

# Polimorfizam gena za apolipoprotein A5 i jetrenu lipazu i biljezi oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije

---

Kačkov, Sanja

Doctoral thesis / Disertacija

2014

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:163:162976>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

SANJA KAČKOV

**POLIMORFIZAM GENA ZA APOLIPOPROTEIN A5  
I JETRENU LIPAZU I BILJEZI OKSIDACIJSKOG  
STRESA I ENDOTELNE DISFUNKCIJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2014.



University of Zagreb  
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

SANJA KAČKOV

**POLYMORPHISMS OF THE APOLIPOPROTEIN  
A5 AND HEPATIC LIPASE GENES AND  
MARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND  
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2014.



Sveučilište u Zagrebu  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

SANJA KAČKOV

**POLIMORFIZAM GENA ZA APOLIPOPROTEIN A5  
I JETRENU LIPAZU I BILJEZI OKSIDACIJSKOG  
STRESA I ENDOTELNE DISFUNKCIJE**

DOKTORSKI RAD

Mentorica:  
Izv. prof. dr. sc. Ana-Maria Šimundić

Zagreb, 2014.



University of Zagreb  
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

SANJA KAČKOV

**POLYMORPHISMS OF THE APOLIPOPROTEIN  
A5 AND HEPATIC LIPASE GENES AND  
MARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND  
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:  
Assoc. Prof. Ana-Maria Šimundić, Ph.D.

Zagreb, 2014.

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

Rad je izrađen u Poliklinici Bonifarm i u Kliničkom zavodu za kemiju Kliničkog bolničkog centra "Sestre milosrdnice" u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ana-Marie Šimundić.

## ZAHVALA

Kada je došao trenutak da u nekoliko rečenica zahvalim svima koji su u protekle četiri godine u mom životu ostavili trag, shvatila sam da to ne bih bila ja, kada bih to učinila samo s nekoliko službenih riječi. Ovo istraživanje je prije svega bio jedan put, obilježen mnogim dobrim ljudima koji zaslužuju puno više od riječi zahvale. Period u kojem sam stekla neprocjenjivo profesionalno iskustvo i vrijedna prijateljstva.

Nema tih riječi kojima mogu opisati zahvalnost koju osjećam prema mojoj mentorici i prijateljici prof. dr. sc. Ana-Marii Šimundić. Moj uzor u struci i pravednosti. Znanje i mudrost koje mi strpljivo i nesebično prenosi uz veliko povjerenje i podršku od prvog dana naše suradnje su neprocjenjivi. Sve su ovo razlozi zbog kojih težim napredovati i raditi kako bih postala dostojna i na ponos mojoj učiteljici.

Neizmjernu zahvalnost dugujem svom šefu dr. Marinku Bilušiću što je usmjerio moje prve znanstvene korake te na potpori i financijskoj podršci u izradi ovog rada.

Zahvaljujem kolegicama Marijani Miler, Ivani Čelap, Nori Nikolac, Lori Dukić i Jeleni Culej iz Kliničkog zavoda za kemiju KBC "Sestre milosrdnice" na pomoći prilikom izrade eksperimentalnog dijela rada.

Hvala svim ispitanicima na dobroj volji i sudjelovanju u ovom istraživanju, a posebno don Zdenku Periji na motivaciji svakog od njih.

Hvala mojoj dragoj kolegici Ivi Batković iz Medicinsko-biokemijskog laboratorija Poliklinike Bonifarm na pomoći prilikom sakupljanja uzoraka i izrade eksperimentalnog dijela rada.

Hvala mojim dragim prijateljima koji su vjerovali u moj uspjeh, posebno Mariji Grdić Rajković, Zdravki Krndelj, Dajani i Kreši Pavlović.

Hvala Anti. Onima koji ga poznaju, znaju što znače ove dvije riječi. A meni je neizmjereno značila njegova podrška.

