinama moždanog udara prema NIHSS. Na apscisi je 0 skupina s NIHSS < 21, a 1 skupina s NIHSS  $\geq$  21.

Učestalost genotipova *F2* nije se statistički značajno razlikovala između podskupina moždanog udara prema NIHSS rezultatu ( $P = 0,870$ ) (Slika 37).

#### 4.5.5.5.4 Genotip *F5 Leiden*

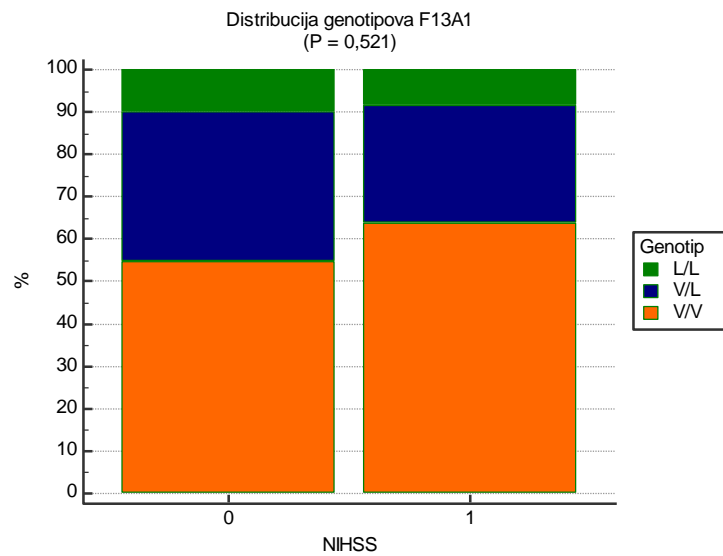


**Slika 38.** Distribucija genotipova *F5 Leiden* u podskupinama moždanog udara prema NIHSS. Na apscisi je 0 skupina s NIHSS < 21, a 1 skupina s NIHSS  $\geq$  21.

Učestalost genotipova *F5 Leiden* nije se statistički značajno razlikovala između ispitivanih podskupina prema NIHSS rezultatu ( $P = 0,136$ ) (Slika 38).



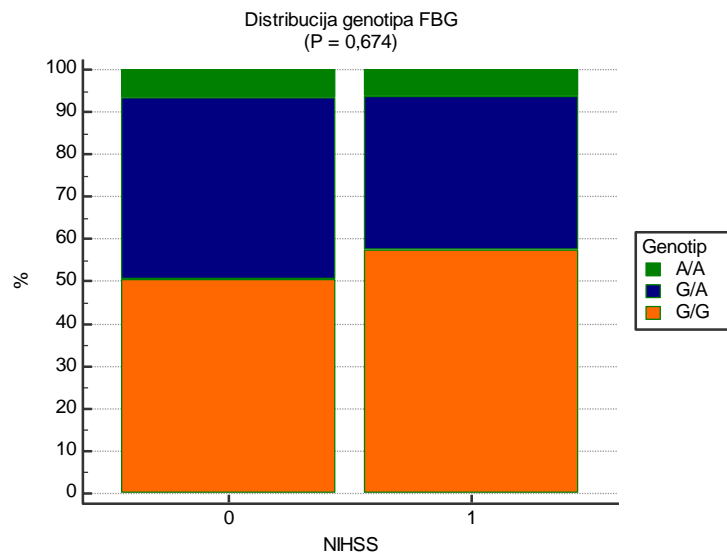
#### 4.5.5.5.5 Genotip *F13A1*



**Slika 39.** Distribucija genotipova *F13A1* u podskupinama moždanog udara prema NIHSS. Na apscisi je 0 skupina s  $\text{NIHSS} < 21$ , a 1 skupina s  $\text{NIHSS} \geq 21$ .

Nije pronađena statistički značajna razlika u učestalosti genotipova *F13A1* između ispitivanih podskupina prema rezultatu NIHSS ( $P = 0,521$ ) (Slika 39).

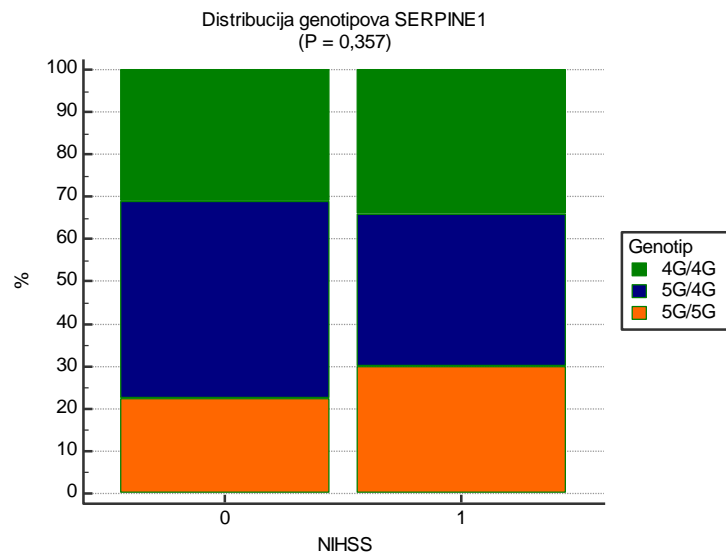
#### 4.5.5.5.6 Genotip *FGB*



**Slika 40.** Distribucija genotipova *FGB* u podskupinama moždanog udara prema NIHSS. Na apscisi je 0 skupina s  $\text{NIHSS} < 21$ , a 1 skupina s  $\text{NIHSS} \geq 21$ .

Nije pronađena statistički značajna razlika u učestalosti genotipova *FGB* u ispitivanim podskupinama moždanog udara ( $P = 0,674$ ) (Slika 40).

#### 4.5.5.5.7 Genotip *SERPINE1*



**Slika 41.** Distribucija genotipova *SERPINE1* u podskupinama moždanog udara prema NIHSS. Na apscisi je 0 skupina s NIHSS < 21, a 1 skupina s NIHSS  $\geq$  21.

Distribucija genotipova *SERPINE1* nije se statistički značajno razlikovala između ispitivanih podskupina moždanog udara (P = 0,357) (Slika 41).

#### 4.5.6 Povezanost genskih varijanti i Barthelovog indeksa

Prije otpusta iz bolnice svim je bolesnicima određen Barthelov indeks (BI). Rezultati povezanosti BI i ispitivanih genotipova prikazani su u Tablica 27.

**Tablica 27.** Povezanost genskih varijanti i Barthelovog indeksa

<i>Genska varijanta</i>	<i>Divlji tip (N)</i>	<i>Heterozigot (N)</i>	<i>Homozigot (N)</i>	<i>P</i>
<i>ACE</i> N = 243	47	124	72	0,338
<i>APOA5</i> N = 238	202	36	/	0,386
<i>F2</i> N = 248	242	6	/	0,411
<i>F5 Leiden</i> N = 248	239	9	/	0,659
<i>F13A1</i> N = 238	136	79	23	0,900
<i>FGB</i> N = 242	128	98	16	0,252
<i>SERPINE1</i> N = 242	58	108	76	0,377

Nije pronađena statistički značajna povezanost BI i ispitivanih genskih varijanti.

#### 4.5.7 Multivarijatna logistička regresijska analiza

Da bi se identificirali čimbenici koji neovisno pridonose nastanku teškog moždanog udara (NIHSS  $\geq$  21), učinjena je smo multipla logistička regresijska analiza koja je uključila 219 ispitanika. Multipla logistička regresijska analiza učinjena je u dva koraka. Prvo je univarijatnom logističkom regresijom provjereno koji su prediktori statistički značajni ( $P < 0,05$ ) da bi se u sljedećem koraku uključili u multivarijatnu regresijsku analizu. Prediktori koji su u multivarijatnoj logističkoj regresijskoj analizi ostali statistički značajni ( $P < 0,05$ ) smatraju se prediktorima nastanka teškog moždanog udara prema NIHSS skali.

U Tablica 28. prikazani su rezultati univarijatne i multivarijatne regresijske analize. Kao neovisni prediktori nastanka teškog moždanog udara pokazali su se genotip *APOA5* [OR 3,26 (1,29 – 8,23);  $P = 0,012$ ], dob [OR 1,06 (1,01 – 1,11);  $P = 0,018$ ] i pretilost [OR 0,25 (0,08 – 0,77);  $P = 0,016$ ]. Iako nije statistički značajan prediktor, u multivarijatnu regresijsku jednadžbu uključen je i spol.

**Tablica 28.** Multivarijatna logistička regresijska analiza

	<i>Univarijatna logistička regresija</i>			<i>Multivarijatna logistička regresija</i>		
	OR	CI	P	OR	CI	P
<i>ACE</i>	1,25	0,79-1,99	0,342	/	/	/
<i>APOA5</i>	2,4	1,10-5,25	<b>0,034</b>	3,26	1,29-8,23	<b>0,012</b>
<i>F2</i>	0,83	0,09-7,31	0,870	/	/	/
<i>F5 Leiden</i>	2,50*10 <sup>-9</sup>	/	<b>0,047</b>	2,86*10 <sup>-9</sup>	/	0,998
<i>FI3A1</i>	0,78	0,47-1,28	0,311	/	/	/
<i>FGB</i>	0,82	0,48-1,39	0,448	/	/	/
<i>SERPINE1</i>	0,97	0,63-1,48	0,870	/	/	/
kolesterol	0,85	0,65-1,10	0,212	/	/	/
CRP	1,00	1,00-1,02	<b>0,006</b>	1,01	1,00-1,01	0,164
glukoza	1,04	0,97-1,12	0,276	/	/	/
HDLkolesterol	1,05	0,73-1,52	0,790	/	/	/
LDLkolesterol	0,82	0,60-1,14	0,246	/	/	/
trigliceridi	0,55	0,34-0,91	<b>0,019</b>	0,75	0,43-1,30	0,306
dob	1,08	1,04-1,13	<b>&lt;0,001</b>	1,06	1,01-1,11	<b>0,018</b>
spol	0,78	0,41-1,46	0,432	/	/	/
fibrilacija atriya	1,66	0,83-3,31	0,153	/	/	/
šećerna bolest	1,15	0,57-2,31	0,695	/	/	/
infarkt miokarda	1,73	0,71-4,19	0,225	/	/	/
alkohol	0,49	0,18-1,33	0,163	/	/	/
hipertenzija	1,04	0,47-2,33	0,918	/	/	/
pretilost	0,28	0,10-0,73	<b>0,010</b>	0,25	0,08-0,77	<b>0,016</b>
pušenje	0,26	0,06-1,12	0,071	/	/	/
leukociti	1,07	0,99-1,15	0,088	/	/	/

Regresijska jednadžba prema dobivenim prediktorima prilagođena po spolu:

$$\text{logit}(p) = -5,45 + 1,19 \cdot APOA5 + 0,06 \cdot \text{dob} - 1,37 \cdot \text{pretilost} + 0,11 \cdot \text{spol}$$

$$\chi^2 = 3,49, P = 0,900$$

Analiza pokazuje da predloženi regresijski model ispravno klasificira 83,11 % ispitanika prema težini moždanog udara (Tablica 29).

**Tablica 29.** Klasifikacijska tablica za predloženi regresijski model

<i>Opaženi</i>	<i>Očekivani</i>		<i>% ispravno klasificirani</i>
	NIHSS < 21	NIHSS ≥ 21	
NIHSS < 21	175	3	98,31
NIHSS ≥ 21	34	7	17,07
			83,11

## 5 RASPRAVA

U ovom radu izloženi su rezultati ispitivanja razlike učestalosti genskih čimbenika (20210G/A gena *F2*, *F5 Leiden*, V34L gena *F13A1*, -455G/A gena *FGB*, -1131T/C gena *APOA5* i I/D gena *ACE*), koncentracije lipidnih parametara (ukupni kolesterol, HDL -, LDL kolesterol i trigliceridi) i parametara upale (CRP i leukociti) te okolišnih čimbenika rizika za nastanak moždanog udara u ispitanika s ishemijskim moždanim udarom i kontrolnih ispitanika. Također, ispitana je povezanost genskih čimbenika s lipidnim parametrima i okolišnim čimbenicima rizika za nastanak ishemijskog moždanog udara.

Rezultati ispitivanja učestalosti okolišnih čimbenika rizika za nastanak moždanog udara pokazali su da su hipertenzija i šećerna bolest učestaliji u ispitanika s moždanim udarom ( $P < 0,001$ ) što je u skladu s rezultatima drugih istraživanja. Istraživanja na različitim skupinama potvrđuju direktnu povezanost hipertenzije s nastankom moždanog udara. Tako je istraživanje parova INTERSTROKE, koje je obuhvatilo 32 zemlje i 26919 ispitanika (13447 ispitanika s moždanim udarom i 13472 kontrolna ispitanika), pokazalo da je u zemljama centralne i istočne Europe 2,21 (99% CI 1,52 – 2,95) puta veći rizik za nastanak ishemijskog moždanog udara u osoba s hipertenzijom, a populacijski pripisivi rizik je 40,7 % (99% CI 28,3 – 54,3) (70). Poveznost hipertenzije i nastanka moždanog udara raste sa životnom dobi, a jača povezanost pokazala se i u sredinama s nedostatnom zdravstvenom zaštitom što se povezuje s dugotrajnim učinkom hipertenzije na cerebrovaskularne strukture (71). Dugotrajna hipertenzija uzrokuje poremećaje u autoregulaciji krvnog protoka kroz mozak, potiče upalni odgovor endotela, pojačava rast aterosklerotskog plaka i uzrokuje vaskularno remodeliranje (72).

Iako je ovo istraživanje pokazalo veću učestalost ispitanika sa šećernom bolešću u skupini s moždanim udarom u odnosu na kontrolnu skupinu, rezultati studije INTERSTROKE ne pokazuju da je ona rizični čimbenik za nastanak moždanog udara u osoba na području centralne i istočne Europe (OR 1,31 (99% CI 0,95 – 1,79)), dok se u populaciji jugoistočne Azije taj rizik povećava 1,94 puta u odnosu na zdrave (99% CI 1,13 – 3,32) (70). Slične rezultate pokazuje i studija Ramdana i suradnika koji su pronašli da je učestalost šećerne bolesti u osoba s moždanim udarom 2,5 puta veća u Pakistanaca naseljenih u Ujedinjenom Kraljevstvu (UK) nego u ostalih etničkih skupina europskog podrijetla (73). Direktnu povezanost šećerne bolesti i nastanka moždanog udara teško je ustanoviti s obzirom na to da šećernu bolest prate mnogi rizični čimbenici za nastanak moždani udar poput hipertenzije, pretilosti, dislipidemije, fibrilacije atrijske i dr.



Iako su pušenje i konzumacija alkohola poznati čimbenici rizika za nastanak moždanog udara (25, 26, 74, 75), ovo istraživanje nije pokazalo razliku u učestalosti ovih rizičnih čimbenika između skupine kontrolnih ispitanika i ispitanika s moždanim udarom ( $P = 0,893$ ;  $P = 0,140$ ). Ovi rezultati mogu biti posljedica niskog udjela pušača u obje ispitivane skupine (12 %) i konzumenata alkohola (12 %, odnosno 17 %).

Oko 20 % svih moždanih udara može se pripisati pušenju (70). Također je poznato da dugotrajno pušenje povećava stopu smrtnosti bez obzira na uzrok smrti (75). Međutim, istraživanja u bolesnika s moždanim udarom pokazuju oprečne rezultate u kratkoročnom i dugoročnom ishodu bolesti kod pušača i nepušača (76, 77, 78). „Pušački paradoks“ pripisuje se razlikama u dizajnu studija i statističkoj obradi rezultata (79). U slučaju konzumacije alkohola, eksperimentalne studije pokazuju da manje količine alkohola smanjuju rizik od nastanka prolazne cerebralne ishemije (80). U prilog tome idu i druga istraživanja čiji rezultati upućuju da niski do umjereni unos alkohola nije čimbenik rizika za nastanak ishemijskog moždanog udara (22, 70, 81).

Nadalje, u ovom istraživanju ispitane su razlike u koncentraciji biokemijskih parametara između skupine kontrolnih i ispitanika s moždanim udarom. Rezultati pokazuju statistički značajne razlike u koncentraciji ukupnog kolesterola ( $P < 0,001$ ); LDL – kolesterola ( $P < 0,001$ ); glukoze ( $P < 0,001$ ); CRP-a ( $P < 0,001$ ) i broja leukocita ( $P < 0,001$ ), dok se koncentracije triglicerida i HDL-kolesterola nisu statistički značajno razlikovale.

Iako nisu specifični biljezi upale u moždanom udaru, povišena koncentracija CRP-a i broj leukocita u skupini ispitanika s moždanim udarom vjerojatno su posljedica masovnog postishemijskog upalnog odgovora. Naime, poznato je da ključnu ulogu u postishemijskom upalnom odgovoru imaju endotelne adhezijske molekule P-, L- i E-selektina čije pojačano lučenje aktivira migraciju leukocita iz cirkulacije i pomaže njihovo prijanjanje uz endotel, dok ICAM-1 i PECAM-1 uz pojačano otpuštanje citokina uzrokuju daljnje privlačenje leukocita na oštećeni endotel i prolazak u moždano tkivo (82, 83, 84). Proupalni citokini, poput interleukina-1 i -6 te tumorskog čimbenika nekroze-1 stimuliraju leukopoezu u koštanoj srži i migraciju granulocita iz rezervnog odjeljka u cirkulaciju, kao i sintezu CRP-a (85). Rezultati mnogih istraživanja pokazuju povišene koncentracije proupalnih medijatora, P- i E-selektina, adhezijskih molekula ICAM-1 i PECAM-1 i hsCRP-a, kao i niže koncentracije protuupalnih biljega u ispitanika s moždanim udarom u odnosu na zdrave ispitanike, a povezuju se i s jačinom neurološkog deficita i lošijim ishodom (83, 84, 86, 87, 88). Istraživanje Yana i suradnika pokazalo je da se koncentracije citokina razlikuju u ovisnosti o vremenu od nastanka ishemije pa su tako pronašli da je koncentracija interleukina-6 konstantno povišena tijekom 3 tjedna, a

da koncentracija interleukina-10 značajno raste tek tjedan dana od nastanka ishemije. Također, pronašli su tek slabu povezanost koncentracije interleukina-6 s jačinom moždanog udara (89). Richard i suradnici u svom su istraživanju pronašli da su povišene koncentracije CRP-a i interleukina-6 2 – 3 dana nakon nastanka moždanog udara povezane s lošijim tromjesečnim ishodom (90).

Više koncentracije glukoze u skupini ispitanika s moždanim udarom mogu biti posljedica veće učestalosti šećerne bolesti u skupini ispitanika s moždanim udarom, ali isto tako, može biti i posljedica hiperglikemije u akutnom zbivanju poput moždanog udara. Naime, poznato je da tijekom akutnog zbivanja dolazi do porasta glukoze u krvi, tzv. stresne hiperglikemije. Smatra se da ona nastaje kao posljedica stresom aktivirane osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda i simpatičkog živčanog sustava pri čemu se oslobađaju hormoni stresa poput kortizola i katekolamina koji povećavaju koncentraciju glukoze u krvi (91). Najčešće se u bolesnika sa stresnom hiperglikemijom koncentracija glukoze u krvi vraća na normalne vrijednosti do završetka liječenja. Neka istraživanja pokazuju povezanost stresne hiperglikemije s lošim ishodom i težinom moždanog udara, a točni mehanizmi ove povezanosti još nisu poznati (91, 92, 93).

Niže koncentracije ukupnog kolesterola i LDL-kolestrola u skupini ispitanika s moždanim udarom vjerojatno su posljedica metaboličkih promjena povezanih s akutnim upalnim odgovorom. Druga istraživanja pokazuju oprečne rezultate koji su, vjerojatno, posljedica različitih ustroja studija. Tako su Šimundić i suradnici u istraživanju parova pokazali da su koncentracije HDL-kolestrola i triglicerida niže u skupini ispitanika s moždanim udarom u prvih 24 sata od nastupa moždanog udara, dok koncentracije ukupnog kolestrola i LDL-kolestrola nisu bile statistički značajno različite (94). Prospektivno istraživanje Perovića i suradnika, u kojem su mjerili koncentracije lipidnih parametara tijekom 72 sata od nastupa moždanog udara i pri otpustu, pokazalo je da su koncentracije ukupnog kolestrola, LDL-kolesterola i triglicerida najviše 24 sata od nastupa moždanog udara, a najniže pri otpustu s liječenja. Također, pokazali su da je niža koncentracija HDL-kolestrola prognostički pokazatelj lošijeg ishoda bolesti (95). Slične rezultate dalo je istraživanje Woo-a i suradnika u kojem su ispitanici s moždanim udarom imali više koncentracije ukupnog kolestrola i LDL-kolestrola unutar 48 sati od nastupa moždanog udara, dok su iste bile statistički značajno niže nakon 3 mjeseca (96).

Svim ispitanicima određen je genotip i ispitana učestalost varijanti *F5 Leiden*, 20210G/A gena *F2*, V34L gena *F13A1*, -455G/A gena *FGB*, I/D gena *ACE* i -1131T/C gena *APOA5*.