I na kraju, HVALA mojoj obitelji koja je najzaslužnija. Vjerojatno ne razumiju previše od onoga što je napisano, ali bez njihove bezuvjetne ljubavi i razumijevanja, beskrajnog strpljenja i svakodnevnih odricanja, ovaj put bi bio nezamisliv.

*Rad posvećujem mojoj majci Tanji*

*.. njezina ljubav je nepresušan izvor snage s kojom mogu osvojiti svijet!*



# SADRŽAJ

<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 HIPERTRIGLICERIDEMIJA .....	1
1.1.1 <i>Hipertrigliceridemija natašte</i> .....	1
1.1.2 <i>Postprandijalna hipertrigliceridemija</i> .....	2
1.2 OKSIDACIJSKI STRES .....	3
1.3 C-REAKTIVNI PROTEIN .....	7
1.4 ENDOTELNA DISFUNKCIJA .....	8
1.5 GENETSKA PREDISPOZICIJA POSTPRANDIJALNOG ODGOVORA .....	11
1.5.1 <i>Apolipoprotein A5</i> .....	12
1.5.2 <i>Jetrena lipaza</i> .....	15
<b>2 RADNA HIPOTEZA .....</b>	<b>19</b>
<b>3 CILJ RADA .....</b>	<b>21</b>
<b>4 MATERIJALI I METODE .....</b>	<b>22</b>
4.1 ISPITANICI .....	22
4.2 UZORCI .....	23
4.3 MJERENJA I ANAMNEZA .....	25
4.4 METODE .....	25
4.4.1 <i>Određivanje koncentracije biokemijskih parametara</i> .....	25
4.4.2 <i>Određivanje koncentracije TAS-a</i> .....	26
4.4.3 <i>Određivanje koncentracije hsCRP-a</i> .....	27
4.4.4 <i>Određivanje koncentracije ICAM-1</i> .....	27
4.5 IZOLACIJA DNA .....	28
4.6 ODREĐIVANJE POLIMORFIZMA -1131T/C U GENU ZA APOA5 .....	28
4.6.1 <i>Lančana reakcija polimerazom</i> .....	28
4.6.2 <i>Provjera PCR produkta</i> .....	30
4.6.3 <i>Polimorfizam duljine restrikcijskih odsječaka</i> .....	30
4.7 ODREĐIVANJE POLIMORFIZMA -250G/A U GENU ZA JETRENU LIPAZU .....	32
4.7.1 <i>RT-PCR</i> .....	33
4.7.2 <i>Analiza krivulje taljenja</i> .....	34
4.8 STATISTIČKA ANALIZA .....	35
<b>5 REZULTATI .....</b>	<b>37</b>

5.1	ISPITANICI .....	37
5.2	KONCENTRACIJE BIOKEMIJSKIH PARAMETARA, TAS-A, hsCRP-A I ICAM-1 .....	39
5.2.1	<i>Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte prema referentnim i preporučenim vrijednostima.....</i>	<i>39</i>
5.2.2	<i>Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno .....</i>	<i>41</i>
5.2.3	<i>Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema preporučenoj vrijednosti triglicerida .....</i>	<i>46</i>
5.2.4	<i>Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema ITM .....</i>	<i>48</i>
5.2.5	<i>Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema pušačkom statusu.....</i>	<i>50</i>
5.2.6	<i>Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema obiteljskoj anamnezi .....</i>	<i>52</i>
5.3	ANALIZA GENA.....	57
5.3.1	<i>Gen za APOA5 .....</i>	<i>57</i>
5.3.2	<i>Gen za jetrenu lipazu.....</i>	<i>60</i>
5.3.3	<i>Kombinacije frekvencija polimorfizama .....</i>	<i>61</i>
5.4	POVEZANOST GENOTIPA I FENOTIPA .....	62
5.4.1	<i>Povezanost genotipa APOA5 i biokemijskih parametara .....</i>	<i>62</i>
5.4.2	<i>Povezanost genotipa APOA5 i TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1.....</i>	<i>68</i>
5.4.3	<i>Povezanost genotipa jetrene lipaze i biokemijskih parametara.....</i>	<i>71</i>
5.4.4	<i>Povezanost genotipa jetrene lipaze i TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 .....</i>	<i>77</i>
<b>6</b>	<b>RASPRAVA.....</b>	<b>81</b>
<b>7</b>	<b>ZAKLJUČCI .....</b>	<b>93</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>94</b>
<b>9</b>	<b>POPIS KRATICA .....</b>	<b>106</b>
<b>10</b>	<b>SAŽETAK.....</b>	<b>108</b>
<b>11</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>110</b>
<b>12</b>	<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>112</b>
	<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA .....</b>	<b>115</b>
	<b>BASIC DOCUMENTATION CARD .....</b>	<b>116</b>