Učestalost genske varijante *F5 Leiden* u skupini kontrolnih ispitanika i ispitanika s moždanim udarom nije se statistički značajno razlikovala [OR 1,22 (95% CI 0,34 – 4,60); P = 0,769]. U skupini kontrolnih ispitanika učestalost A alela varijante *F5 Leiden* iznosila je 3,0 %, dok je u skupini ispitanika s moždanim udarom bila 1,8 %. Populacijska su istraživanja pokazala da je učestalost A alela od 1 – 3 % u europskoj populaciji, dok u azijskim i afričkim populacijama genska varijanta *F5 Leiden* nije prisutna (97). Metaanaliza Casasa i suradnika koja je obuhvatila 4588 ispitanika s moždanim udarom i 13798 kontrola pokazala je da nositelji A alela imaju 1,33 puta veći rizik za moždani udar u odnosu na kontrolne ispitanike, a učestalost A alela bila je 6,5 % (98). S druge strane, originalna istraživanja na izoliranim populacijama pokazuju rezultate slične našima. Tako je istraživanje parova Lalouscheka i suradnika, u kojem su ispitivali razliku učestalosti varijante *F5 Leiden* na skupini ispitanika s moždanim udarom do 60 godina starosti, pokazalo da nema razlike u učestalosti A alela između kontrolne skupine i ispitanika s moždanim udarom, a učestalost A alela iznosila je 5 % u obje skupine. Ipak, ovo je istraživanje pronašlo veću učestalost A alela u žena koje puše u skupini ispitanika s moždanim udarom (7 % u kontrolnoj skupini vs 15 % u skupini s moždanim udarom) te da žene koje puše i nosioci su A alela imaju 8,8 puta veći rizik za moždani udar [OR 8,8 (95% CI 2,038,0); P = 0,004] (99). U istraživanju Favaretta i suradnika na talijanskoj populaciji ispitanika s kriptogenim moždanim udarom s i bez patent foramen ovale pokazalo se da nema razlike u učestalosti varijante *F5 Leiden* između ispitivanih skupina, a učestalost A alela je 2,6 % (100). Istraživanje They-They-a uvrđilo je da A alel nije zastupljen u marokanskoj populaciji (101), a studija na populaciji Šri Lanke ustanovila je učestalost A alela od 3,3 % te da je genotip G/A zastupljeniji u skupini ispitanika s moždanim udarom kojem je u podlozi venska tromboza u odnosu na moždani udar koji je posljedica arterijske tromboze (13,6 % vs 1,3 %; P = 0,005) (102). U našem istraživanju pronašli smo da je varijanta *F5 Leiden* učestalija u PACI i POCI podtipu moždanog udara prema OCSP klasifikaciji. OCSP klasifikacija opisuje anatomsko mjesto i veličinu infarkta i teško ju je povezati s patofiziološkim mehanizmima nastanka moždanog udara. U tom svjetlu ne možemo zaključiti na koji bi način varijanta *F5 Leiden* mogla biti povezana s ovim podtipovima moždanog udara, iako Bamford i suradnici opisuju veću učestalost ponovnog udara kod ovih podtipova u odnosu na TACI i LACI (103).

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je učestalost A alela varijante G20210A gena za protrombin 1,5 % u kontrolnoj skupini i 1,2 % u skupini ispitanika s moždanim udarom te da nema statistički značajne razlike u učestalosti između ovih skupina (P = 0,113). Varijanta G210210A prisutna je u populaciji bijelaca, a učestalost A alela je oko 1 % (104). Uz *F5 Leiden*, varijanta G20210A gena *F2* jedna je od najistraživanijih genskih varijanti koje se povezuju s

nastankom venske i arterijske tromboze. Dok se varijanta G20210A smatra rizičnim čimbenikom za nastanak venske tromboze (39), rezultati povezanosti s moždanim udarom nisu konzistentni (35). Veći broj studija pokazuje povezanost ove varijante i različitih podtipova moždanog udara i sinergistički učinak s drugim rizičnim čimbenicima. Tako su Lalouschek i suradnici pronašli veću učestalost varijante G20210A u muških ispitanika s moždanim udarom nego u muških kontrolnih ispitanika (5 % vs 2 %;  $P = 0,033$ ), dok kod žena učestalost u obje skupine nije bila značajno različita. Ipak, nisu pronašli povezanost varijante G20210A i moždanog udara (99). S druge strane, They-They i suradnici su zaključili da postoji povezanost G/A genotipa i LAD podtipa moždanog udara prema TOAST klasifikaciji ( $P = 0,045$ ) (101). Gandara i suradnici su ispitivali učestalost varijante G20210A u ispitanika s atrijskom fibrilacijom i njihovu povezanost s moždanim udarom i zaključili su da nositelji varijante G20210A s atrijskom fibrilacijom imaju 2,3 puta veći rizik za moždani udar [OR 2,28 (95 % CI 1,29 – 4,01)] (105). I rezultati drugih istraživanja pokazuju povezanost varijante G20210A i moždanog udara u kombinaciji s drugim genskim i okolišnim čimbenicima rizika. Češka studija parova pokazala je povezanost G20210A s nastankom moždanog udara neodređenog uzroka [OR 3,67 (95% CI 1,52 – 8,85;  $P = 0,004$ )], dok je kod pušača nositelji A alela rizik za moždani udar neodređenog uzorka 5,14 puta veći [OR 5,14 (95% CI 1,65 – 16,01);  $P = 0,005$ ] (106). Pojačan rizik za moždani udar varijante G20210A u kombinaciji s varijantom 677C/T gena *MTHFR* potvrđen je kod marokanskih ispitanika s moždanim udarom (107). Rezultati ovog istraživanja nisu pokazali povezanost varijante G20210A s moždanim udarom, kao niti veću učestalost ove varijante u različitim podtipovima ishemijskog moždanog udara. Ispitivanje povezanosti biokemijskih parametara i varijante G20210A pokazalo je da ispitanici s moždanim udarom, nositelji G/A genotipa, imaju značajno niže koncentracije ukupnog kolestrola i HDL – kolestrola od nositelja genotipa G/G i više koncentracije CRP-a, dok su kod kontrolnih ispitanika nositelji G/A genotipa imali značajno više koncentracije LDL-kolestrola. U dostupnim literaturnim podacima nismo pronašli ovu vrstu povezanosti. S obzirom na promijenjen metabolizam lipida u akutnom zbiljanju poput ishemijskog moždanog udara možemo nagađati o drugim potencijalnim modificirajućim čimbenicima uključenima u metabolizam kolesterola i/ili upalni odgovor koji bi mogle biti u povezanosti s varijantom G20210A i na taj način doprinijeti nižim koncentracijama ukupnog i HDL-kolesterola i jačem upalnom odgovoru u moždanom udaru. Potrebna su daljnja istraživanja na većem uzorku ispitanika koja bi ispitala ovu povezanost.

Učestalost A alela varijante -455G/A gena *FGB* u kontrolnih ispitanika iznosi 23,7 %, dok je kod ispitanika s moždanim udarom učestalost 27 %. Rezultati nisu pokazali da nositelji A

alela imaju veći rizik za moždani udar [OR 1,19 (95 % CI 0,81 – 1,75); P = 0,371]. Prema projektu *1000 genomes* učestalost A alela u općoj europskoj populaciji je 21,6 %, dok je najniža u afričkoj (2 %), a najviša u istočnoazijskoj (22,1 %) (108). U promotorskoj regiji gena za β lanac fibrinogena opisana je skupina koju čine tri varijante, od kojih su -455G/A i -148C/T u neravnotežnoj povezanosti (engl. *linkage disequilibrium*, LD). Mali broj dostupnih istraživanja pokazuje povezanost ove dvije varijante s povišenim koncentracijama fibrinogena u plazmi kod ispitanika s moždanim udarom, ali izostaje povezanost s rizikom za nastanak moždanog udara (52, 109). S druge strane, metaanalize na kineskoj populaciji pronalaze da je varijanta -455G/A povezana s većim rizikom za nastanak moždanog udara (53, 110). U svojoj metaanalizi Cheng i suradnici su analizirali i dostupna istraživanja na bjelačkoj populaciji i zaključili su da u nema povezanosti -455G/A i moždanog udara. Ovaj rezultat vjerojatno je posljedica malog broja istraživanja parova provedenih na bjelačkoj populaciji koje su pokazale nikakvu ili slabu povezanost ove varijante i moždanog udara (52, 111). Varijanta -148C/T, osim s povišenim koncentracijama fibrinogena, povezuje se i s povišenim drugim upalnim biljezima, CRP-om i interleukinom 6, a pronađena je i povezanost s nefatalnim moždanim udarom u perioperativnom razdoblju nakon ugradnje srčane prenosnice (112). Ovo istraživanje nije obuhvatilo ispitivanje koncentracije fibrinogena, a nije pronađena niti povezanost varijante -455G/A s koncentracijama CRP-a u ispitanika s ishemijskim moždanim udarom.

Etiopatofiziološka heterogenost moždanog udara uočava se i u rezultatima istraživanja varijante V34L gena *F13A1*. Naime, rezultati manjeg broja istraživanja pokazali su protektivan učinak L alela na nastanak moždanog udara, dok u drugim studijama ta povezanost nije pronađena (48, 113, 114, 115, 116). Učestalost L alela varijante V34L gena *F13A1* u općoj europskoj populaciji je 24 %, dok kod istočnih azijata nije zastupljena (117). U ovom istraživanju učestalost L alela bila je 27,7 % u kontrolnih i 26 % u ispitanika s moždanim udarom. Također, potvrđeni su rezultati drugih istraživanja koja nisu pronašla značajnu razliku u učestalosti L alela između kontrolnih i ispitanika s moždanim udarom [OR 0,92 (95 % CI 0,63 – 1,33); P = 0,650] niti povezanost L alela s obilježjima moždanog udara. Iako se učinak varijante V34L i moždanog udara ispituje u mnogim populacijama izostanak dokaza o povezanosti može biti posljedica nedovoljno definiranih podskupina moždanog udara. Spekulira se da bi učestalost ove varijante u ispitanika s moždanim udarom mogla biti različita u aterosklerotskom i kardioembolijskom moždanom udaru s obzirom na negativnu povezanost V34L s infarktom miokarda (118, 119).

Rezultati istraživanja pokazali su da je učestalost 4G alela varijante 5G/4G gena *SERPINE1* 56,4 % u kontrolnih ispitanika, a 53,9 % u ispitanika s moždanim udarom. Nije

pronađena statistički značajna razlika u učestalosti 4G alela između ispitivanih skupina. Također, nije pronađena povezanost varijante 5G/4G s obilježjima moždanog udara, kao niti s biokemijskim parametrima. 4G alel javlja se u općoj europskoj populaciji s učestalošću 53,8 % (120). Smatra se da nositelji 4G alela imaju višu aktivnost PAI-1 što se povezuje s povećanim rizikom za trombozu i koronarnu bolest, a neke genske studije povezanosti to i potvrđuju (121, 122, 123). S druge strane, povezanost 4G alela i rizika za moždani udar u mnogim istraživanjima nije dokazana (65, 124, 125, 126). U kardiovaskularnim bolestima učinak 4G alela se povezuje i s povišenim lipidnim parametrima i biljezima upale što naglašava njegovu ulogu u nastanku ateroskleroze. To bi moglo objasniti rezultate istraživanja koji su pronašli povezanost LAD podtipa moždanog udara s 4G alelom. Dobiveni rezultati nisu pokazali veću učestalost 4G alela u ovom podtipu moždanog udara, niti povezanost s lipidnim parametrima u ispitanika s moždanim udarom. Jedan od mogućih razloga je taj što je LAD bio zastupljen u 27,3 % ispitanika s moždanim udarom, a drugi je taj što se smatra da hiperlipidemija nije usko povezana s moždanim udarom kao što je slučaj u kardiovaskularnim poremećajima. Treće, kao što je i ovo istraživanje pokazalo, poznavajući koncentracije lipidnih parametara u ispitanika s akutnim moždanim udarom ne možemo donijeti zaključak o njihovim bazalnim koncentracijama pa je za istraživanje ove povezanosti potreban drugačiji ustroj studije na većoj skupini ispitanika.

Učestalost D alela I/D varijante gena *ACE* u populaciji kontrolnih ispitanika bila je 58,4 %, a u ispitanika s moždanim udarom 55,3 %. Nije uočena statistički značajna razlika u učestalosti ove varijante između ispitivanih populacija [OR 0,88 (95 % CI 0,631,23); P = 0,454]. Također, nije pronađena povezanost I/D varijante *ACE* s ispitivanim biokemijskim parametrima. Učestalost I/D varijante *ACE* varira u ovisnosti o ispitivanoj populaciji. Tako je kod bijelaca i crnaca D alel učestaliji nego u azijata (127). Solznoki i suradnici su pronašli da je učestalost D alela u zdravih ispitanika 47 %, a u ispitanika s moždanim udarom 52 % te da je učestalost D alela veća u skupini sa SAD (128). Istraživanja na zambijskoj populaciji s moždanim udarom pokazala su učestalost D alela od 12,2 %, a povezanost nije pronađena (129). S druge strane, egipatska studija pokazuje učestalost D/D genotipa u 53,3 % ispitanika s moždanim udarom vs 10 % kod zdravih ispitanika (P < 0,001), ali da nema povezanosti s LAD i SAD podtipom (130). Kod Indijaca nema povezanosti I/D varijante *ACE* i SAD, a učestalost I/D genotipa u ispitanika s moždanim udarom bila je 43,7 % (131). Velika metaanaliza Zhao i suradnika obuhvatila je 150 istraživanja parova o povezanosti *ACE* i moždanog udara na bjelačkoj i azijatskoj populaciji. Rezultati ove opsežne metaanalize ukazuju da na to da je I/D varijanta povezana s rizikom za moždani udar u kineskoj populaciji pa nositelji D alela imaju

1,5x veći rizik [1,51, (95% CI 1,38 –1,67)  $P < 0,001$ ], dok se u bjelačkoj populaciji pokazala granična povezanost s moždanim udarom kod nositelja alela D vs. I [1,08 (95% CI 1,03–1,13)  $P = 0,001$ ] (132). Osim rasne razlike, razliku u učestalosti i povezanosti D alela s podtipovima moždanog udara između istraživanja moguće je objasniti i s metodološkim razlikama u genotipizaciji I/D varijante *ACE*. Naime, pokazalo se da različite modifikacije originalne metode postavljene od Rigata i suradnika mogu pridonijeti pogrešci u genotipizaciji pa je usporedbu rezultata s drugim studijama potrebno sagledati i u tom kontekstu (133). Ovo istraživanje utvrdilo je povezanost I/D varijante *ACE* s težinom moždanog udara prema NIHSS skali ( $P = 0,050$ ). Do sada je poznato da nositelji D alela imaju povišene koncentracije enzima *ACE* koji je odgovoran za pretvorbu angiotenzina I u angiotenzin II pa bi rezultat povezanosti ispitivane varijante gena za *ACE* i težine moždanog udara najprije mogli pripisati povišenim koncentracijama angiotenzina II. Naime, angiotenzin II u akutnom ishemijskom moždanom udaru može djelovati tako da povećava područje zahvaćeno infarktom na način da pojačava oksidativni stres i upalni odgovor uslijed smanjene perfuzije (134). U dostupnim literaturnim podacima ne pronalazi se povezanost I/D varijante *ACE* i NIHSS, dok, s druge strane, istraživanje povezanosti koncentracije angiotenzina II i NIHSS pokazuje negativnu koleraciju (135). Budući dizajn istraživanja trebao bi uključiti mjerenje koncentracija *ACE* i angiotenzina II u većim skupinama podtipova moždanog udara da bi se mogao izvesti jasniji zaključak o ovoj povezanosti.

Alel C varijanta -1131T/C gena *APOA5* pokazao se s učestalošću od 7,2 % u kontrolnoj skupini i 7,7 % u ispitanika s moždanim udarom. Nije pronađeno da je -1131T/C varijanta gena *APOA5* rizični čimbenik za nastanak moždanog udara [1,07 (95 % CI 0,57 – 2,03);  $P = 0,827$ ]. Testiranje povezanosti genotipova -1131T/C i biokemijskih parametara pokazalo je da zdravi nositelji T/C genotipa imaju nižu koncentraciju HDL-kolestrola u odnosu na nositelje divljeg genotipa T/T. Nadalje, pronađena je veća učestalost T/C genotipa u podskupini moždanog udara s NIHSS  $\geq 21$ . C alel -1131T/C gena *APOA5* javlja se u općoj europskoj populaciji s učestalošću od 7 % u britanskoj do 11 % u španjolskoj populaciji. Najveća učestalost ove varijante je u afričkoj populaciji (45 %), a u istočnoazijskoj je prisutna oko 0,5 % (136). Smatra se da -1131T/C varijanta rezultira smanjenom sintezom ApoA5 što za posljedicu ima povećanje koncentracije triglicerida. Naime, pokazalo se da apolipoprotein A5 ima ulogu u hidrolizi lipoproteina bogatih trigliceridima regulirajući lipoprotein lipazu vezanu za membranske proteoglikane. ApoA5 je sastavni dio lipoproteinskih frakcija hilomkrona, VLDL-a i HDL-a. (55, 137). Nadalje, pretpostavlja se da ApoA5 vezan na HDL djeluje kao donor ApoA5 intestinalnim hilomikronima u postprandijalnom stanju. Prethodno istraživanje u kojem

je ispitana povezanost postprandijalne hipertrigliceridemije u zdravih ispitanika i varijante -1131T/C gena *APOA5* tu povezanost nije pokazalo. Međutim, studija nije obuhvatila mjerenje koncentracija ApoA5 pa ne možemo sa sigurnošću odbaciti tezu Merkel i suradnika (137, 138). Varijante u genu *APOA5* često se povezuju s trigliceridemijom u metaboličkom sindromu, šećernoj bolesti, kardiovaskularnim bolestima i drugima (139, 140, 141). Unatoč tomu, istraživanje povezanosti -1131T/C s koncentracijom triglicerida u ispitanika sa šećernom bolesti nije potvrdilo rezultate drugih istraživanja (142). U ovom istraživanju također nije pronađena povezanost -1131T/C s koncentracijom triglicerida u ispitivanim skupinama. S druge strane, pronađena je povezanost -1131T/C s koncentracijom HDL-kolestrola. Pretpostavljamo da bi ta povezanost mogla biti rezultat pleiotropnog učinka varijante -1131T/C gena *APOA5*. Genomska studija povezanosti pronašla je varijante na 30 različitih lokusa povezanih s dislipidemijom i njihovu povezanost. Između ostalog, pokazala se povezanost HDL-a s grupom gena *APOA1/APOC3/APOA4/APOA5* ( $P = 10^{-12}$ ), istom s kojom se povezuju i trigliceridi ( $P = 4 \times 10^{-62}$ ) (143). Nedostatak povezanosti koncentracije triglicerida i -1131T/C može biti posljedica malog broja ispitanika da bi učinak ove genske varijante došao do izražaja. Potrebno je provesti istraživanje na većoj skupini ispitanika da bi se potvrdila moguća povezanost.

Budući da se dislipidemija, a posebno hipertrigliceridemija, smatra rizičnim čimbenikom za nastanak moždanog udara, neka istraživanja parova pokazuju povezanost varijante -1131T/C s moždanim udarom (144, 145, 146). S druge strane, u ovom istraživanju ta povezanost nije pronađena, a slične rezultate pokazuje i istraživanje Cana i suradnika (147). Unatoč dokazima nekoliko istraživanja o samostalnom učinku -1131T/C gena *APOA5*, moguće je da ta varijanta povećava rizik za moždani udar udruženim djelovanjem s drugim genima i/ili okolišnim čimbenicima. Ipak, ovo je istraživanje pokazalo da je učestalost varijante -1131T/C *APOA5* veća u skupini ispitanika s moždanim udarom s NIHSS  $\geq 21$  te da će nositelj C alela imati 2,4 puta veći rizik za nastanak teškog oblika moždanog udara [(95 % CI 1,105,25);  $P = 0,034$ ](148).

Rezultati multivarijatne regresijske analize potvrđuju da varijanta -1131T/C udružena s dobi i indeksom tjelesne mase povećava izgleda za nastanak teškog oblika moždanog udara (NIHSS  $\geq 21$ ) 3,26 puta.



## 6 ZAKLJUČCI

Rezultati ovog istraživanja pokazali su sljedeće:

1. Učestalost genskih varijanti *F5 Leiden*, G20210A gena *F2*, V34L gena *F13A1*, -455G/A gena *FGB*, I/D gena *ACE* i -1131T/C gena *APOA5* u kontrolnih ispitanika u skladu je s podacima dobivenima u istraživanjima u drugim europskim populacijama
2. Nema razlike u učestalosti genskih varijanti *F5 Leiden*, G20210A gena *F2*, V34L gena *F13A1*, -455G/A gena *FGB*, I/D gena *ACE* i -1131T/C gena *APOA5* između skupine kontrolnih ispitanika i ispitanika s akutnim ishemijskim moždanim udarom
3. Hipertenzija i šećerna bolest učestalije su u ispitanika s moždanim udarom
4. Ispitanici s moždanim udarom imaju niže koncentracije ukupnog i LDL – kolesterola i više koncentracije glukoze i CRP-a od kontrolnih ispitanika
5. Pronađena je povezanost koncentracije ukupnog i HDL – kolesterola i CRP-a u ispitanika s moždanim udarom i koncentracije LDL – kolesterola u kontrolnih ispitanika nositelja A alela varijante G20210A gena *F2*
6. Kontrolni ispitanici nosioci T/C genotipa varijante -1131T/C gena *APOA5* imaju niže koncentracije HDL – kolesterola.
7. Kontrolni ispitanici nosioci A alela varijante -455G/A gena *FGB* imaju niže koncentracije LDL – kolesterola
8. Nije pronađena povezanost genskih varijanti *F5 Leiden*, V34L gena *F13A1*, I/D gena *ACE* i 5G/4G gena *SERPINE1* i biokemijskih parametara
9. Genotip G/A *F5* učestaliji je u TACI i PACI podskupinama moždanog udara prema OCSP klasifikaciji
10. Pronađena je povezanost težine moždanog udara prema NIHSS skali i varijante I/D gena *ACE*
11. U podskupini ispitanika s moždanim udarom s NIHSS  $\geq 21$  veća je učestalost T/C genotipa varijante -1131T/C gena *APOA5*
12. Poznavanjem genotipa varijante -1131T/C gena za *APO5*, dobi i indeksa tjelesne mase moguće je predvidjeti teški oblik moždanog udara (NIHSS  $\geq 21$ )

Zaključno, istraživanje nije utvrdilo povezanost ispitivanih genskih varijanti s nastankom moždanog udara, dok se za varijante *ACE* i *APOA5* utvrdila povezanost s težinom ishemijskog moždanog udara.