# 1 UVOD

## 1.1 Hipertrigliceridemija

Koncentracija triglicerida je jedan od lipidnih parametara koji može biti od pomoći u predviđanju rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti.

Trigliceridi su esteri trovalentnog alkohola glicerola i tri masne kiseline. Nakon obroka više od 90% cirkulirajućih triglicerida potječe iz crijeva i nalazi se u obliku hilomikrona, dok se tijekom gladovanja većina triglicerida stvara endogeno u jetri i nalazi u cirkulaciji u obliku čestica lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL, engl. *very low-density lipoprotein*) (1). Metabolizam triglicerida posredovan je lipoprotein lipazom i jetrenom lipazom. Oba enzima imaju strukturne i funkcionalne sličnosti te hidroliziraju trigliceride do monoacilglicerola i slobodnih masnih kiselina. Trigliceridi se kontinuirano uklanjaju iz cirkulacije 6 do 8 sati nakon unosa masnog obroka. Povećana koncentracija triglicerida u serumu je posljedica povećane apsorpcije masti u crijevu, povećane sekrecije VLDL-a iz jetre ili usporenog uklanjanja triglicerida iz cirkulacije (1,2,3).

Smjernice *National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP) III* klasificirale su hipertrigliceridemiju kao umjerenu (1,70 - 2,25 mmol/L), visoku (2,26 - 5,64 mmol/L) i vrlo visoku (> 5,64 mmol/L) (4).

### 1.1.1 Hipertrigliceridemija natašte

Povećana koncentracija triglicerida može biti prisutna kod osoba s rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti kada je ukupni kolesterol normalan. Međutim, nemaju sve osobe s povećanom koncentracijom triglicerida povećan rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti. Čimbenici kao što su prehrana, dob, način života te niz patoloških stanja (šećerna bolest, kolestatska žutica, nefroza, hipofunkcija štitnjače), terapija lijekovima i metabolički poremećaji mogu utjecati na koncentraciju triglicerida u serumu.

U nekim od ovih okolnosti, drugi čimbenici štite od rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti na taj način da umanjuju ili poništavaju učinak prisutnih rizičnih čimbenika. Iako se smanjenje koncentracije triglicerida u serumu postignuto terapijom povezuje s poboljšanim kliničkim ishodom, nije poznato je li posrijedi neovisni učinak smanjene koncentracije triglicerida u serumu ili učinak normalizacije ukupnog lipidnog profila kod

hipertrigliceridemičnih bolesnika. Također, nije poznato u kojoj mjeri smanjenje koncentracije triglicerida do preporučenih vrijednosti utječe na kliničke pokazatelje te koliki je klinički značaj preporučenih vrijednosti definiranih od strane NCEP-a (5).

Pretpostavlja se da uloga triglicerida u patogenezi kardiovaskularnih bolesti uključuje nekoliko izravnih i neizravnih mehanizama poput utjecaja na metabolizam drugih lipoproteina, transportnih proteina, enzima, na koagulaciju i na endotelnu disfunkciju (6). Trigliceridima bogate VLDL čestice aktiviraju signalizaciju nuklearnog čimbenika kappa B (NF- $\kappa$ B, engl. *nuclear factor kappa B*) koji ima ključnu ulogu u aktivaciji brojnih proupalnih gena što dovodi do oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije (7).