## 7 LITERATURA

---

- 1 Hatano S. Experience from a multicentre stroke register: a preliminary report. *Bull World Health Organ.* 1976;54:541–553.
- 2 Hankey GJ. Stroke. *Lancet.* 2017;389:641–654.
- 3 Caplan LR. Stroke Classification: A Personal View. *Stroke.* 2011;42(Suppl 1):S3–6.
- 4 Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, Donnan GA, Hennerici MG. Classification of stroke subtypes. *Cerebrovasc Dis.* 2009;27:493–501.
- 5 Adams HP, Biller J. Classification of Subtypes of Ischemic Stroke: History of the Trial of Org 10 172 in Acute Stroke Treatment Classification. *Stroke.* 2015;46:e114–117.
- 6 Mead GE, Lewis SC, Wardlaw JM, Dennis MS, Warlow CP. How well does the Oxfordshire community stroke project classification predict the site and size of the infarct on brain imaging? *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2000;68:558–562.
- 7 Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, et al. Global and regional burden of stroke during 1990–2010: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2014;383:245–55.
- 8 Feigin VL, Norrving B, Mensah GA. Global Burden of Stroke. *Circ Res.* 2017;120:439–448.
- 9 Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, et al. Heart Disease and Stroke Statistics’2017 Update: A Report from the American Heart Association. Vol. 135, *Circulation.* 2017;135:146–603
- 10 Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics–2016 update a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2016;133:38–48.
- 11 Zhang Y, Chapman AM, Plested M, Jackson D, Purroy F. The incidence, prevalence, and mortality of stroke in France, Germany, Italy, Spain, the UK, and the US: A literature review. *Stroke Res Treat.* 2012;2012.
- 12 Kadojic D, Dikanovic M, Bitunjac M, Vuletić V, Čengić LJ, Bijelić RB. Epidemiology of stroke. *Periodicum Bilogorum* 2012;114:253–257.

- 
- 13 Pikija S, Cvetko D, Malojčić B, Trkanjec Z, Pavliček I, Lukić A, et al. A population-based prospective 24-month study of stroke: Incidence and 30-day case-fatality rates of first-ever strokes in Croatia. *Neuroepidemiology*. 2012;38:164–171.
  - 14 Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: Overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacol Biochem Behav*. 2007;87:179–197.
  - 15 Banerjee C, Chimowitz MI. Stroke Caused by Atherosclerosis of the Major Intracranial Arteries. *Circ Res*. 2017;120:502–13.
  - 16 Elkind MS V. Inflammation, Atherosclerosis, and Stroke. *Neurologist*. 2006;12:140–148.
  - 17 Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. *Pathophysiology*; 2010;17:197–218.
  - 18 Brouns R, De Deyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009;111:483–95.
  - 19 Nagy Z, Nardai S. Cerebral ischemia/reperfusion injury: From bench space to bedside. *Brain Res Bull*. 2017;134:30–37
  - 20 Ginsberg MD. Expanding the concept of neuroprotection for acute ischemic stroke: The pivotal roles of reperfusion and the collateral circulation. *Prog Neurobiol*. 2016;145–146.
  - 21 Hu X, Silva TM De, Chen J, Faraci FM. Cerebral Vascular Disease and Neurovascular Injury in Ischemic Stroke. 2017;449–472.
  - 22 Boehme AK, Esenwa C, Elkind MSV. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res*. 2017;120:472–95.
  - 23 Disertori M, Quintarelli S, Grasso M, Pilotto A, Narula N, Favalli V, et al. Autosomal recessive atrial dilated cardiomyopathy with standstill evolution associated with mutation of Natriuretic Peptide Precursor A. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013;6:27–36.
  - 24 Kamel H, Okin PM, Elkind MSV, Iadecola C. Atrial Fibrillation and Mechanisms of Stroke: Time for a New Model. *Stroke*. 2016;47:895–900.

- 
- 25 Bhat VM, Cole JW, Sorkin JD, Wozniak MA, Malarcher AM, Giles WH, et al. Dose-response relationship between cigarette smoking and risk of ischemic stroke in young women. *Stroke*. 2008;39:2439–2443.
- 26 Hillbom M, Saloheimo P, Juvela S. Alcohol consumption, blood pressure, and the risk of stroke. *Curr Hypertens Rep*. 2011;13:208–213.
- 27 Esse K, Fossati-Bellani M, Traylor A, Martin-Schild S. Epidemic of illicit drug use, mechanisms of action/addiction and stroke as a health hazard. *Brain Behav*. 2011;1:44–54.
- 28 Tziomalos K, Athyros V, Karagiannis A, Mikhailidis D. Dyslipidemia as a Risk Factor for Ischemic Stroke. *Curr Top Med Chem*. 2009;9(14):1291–1297.
- 29 Danaei G. Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: A pooled analysis of 97 prospective cohorts with 1·8 million participants. *Lancet*. 2014;383:970–983.
- 30 Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas M-I, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med*. 2013;368:1279–1290.
- 31 Chen R, Ovbiagele B, Feng W. Diabetes and Stroke: Epidemiology, Pathophysiology, Pharmaceuticals and Outcomes. *Am J Med Sci*. 2016;351:380–386.
- 32 Lee C Do, Folsom AR, Blair SN. Physical activity and stroke risk: A meta-analysis. *Stroke*. 2003;34:2475–2481.
- 33 Esenwa CC, Elkind MS. Inflammatory risk factors, biomarkers and associated therapy in ischaemic stroke. *Nat Rev Neurol*. 2016;12:594–604.
- 34 Baird AE. Genetics and genomics of stroke: Novel approaches. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56:245–253.
- 35 Matarin M, Singleton A, Hardy J, Meschia J. The genetics of ischaemic stroke. *J Intern Med*. 2010;267:139–155.

- 
- 36 Dahlbäck B. Pro- and anticoagulant properties of factor V in pathogenesis of thrombosis and bleeding disorders. *Int J Lab Hematol.* 2016;38:4–11.
- 37 Dahlback B. Novel insights into the regulation of coagulation by factor V isoforms , tissue factor pathway inhibitor  $\alpha$  , and protein S. *J Thromb Haemost.* 2017;15:1241–1250.
- 38 Lancellotti S, Basso M, De Cristofaro R. Congenital prothrombin deficiency: An update. *Semin Thromb Hemost.* 2013;39:596–606.
- 39 Mannucci PM, Franchini M. Classic thrombophilic gene variants. *Thromb Haemost.* 2015;114:885–889.
- 40 Gehring NH, Frede U, Neu-Yilik G, Hundsdoerfer P, Vetter B, Hentze MW, et al. Increased efficiency of mRNA 3' end formation: A new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nat Genet.* 2001;28:389–393.
- 41 Balta G, Altay C, Gurgey A. PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs. *Am J Hematol.* 2002;71:89–93.
- 42 Crandall DL, Quinet EM, Morgan GA, Busler DE, Mchendry-Rinde B, Kral JG. Synthesis and secretion of plasminogen activator inhibitor-1 by human preadipocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3222–3227.
- 43 Iwaki T, Tanaka A, Miyawaki Y, Suzuki A, Kobayashi T, Takamatsu J, et al. Life-threatening hemorrhage and prolonged wound healing are remarkable phenotypes manifested by complete plasminogen activator inhibitor-1 deficiency in humans. *J Thromb Haemost.* 2011;9:1200–1206.
- 44 Marjot T, Yadav S, Hasan N, Bentley P, Sharma P. Genes associated with adult cerebral venous thrombosis. *Stroke.* 2011;42:913–918.
- 45 Bagoly Z, Koncz Z, Hársfalvi J, Muszbek L. Factor XIII, clot structure, thrombosis. *Thromb Res.* 2012;129:382–387.
- 46 Ivaškevičius V, Biswas A, Garly M-L, Oldenburg J. Comparison of F13A1 gene mutations in 73 patients treated with recombinant FXIII-A 2. *Haemophilia.* 2017;23:e194–203.

- 
- 47 Muszbek L, Berezky Z, Bagoly Z, Shemirani AH, Katona É. Factor XIII and atherothrombotic diseases. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2010;36:18–33.
- 48 Shemirani AH, Pongrácz E, Antalfi B, Ádány R, Muszbek L. Factor XIII A subunit Val34Leu polymorphism in patients suffering atherothrombotic ischemic stroke. *Thromb Res*. 2010;126:159–162.
- 49 Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1894–1904.
- 50 Duga S, Asselta R, Santagostino E, Zeinali S, Simonc T, Malcovati M, et al. Missense mutations in the human beta fibrinogen gene cause congenital afibrinogenemia by impairing fibrinogen secretion. *Blood*. 2000;95:1336–1341.
- 51 Asselta R, Duga S, Spena S, Peyvandi F, Castaman G, Malcovati M, et al. Brief report Missense or splicing mutation? The case of a fibrinogen  $\beta$ -chain mutation causing severe hypofibrinogenemia. 2004;103:3051–3054.
- 52 Jood K, Danielson J, Ladenvall C, Blomstrand C, Jern C. Fibrinogen gene variation and ischemic stroke. *J Thromb Haemost*. 2008;6:897–904.
- 53 Gu L, Wu G, Su L, Yan Y, Long J, Tan J, et al. Genetic polymorphism of  $\beta$ -fibrinogen gene-455G/A can contribute to the risk of ischemic stroke. *Neurol Sci*. 2014;35:151–161.
- 54 Pennacchio LA, Rubin EM. Apolipoprotein A5, a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice. *Arter Thromb Vasc Biol*. 2003;23:529–534.
- 55 Merkel M, Loeffler B, Kluger M, Fabig N, Geppert G, Pennacchio LA, et al. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase. *J Biol Chem*. 2005;280:21553–21560.
- 56 Pennacchio LA. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet*. 2002;11:3031–3038.
- 57 Henneman P, Schaap FG, Havekes LM, Rensen PCN, Frants RR, van Tol A, et al. Plasma apoAV levels are markedly elevated in severe hypertriglyceridemia and positively correlated with the APOA5 S19W polymorphism. *Atherosclerosis*. 2007;193:129–134.

- 
- 58 Zhao T, Zhao J. Association of the apolipoprotein A5 gene -1131 T>C polymorphism with fasting blood lipids: a meta-analysis in 37859 subjects. *BMC Med Genet.*2010;11:120.
- 59 Charriere S, Bernard S, Aqallal M, Merlin M, Billon S, Perrot L, et al. Association of APOA5 -1131T>C and S19W gene polymorphisms with both mild hypertriglyceridemia and hyperchylomicronemia in type 2 diabetic patients. *Clin Chim Acta.* 2008;394:99–103.
- 60 Syed K. Nawaz, Shahida Hasnain. Pleiotropni učinci polimorfizma ACE. / Pleiotropic effects of ACE polymorphism. *Biochemia Medica* 2009;19:36-49.
- 61 Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest.* 1990;86:1343–1346.
- 62 Rudnicki M, Mayer G. Significance of genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular and renal disease. *Pharmacogenomics.* 2009;10:463–476.
- 63 Marjot T, Yadav S, Hasan N, Bentley P, Sharma P. Genes associated with adult cerebral venous thrombosis. *Stroke.* 2011;42:913–918.
- 64 de Lau LML, Leebeek FWG, de Maat MPM, Koudstaal PJ, Dippel DWJ. A review of hereditary and acquired coagulation disorders in the aetiology of ischaemic stroke. *Int J Stroke.* 2010;5:385–394.
- 65 Hu X, Zan X, Xie Z, Li Y, Lin S, Li H, et al. Association Between Plasminogen Activator Inhibitor-1 Genetic Polymorphisms and Stroke Susceptibility. *Mol Neurobiol.* 2017;54:328–341.
- 66 Pi Y, Zhang L, Yang Q, Li B, Guo L, Fang C, et al. Apolipoprotein A5 Gene Promoter Region-1131T/C Polymorphism Is Associated with Risk of Ischemic Stroke and Elevated Triglyceride Levels: A Meta-Analysis. *Cerebrovasc Dis.* 2012;33:558–565
- 67 NIH Stroke Scale. Dostupno na [https://stroke.nih.gov/documents/NIH\\_Stroke\\_Scale.pdf](https://stroke.nih.gov/documents/NIH_Stroke_Scale.pdf) Pristupljeno 4. prosinca 2017.
- 68 The Barthel Index. Dostupno na <http://www.strokecenter.org/wpcontent/uploads/2011/08/barthel.pdf> Pristupljeno 4.

---

prosinca 2017.

- 69 Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
- 70 O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, Xavier D, Liu L, Zhang H, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. *Lancet* 2016;388:761–775.
- 71 Feigin VL, Norrving B, George MG, Foltz JL, Roth GA, Mensah GA. Prevention of stroke: A strategic global imperative. *Nat Rev Neurol*. 2016;12:501–512.
- 72 Yu JG, Zhou RR, Cai GJ. From Hypertension to Stroke: Mechanisms and Potential Prevention Strategies. *CNS Neurosci Ther*. 2011;17:577–584.
- 73 Ramadan H, Patterson C, Maguire S, Melvin I, Kain K, Teale E, et al. Incidence of first stroke and ethnic differences in stroke pattern in Bradford, UK: Bradford Stroke Study. *Int J Stroke*. 2017;0(0):174749301774305. doi: 10.1177/1747493017743052
- 74 Klatsky AL. Alcohol and cardiovascular diseases: Where do we stand today? *J Intern Med*. 2015;278:238–250.
- 75 Taghizadeh N, Vonk JM, Boezen HM. Lifetime smoking history and cause-specific mortality in a cohort study with 43 years of Follow-up. *PLoS One*. 2016;11:1–18.
- 76 Commentary S. The smoking – thrombolysis paradox and acute ischemic stroke. 2005;293–295.
- 77 Kim J, Gall SL, Dewey HM, Macdonell RAL, Sturm JW, Thrift AG. Baseline Smoking Status and the Long-Term Risk of Death or Nonfatal Vascular Event in People with Stroke A 10-Year Survival Analysis. *Stroke*. 2012;43:3173–3178.
- 78 Levine DA, Walter JM, Karve SJ, Skolarus LE, Levine SR, Mulhorn KA. Smoking and mortality in stroke survivors: Can we eliminate the paradox? *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2014;23:1282–1290.



- 
- 79 Smits LJM, Van Kuijk SMJ, Leffers P, Peeters LL, Prins MH, Sep SJS. Index event bias: A numerical example. *J Clin Epidemiol*. 2013;66:192–196.
- 80 McCarter KD, Li C, Jiang Z, Lu W, Smith HC, Xu G, et al. Effect of Low-Dose Alcohol Consumption on Inflammation Following Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Sci Rep*. 2017;7:1–9.
- 81 Hillbom M, Saloheimo P, Juvela S. Alcohol consumption, blood pressure, and the risk of stroke. *Curr Hypertens Rep*. 2011;13:208–13.
- 82 Blann AD, Ridker PM, Lip GYH. Inflammation, cell adhesion molecules, and stroke: Tools in pathophysiology and epidemiology? *Stroke*. 2002;33:2141–2143.
- 83 Simundic AM, Basic V, Topic E, Demarin V, Vrkcic N, Stefanovic M, Begonja A. Soluble adhesion molecules in acute ischemic stroke. *Clin Investig Med*. 2004;27:86–92.
- 84 Cengiz N, Erdoğan E, Özbek H, Tuncer M. Adhesion molecules in cerebral ischemia and atherosclerosis. *Eur J Gen Med*. 2009;6:249–56.
- 85 Blum A, Haiek S, Vaispapir V. Inflammatory Response in the First 48 Hours of Acute Ischemic Stroke. *J Neurol Res*. 2011;1:16-21.
- 86 Bašić-Kes V, Šimundić AM, Vargek-Solter V, Topić E, Demarin V. The role of conventional and some less conventional risk factors in the pathogenesis of acute ischemic stroke. *Acta Clin Croat*. 2005;44:97–103.
- 87 Basic Kes V, Simundic AM, Nikolac N, Topic E, Demarin V. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in acute ischemic stroke and their relation to early neurological deficit and stroke outcome. *Clin Biochem*. 2008;41:1330–1334.
- 88 Chaudhuri JR, Mridula KR, Umamahesh M, Swathi A, Balaraju B, Bandaru VCS. High sensitivity C-reactive protein levels in Acute Ischemic Stroke and subtypes: A study from a tertiary care center. *Iran J Neurol*. 2013;12:92–97.
- 89 Yan J, Greer JM, McCombe PA. Prolonged elevation of cytokine levels after human acute ischaemic stroke with evidence of individual variability. *J Neuroimmunol*. 2012;246:78–84.

- 
- 90 Richard S, Lagerstedt L, Burkhard PR, Debouverie M, Turck N, Sanchez J-C. E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers of 3-month outcome in cerebrovascular diseases. *J Inflamm.* 2015;12:61.
- 91 Luitse MJA, Biessels GJ, Rutten GEHM, Kappelle LJ. Diabetes, hyperglycaemia, and acute ischaemic stroke. *The Lancet Neurology.* 2012;11:261–271.
- 92 Wong AA, Schluter PJ. Natural history of blood glucose within the first 48 hours after ischemic stroke. 2008;70:1036-1041.
- 93 Tziomalos K, Dimitriou P, Bouziana SD, Spanou M, Kostaki S, Angelopoulou SM, et al. Stress hyperglycemia and acute ischemic stroke in-hospital outcome. *Metabolism: Clinical and Experimental.* 2017;67:99–105.
- 94 Simundic AM, Nikolac N, Topic E, Basic-Kes V, Demarin V. Are serum lipids measured on stroke admission prognostic? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2008;46:1163–1167.
- 95 Perovic E, Mrdjen A, Harapin M, Simundic A-M. Short Term Changes of Serum Lipids in Acute Ischemic Stroke. *Clinical Laboratory.* 2016;62:2107-2113.
- 96 Woo J, Lam CWK, Kay R, Wong HY, Teoh R, Nicholls MG. Acute and long-term changes in serum lipids after acute stroke. *Stroke.* 1990;21:1407–1411.
- 97 [http://phase3browser.1000genomes.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?r=1:169518549-169519549;source=dbSNP;v=rs6025;vdb=variation;vf=5758](http://phase3browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=1:169518549-169519549;source=dbSNP;v=rs6025;vdb=variation;vf=5758)  
Pristupljeno 30. prosinca 2017.
- 98 Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of Genetic Studies in Ischemic Stroke. *Arch Neurol.* 2004;61:1653-1661.
- 99 Lalouschek W, Schillinger M, Hsieh K, Endler G, Tentschert S, Lang W, et al. Matched case-control study on factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutation in patients with ischemic stroke/transient ischemic attack up to the age of 60 years. *Stroke.* 2005;36:1405–1409.
- 100 Favaretto E, Sartori M, Conti E, Legnani C, Palareti G. G1691A factor v and G20210A FII mutations, acute ischemic stroke of unknown cause, and patent foramen ovale. *Thromb Res.* 2012;130:720–724.

- 
- 101 They-They TP, Battas O, Slassi I, Rafai MA, Katumbay DT, Nadifi S. Prothrombin G20210A and factor V Leiden polymorphisms in stroke. *J Mol Neurosci*. 2012;46:210–216.
- 102 Kalpage HA, Sumathipala DS, Goonasekara HW, Dissanayake VH. A Study on Hereditary Thrombophilia and Stroke in a Cohort from Sri Lanka. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2016;25:102–109.
- 103 Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Warlow C, Burn J. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *Lancet*. 1991;337:1521-1526.
- 104 [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=11:46739005-46740005;v=rs1799963;vdb=variation;vf=1242167](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=11:46739005-46740005;v=rs1799963;vdb=variation;vf=1242167) Pristupljeno 30. prosinca 2017.
- 105 Gandara E, Barboza AG, Vazquez F. Prevalence of prothrombin G20210A mutation in patients with atrial fibrillation: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res*. 2016;147:7–9.
- 106 Krajcoviechova A, Wohlfahrt P, Mayer O, Vanek J, Hajkova J, Hlinovsky D, et al. Tobacco smoking strongly modifies the association of prothrombin G20210A with undetermined stroke: Consecutive survivors and population-based controls. *Atherosclerosis*. 2015;240:446–452.
- 107 They-They TP, Battas O, Nadifi S. Synergistic effect of MTHFR C677T and F2 G20210A polymorphisms on ischemic stroke. *Neurosci Bull*. 2013;29:725–730.
- 108 [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:154562056-154563056;v=rs1800790;vdb=variation;vf=1242917](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:154562056-154563056;v=rs1800790;vdb=variation;vf=1242917) Pristupljeno 2. siječnja 2018.
- 109 Blake GJ, Schmitz C, Lindpaintner K, Ridker PM. Mutation in the promoter region of the beta-fibrinogen gene and the risk of future myocardial infarction, stroke and venous thrombosis. *Eur Heart J*. 2001;22:2262–2266.
- 110 Cheng S-Y, Zhao Y-D, Zeng J-W, Chen X-Y, Wang R-D. A polymorphism (-455G;A) in the  $\beta$ -fibrinogen gene is associated with an increased risk of cerebral infarction in the Chinese population: A meta-analysis. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst*. 2015;16:399–408.

- 
- 111 Kumar A, Misra S, Kumar P, Sagar R, Prasad K. Association between Beta-Fibrinogen C148T Gene Polymorphism and Risk of Ischemic Stroke in a North Indian Population: A Case-Control Study. *Pulse*. 2016;4:165–171.
- 112 Wypasek E, Stepień E, Kot M, Plicner D, Kapelak B, Sadowski J, et al. Fibrinogen beta-chain -C148T polymorphism is associated with increased fibrinogen, C-reactive protein, and interleukin-6 in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Inflammation*. 2012;35:429–435.
- 113 Elbaz A, Poirier O, Canaple S, Che ´dru F, Cambien F, Amarenco P. The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction. *Blood* 2000;95:586–591
- 114 Slowik A, Dziedzic T, Pera J, Figlewicz DA, Szczudlik A. Coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with small vessel disease or primary intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis* 2005;19(3):165–170
- 115 Moskau S, Smolka K, Semmler A, Schweichel D, Harbrecht U, Müller J, et al. Common genetic coagulation variants are not associated with ischemic stroke in a case-control study. *Neurol Res*. 2010;32:519–522.
- 116 Kamberi B, Kamberi F, Spiroski M. Vascular genetic variants and ischemic stroke susceptibility in Albanians from the Republic of Macedonia. *Maced J Med Sci*. 2016;4:556–64.
- 117 [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:6318062-6319062;v=rs5985;vdb=variation;vf=5714](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:6318062-6319062;v=rs5985;vdb=variation;vf=5714) Pristupljeno 3. siječnja 2018.
- 118 Voko Z, Bereczky Z, Katona E, Adany R, Muszbek L. Factor XIII Val34Leu variant protects against coronary artery disease. A meta-analysis. *ThrombHaemost* 2007;97: 458–463.
- 119 Wang G, Zou Z, Ma Z, Ji X, Ni Q. Factor XIII-A Val34Leu polymorphism might be associated with myocardial infarction risk: An updated meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7:5547–5552.

- 
- 120 [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101125926-101126925;v=rs1799768;vdb=variation;vf=1242001](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101125926-101126925;v=rs1799768;vdb=variation;vf=1242001) Pristupljeno 3. siječnja 2018.
- 121 Liang Z, Jiang W, Ouyang M, Yang K. PAI-1 4G/5G polymorphism and coronary artery disease risk: A meta-analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:2097–2107.
- 122 Zhang H, Dong P, Yang X, Liu Z. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism is associated with coronary artery disease risk: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7:3777–3788.
- 123 Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaiopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res.* 2008;122:736–742.
- 124 Supanc V, Sonicki Z, Vukasovic I, Solter V V, Zavoreo I, Kes VB. The Role of Classic Risk Factors and Prothrombotic Factor Gene Mutations in Ischemic Stroke Risk Development in Young and Middle-Aged Individuals. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2014;23:e171–176.
- 125 Babu MS, Prabha TS, Kaul S, Al-Hazzani A, Shafi G, Roy S, et al. Association of genetic variants of fibrinolytic system with stroke and stroke subtypes. *Gene.* 2012;495(1):76–80.
- 126 Attia J, Thakkestian A, Wang Y, Lincz L, Parsons M, Sturm J, et al. The PAI-1 4G/5G Gene Polymorphism and Ischemic Stroke: An Association Study and Meta-Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2007;16:173–179.
- 127 Barley J, Blackwood A, Carter ND. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism: association with ethnic origin. *J Hypertens* 1994;12:955-957.
- 128 Szolnoki Z, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L. Evaluation of the roles of the Leiden V mutation and ACE I/D polymorphism in subtypes of ischaemic stroke. *J Neurol.* 2001;248:756–761.
- 129 Atadzhanov M, Mwaba MH, Mukomena PN, Lakhi S, Rayaprolu S, Ross OA, et al. Association of the APOE, MTHFR and ACE genes polymorphisms and stroke in Zambian patients. *Neurol Int.* 2013;5:69–72.

- 
- 130 Mostafa MA, El-Nabiel LM, Fahmy NA, Aref H, Shreef E, Abd El-Tawab F, et al. ACE Gene in Egyptian Ischemic Stroke Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2016;25:2167–2171.
- 131 Prabhakar P, De T, Nagaraja D, Christopher R. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and small vessel cerebral stroke in Indian population. *Int J Vasc Med.* 2014;2014:1-4.
- 132 Zhao J, Qin X, Li S, Zeng Z. Association between the ACE I/D polymorphism and risk of ischemic stroke: An updated meta-analysis of 47,026 subjects from 105 case-control studies. *J Neurol Sci.* 2014;345:37–47.
- 133 Saracevic A, Simundic A-M, Celap I, Luzanic V. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism genotyping error: The cause and a possible solution to the problem. *Mol Biol Rep.* 2013;40:4459-4463.
- 134 Husain K, Hernandez W, Ansari RA, Ferder L. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis. *World J Biol Chem.* 2015;6:209–217.
- 135 Mogi M, Kawajiri M, Tsukuda K, Matsumoto S, Yamada T, Horiuchi M. Serum levels of renin-angiotensin system components in acute stroke patients. *Geriatr Gerontol Int.* 2014;14:793–798.
- 136 [https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:50652159-50653159;v=rs662779;vdb=variation;vf=467308#population\\_freq\\_EAS](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:50652159-50653159;v=rs662779;vdb=variation;vf=467308#population_freq_EAS) pristupljeno 3. siječnja 2018.
- 137 Merkel M, Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J Clin Invest.* 2005;115:2694–2696.
- 138 Kackov S, Simundic A-M, Nikolac N, Celap I, Dukic L, Ruzic D, et al. The effect of high-calorie meal consumption on oxidative stress and endothelial dysfunction in healthy male adults. *Physiol Res.* 2013;62: 643-652.
- 139 Sarwar N, Sandhu MS, Ricketts SL, Butterworth AS, Di Angelantonio E, Boekholdt SM, et al. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet.* 2010;375:1634–1639.

- 
- 140 Kisfali P, Mohás M, Maász a, Polgár N, Hadarits F, Markó L, et al. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010;20:505–511.
- 141 Talmud PJ, Cooper J a, Hattori H, Miller IP, Miller GJ, Humphries SE. The apolipoprotein A-V genotype and plasma apolipoprotein A-V and triglyceride levels: prospective risk of type 2 diabetes. Results from the Northwick Park Heart Study II. *Diabetologia.* 2006;49:2337–2340.
- 142 Celap I, Simundic A-M, Nikolac N, Kackov S, Katalinic D. Association of APOA5 - 1131T/C polymorphism and serum lipid levels in patients with type 2 diabetes. *DNA Cell Biol.* 2013;32:589-593.
- 143 Kathiresan S, Willer C, Peloso G, Demissie S. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet.* 2008;41:56–65.
- 144 Járomi L, Csöngéi V, Polgár N, Szolnoki Z, Maász A, Horvatovich K, et al. Functional Variants of Glucokinase Regulatory Protein and Apolipoprotein A5 Genes in Ischemic Stroke. *J Mol Neurosci.* 2010 May 22;41:121–128.
- 145 Havasi V, Szolnoki Z, Talián G, Bene J, Komlósi K, Maász A, et al. Apolipoprotein A5 gene promoter region T-1131C polymorphism associates with elevated circulating triglyceride levels and confers susceptibility for development of ischemic stroke. *J Mol Neurosci.* 2006;29(2):177–183.
- 146 Diakite B, Hamzi K, Hmimech W, Nadifi S, GMRAVC. Genetic polymorphisms of T-1131C APOA5 and ALOX5AP SG13S114 with the susceptibility of ischaemic stroke in Morocco. *J Genet.* 2016;95:303–309.
- 147 Can Demirdöğen B, Şahin E, Türkanoglu Özçelik A, Bek S, Demirkaya Ş, Adali O. Apolipoprotein A5 polymorphisms in Turkish population: Association with serum lipid profile and risk of ischemic stroke. *Mol Biol Rep.* 2012;39:10459–10468.
- 148 Čelap I, Nikolac Gabaj N, Demarin V, Bašić Kes V, Šimundić AM. Genetic and lifestyle predictors of ischemic stroke severity and outcome. *Neurol Sci.* 2019;40:2565-2572.

## 8 POKRATE

ACE	angiotenzin konvertirajući enzim
APCR	rezistencija na aktivirani protein C
<i>APOA1</i>	gen za apolipoprotein A1
<i>APOA4</i>	gen za apolipoprotein A4
<i>APOA5</i>	gen za apolipoprotein A5
<i>APOC3</i>	gen za apolipoprotein C3
BI	Barthelov indeks
CRP	C-reaktivni protein
DNA	deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
dNTP	deoksinukleotid trifosfat (engl. <i>deoxynucleotide triphosphate</i> )
<i>F13A1</i>	gen za A1 podjedinicu čimbenika 13
<i>F2</i>	gen za čimbenik 2
<i>F5 Leiden</i>	varijanta Leiden gena za čimbenik 5
<i>FGA</i>	gen za A podjedinicu fibrinogena
<i>FGB</i>	gen za B podjedinicu fibrinogena
<i>FGG</i>	gen za G podjedinicu fibrinogena
GPIIa/IIIb	glikoproteinski receptor IIa/IIIb
HDL	lipoprotein visoke gustoće
hsCRP	visokoosjetljivi C-reaktivni protein (engl. <i>high sensitivity C-reactive</i> )
ICAM-1	međustanična adhezijska molekula-1 (engl. <i>intercellular adhesion molecule -1</i> )
LACI	lakunarni infarkt
LAD	ateroskleroza velikih arterija (engl. <i>large artery disease</i> )
LD	neravnotežna povezanost (engl. <i>linkage disequilibrium</i> )
LDL	lipoprotein niske gustoće
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina (engl. <i>messenger ribonucleic acid</i> )
NIHSS	engl. <i>National Institutes of Health Stroke Scale</i>
NINDS	engl. <i>National Institute of Neurological Diseases and Stroke</i>
NVU	neurovaskularna jedinica (engl. <i>Neurovascular Unit</i> )
OCSP	engl. <i>Oxfordshire Community Stroke Project Classification</i>
PACI	parcijalni anteriorni cirkulacijski infarkt
PAI-1	inhibitor aktivatora plazminogena 1



PCR	lančana reakcija polimeraze (engl. <i>polymerase chain reaction</i> )
PECAM-1	trombocitno-endotelna adhezijska molekula-1 (engl. <i>platelet endothelial cell adhesion molecule -1</i> )
POCI	posteriorni cirkulacijski infarkt
RFLP	polimorfizma duljine restrikcijskih fragmenata (engl. <i>restriction fragment lenght polymorphism</i> )
RH	Republika Hrvatska
SAD	okluzija malih arterija (engl. <i>small artery disease</i> )
<i>SERPINE1</i>	gen za inhibitor serinske proteaze E1
SNP	polimorfizam jednog nukleotida (engl. <i>single nucleotide polypomorphism</i> )
TACI	totalni anteriorni cirkulacijski infarkt
TOAST	engl. <i>Trial of Org 10 172 in Acute Stroke Treatment</i>
tPA	tkivni aktivator plazminogena
uPA	urokinazni aktivator plazminogena
uPAR	receptor urokinaznog aktivatora plazminogena
VCAM-1	vaskularna adhezijska molekula-1 (engl. <i>vascular cellular adhesion molecule – 1</i> )
VLDL	lipoprotein vrlo niske gustoće
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organization</i> )

## 9 ŽIVOTOPIS

Ivana Čelap je rođena 1975. godine u Sisku. Po završetku srednjoškolskog obrazovanja u V. gimnaziji u Zagrebu upisuje Farmaceutsko-biokemijski fakultet, smjer medicinska biokemija. Tijekom studija, u sklopu CEEPUS programa, boravi na Farmaceutskom fakultetu Sveučilišta u Ljubljani gdje izrađuje diplomski rad u sklopu bilateralnog slovensko-hrvatskog projekta *Polimorfizam GALT i PON gena u zdravoj hrvatskoj i slovenskoj populaciji*.

Od 2006. godine zaposlena je u Kliničkom zavodu za kemiju KBC Sestre milosrdnice gdje radi i danas.

Poslijediplomski doktorski studij modul medicinska biokemija na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu upisuje 2008. godine.

Poslijediplomski specijalistički studij i specijalistički staž iz medicinske biokemije i laboratorijske medicine završava 2013. godine čime stječe naziv specijaliste medicinske biokemije i laboratorijske medicine.

Suradnica je na tekućem istraživačkom projektu Hrvatske zaklade za znanost *“Novi oralni antikoagulansi: povezanost koncentracije lijeka i antikoagulantnog učinka”* voditeljice dr. sc. Sandre Margetić.

Kao autor ili koautor objavila je 20 znanstvenih i stručnih radova, od čega je 18 citirano u bazi Current Contents, 5 poglavlja u priručnicima i 50 kongresnih priopćenja.

Ivana Čelap je dobitnica Rektorove nagrade za rad pod nazivom *“Ispitivanje mehanizma citotoksičnosti okratoksina A”*.

Unutar Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu djeluje kao predsjednica Podružnice Zagrebačke regije, zamjenica voditeljice Hrvatskog centra za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini i članica nekoliko radnih grupa Povjerenstva za znanstveno stručni razvoj.

Aktivni je član Hrvatske komore medicinskih biokemičara.

## Popis radova

### Radovi indeksirani u CC časopisima:

1. Kirin M, Chandra A, Charteris DG, Hayward C, Campbell S, **Celap I**, Bencic G, Vatavek Z, Richards A, Tenesa A, Snead M, Fleck BW, Singh J, Harsum S, MacLaren R, Ophoff R, den Hollander A, Dunlop M, Hoyng C, Wright AF, Campbell H, Vitart V, Mitry D. Genome-wide association study identifies genetic risk underlying primary rhegmatogenous retinal detachment. *Hum Mol Gen* 2013;22:3174-3185
2. Saracevic A, Simundic AM, **Celap I**, Luzanic V. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism genotyping error: the cause and a possible solution to the problem. *Mol Biol Rep* 2013;40:4459-4463
3. Kackov S, Simundic AM, Nikolac N, **Celap I**, Dukic L, Ruzic D, Bilusic M. The effect of high-calorie meal consumption on oxidative stress and endothelial dysfunction in healthy male adults. *Physiol Res* 2013;62:643-652
4. **Celap I**, Simundic AM, Nikolac N, Miler M, Zec I, Altabas K, Sefer S. Visfatin is Not Associated with Inflammatory Markers in Patients on Hemodialysis. *Clin Lab* 2013; 59:1253-1259.
5. **Celap I**, Simundic AM, Nikolac N, Kackov S, Katalinic D. Association of APOA5 -1131T>C polymorphism and serum lipid levels in patients with type 2 diabetes. *DNA Cell Biol* 2013;589-593
6. Culej J, Štefanović M, **Celap I**, Nikolac N, Karlović D. Serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) in Croatian population. *Mol Biol Rep* 2015;42:553-8
7. Nikolac N, **Celap I**, Filipi P, Hemar M, Kocijancic M, Miler M, Simundic AM, Supak Smolcic V, Vrtaric A. Croatian laboratories have a good knowledge of the proper management of hemolyzed, icteric and lipemic samples. *Clin Chem Lab Med* 2015;54:419-425.
8. Margetić S, **Celap I**, Dukić L, Vukasović I, Virović-Jukić L. Interference of M-protein on prothrombin time test. *Biochem Med* 2016;26:248-254.
9. Miler M, Nikolac N, Segulja D, Kackov Maslac S, **Celap I**, Altabas K, Sefer S, Simundic AM. Is peritoneal dialysis causing a measurable burden of inflammatory and endothelial injury on top of metabolic syndrome? *J Endocrinol Invest* 2016;40:163-168
10. Kust D, Lucijanić M, Urch K, Šamija I, **Celap I**, Kruljac I, Prpić M, Lucijanić I, Mateša N, Bolanča A. Clinical and prognostic significance of anisocytosis measured as a red cell distribution width in patients with colorectal cancer. *QJM* 2017;110:361-367
11. Lenicek Krleža J, **Celap I**, Vlastic Tanaskovic J. External Quality Assessment in Croatia: problems, challenges, and specific circumstances. *Biochem Med* 2017;27:86-92.
12. **Celap I**, Vukasović I, Juričić G, Šimundić AM. Minimum requirements for the estimation of measurement uncertainty: Recommendations of the joint Working group for uncertainty of measurement of the CSMBLM and CCMB. *Biochem Med* 2017;27:467-476.
13. Nikolac N, Miler M, Vrtaric A, Hemar M, Filipi P, Supak Smolcic V, **Celap I**, Simundic AM. Precision, accuracy, cross reactivity and comparability of serum indices measurement on Abbott Architect c8000, Beckman Coulter AU5800 and Roche Cobas 6000 c501 clinical chemistry analyzers. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:776-788
14. Pavlov M, Nikolić-Heitzler V, Babić Z, Milosevic M, Kordic K, **Celap I**, Degoricija V. Plasminogen activator inhibitor-1 activity and long-term outcome in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: a prospective cohort study. *Croat Med J* 2018;59:108-117.
15. Pavlov M, **Celap I**. Plasminogen activator inhibitor 1 in acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta* 2019;491:52-58.
16. **Celap I**, Nikolac Gabaj N, Demarin V, Bašić Kes V, Šimundić AM. Genetic and life-style predictors of ischemic stroke severity and outcome. *Neurol Sci* 2019. 2565-2572.
17. Pavičić T, **Celap I**, Njegovan M, Tešija Kuna A, Štefanović M. Alpha-1-antitrypsin genotype-phenotype discrepancy in null allele carrier: case report. *Lab Med* 2019. DOI 10.1093/labmed/lmz059

18. Margetić S, **Ćelap I**, Delić Brkljačić D, Pavlović N, Šupraha Goreta S, Kobasić I, Lovrenčić-Huzjan A, Bašić Kes V. Chromogenic anti-factor Xa assay calibrated with low molecular weight heparin in patients treated with rivaroxaban and apixaban: possibilities and limitations. *Biochem Med* 2020;30:010702

*Radovi u ostalim časopisima:*

1. Nikolac N, Supak Smolcic V, Simundic AM, **Ćelap I**. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med* 2013;23:242-254.
2. Butorac D, **Ćelap I**, Kačkov S, Robić V, Miletić T, Flegar Meštrić Z, Hulina A, Kuna K, Žanić Grubišić T, Grdić Rajković M. Paraoxonase 1 activity and phenotype distribution in premenopausal and postmenopausal women. *Biochem Med* 2014;24:273-280.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Doktorski rad

### UČESTALOST I ZNAČAJ GENSKIH POLIMORFIZAMA ČIMBENIKA VASKULARNE HOMEOSTAZE I METABOLIZMA LIPIDA U BOLESNIKA S ISHEMIJSKIM MOŽDANIM UDAROM

Ivana Čelap

#### SAŽETAK

Ishemijski moždani udar je multifaktorijalna bolest koja se razvija međudjelovanjem genske osnove i okolišnih čimbenika rizika. U nastanak i razvoj moždanog udara uključeni su sustavi zgrušavanja i fibrinolize, upalnog odgovora, metabolizma lipida, regulacije krvnog pritiska. Do sada je znanstvenoj literaturi opisano više desetaka potencijalnih genskih čimbenika rizika za nastanak moždanog udara, ali je njihova pojedinačna povezanost s moždanim udarom slaba.

Ciljevi ovog istraživanja bili su ispitati: učestalost varijanti *F5 Leiden*, *G20210A* gena *F2*, *V34L* gena *F13A1*, *-445G/A* gena *FGB*, *5G/4G* gena *SERPINE1*, *I/D* gena *ACE* i *-1131T/C* gena *APOA5* u zdravih ispitanika i ispitanika s ishemijskim moždanim udarom; razliku u koncentraciji lipidnih parametara (ukupni kolesterol, HDL- i LDL-kolesterol i trigliceridi) i parametara upale (CRP i broj leukocita); povezanost genskih čimbenika, lipidnih parametara i parametara upale s nastankom moždanog udara.

U istraživanje je uključeno 250 ispitanika kojima je dijagnosticiran ishemijski moždani udar na osnovu kliničkog pregleda i kompjuterizirane tomografije i 100 zdravih ispitanika regrutiranih tijekom sistematskog pregleda bez podatka o cerebrovaskularnom i/ili kardiovaskularnom incidentu u osobnoj anamnezi. Svim ispitanicima su natašte uzeti uzorci krvi za genotipizaciju i određivanje lipidnog statusa, CRP-a i broja leukocita.

Rezultati su pokazali da ispitanici s moždanim udarom imaju značajno niže koncentracije ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola i značajno više koncentracije glukoze i CRP-a te značajno veći broj leukocita u odnosu na kontrolne ispitanike. Varijanta *I/D* gena *ACE* povezana je s težinom moždanog udara, a varijanta *-1131 T/C* gena *APOA5* je uz dob i pretilost neovisan čimbenik nastanka teškog ishemijskog moždanog udara. Nije pronađena razlika u učestalosti ispitivanih genskih čimbenika između ispitanika s moždanim udarom i kontrolnih ispitanika.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Rad sadrži: 114 stranica, 41 sliku, 29 tablica i 148 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: ishemijski moždani udar, genski čimbenici, lipidi, upala

Mentor: dr. sc. Ana-Maria Šimundić, izv. prof.

Ocjenjivači: prof. dr.sc. Karmela Barišić  
prof. dr. sc. Renata Zadro  
akademkinja Vida Demarin

Rad prihvaćen: xx

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral thesis

### **THE PREVALENCE AND SIGNIFICANCE OF GENETIC POLYMORPHISMS OF VASCULAR HOMEOSTASIS AND LIPID METABOLISM IN ACUTE ISCHEMIC STROKE**

Ivana Čelap

#### SUMMARY

Stroke is a multifactorial disease developing through the complex interaction of both genetic and environmental risk factors. Initiation and progression of stroke involves disorders in coagulation cascade, fibrinolytic system, inflammatory response, lipid metabolism and blood pressure homeostasis. Until today a large number of potential genetic risk markers have been studied but their individual association with stroke is weak.

We aimed to investigate: the prevalence of *F5 Leiden*, *F2 G20210A*, *F13A1 V34L*, *FGB -455G/A*, *SERPINE1 5G/4G*, *ACE I/D* and *APOA5 -1131T/C* variants in healthy subjects and subjects with acute ischemic stroke; differences in blood lipid concentrations (total, HDL- and LDL-cholesterol and triglycerides) and inflammatory markers (CRP and white blood cell count); association of genetic variations, blood lipids and inflammatory markers with the ischemic stroke risk.

The study included 250 subjects with acute ischemic stroke which was diagnosed by clinical examination and computerized tomography and 100 healthy subjects without known cerebrovascular and/or cardiovascular incidents in anamnesis recruited during general medical examination. Blood samples for genotyping and determination of blood lipids, CRP and WBC count were drawn to all subjects in fasting state.

Results have shown that subjects with acute ischemic stroke have significantly lower concentrations of total and LDL-cholesterol whereas concentrations of glucose, CRP and WBC are significantly higher than in control subjects. *ACE* variant I/D has shown association with the stroke severity. *APOA5* variant -1131T/C along with age and obesity is independent predictor of severe stroke. There are no differences in the frequencies of the investigated genetic variants between studied groups of subjects.

The thesis is deposited in the Central Library of Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 114 pages, 41 figures, 29 tables and 148 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Acute ischemic stroke, genetic variants, blood lipids, inflammatory markers

Menthor: Ana-Maria Šimundić, Ph. D., Associate Professor

Reviewers: Karmela Barišić, PhD, Full Professor  
Renata Zadro, PhD, Full Professor  
Vida Demarin, Fellow of the Croatian Academy of Sciences and Arts

The thesis accepted: XXX