Daljnja istraživanja bi trebala u potpunosti razjasniti ulogu triglicerida, načine na koje mogu utjecati na druge čimbenike rizika i mehanizam kojim trigliceridi imaju izravnu ulogu u procesu aterogeneze.

### **1.1.2 Postprandijalna hipertrigliceridemija**

Postprandijalna hipertrigliceridemija je stanje povećane koncentracije triglicerida koje se javlja nakon konzumiranja kaloričnog masnog obroka u postapsorpcijskoj fazi. Konzumacija kaloričnog obroka odnosno apsorpcija hrane je složen fenomen (8,9). Zilversmit je još 1979. godine predstavio koncept aterogeneze kao postprandijalnog fenomena (10). Akumulacija lipoproteina bogatih trigliceridima u postprandijalnom stanju ima za posljedicu hiperlipidemično stanje koje također doprinosi vaskularnoj ozljedi i razvoju ateroskleroze. Također, u kontinuiranom postprandijalnom stanju koncentracija ostatnih hilomikrona u cirkulaciji može ostati povećana neodređeno vrijeme. Zbog toga se postprandijalna hipertrigliceridemija smatra neovisnim rizičnim čimbenikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti kod zdravih osoba (10,11,12).

Prve Europske smjernice za liječenje dislipidemije koje su 2011. godine objavili Europsko kardiološko društvo i Europsko društvo za aterosklerozu veliku pozornost, osim hiperkolesterolemiji, posvećuju povećanoj koncentraciji triglicerida u serumu i smanjenoj koncentraciji lipoproteina velike gustoće (HDL, engl. *high-density lipoprotein*) u serumu kao značajnim čimbenicima rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti (6,7). Prema tim smjernicama, koncentraciju triglicerida preporučeno je određivati u serumu natašte i to najmanje 12 sati nakon zadnjeg obroka (13). Europske smjernice o prevenciji kardiovaskularnih bolesti objavljenje 2007. godine također preporučuju određivanje

koncentracije triglicerida u serumu natašte, budući da ne postoje referentne vrijednosti za postprandijalni uzorak koje bi jamčile usporedivost podataka o koncentraciji triglicerida u serumu (14).

Međutim, kako ljudi veći dio života provode u postprandijalnom stanju, u novije vrijeme se smatra kako bi koncentracija triglicerida određena u serumu postprandijalno bila bolji pokazatelj rizika za kardiovaskularne bolesti od koncentracije triglicerida određene u serumu natašte (15,16,17,18,19).

Nije u potpunosti razjašnjeno treba li koncentraciju triglicerida u serumu određivati natašte ili se s jednakom pouzdanošću predviđanja koronarne bolesti koncentracija triglicerida u serumu može određivati postprandijalno.

## 1.2 Oksidacijski stres

Slobodni radikali su čestice (atomi, ioni, molekule) s nesparenim elektronom pa su vrlo nestabilne i nastoje postići ravnotežno stanje te reagiraju s elektronom najbliže molekule. Razlikujemo reaktivne kisikove spojeve (ROS, engl. *reactive oxygen species*) (Tablica 1) i reaktivne dušikove spojeve (RNS, engl. *reactive nitrogen species*) (Tablica 2).

**Tablica 1. Reaktivni kisikovi spojevi.**

Slobodni radikali	Spojevi koji nisu slobodni radikali
Superoksid, $O_2^{\cdot -}$	Vodikov peroksid, $H_2O_2$
Hidroksilni radikal, $OH^{\cdot}$	Hipokloritna kiselina, $HClO$
Peroksilni radikal, $ROO^{\cdot}$	Ozon, $O_3$
Alkoksilni radikal, $RO^{\cdot}$	Singletni kisik, $^1O_2$
Hidroperoksilni radikal, $HO_2^{\cdot}$	

**Tablica 2. Reaktivni dušikovi spojevi.**

Slobodni radikali	Spojevi koji nisu slobodni radikali
Dušikov (II) oksid, NO <sup>·</sup>	Nitrozil, NO <sup>+</sup>
Dušikov (IV) oksid, NO <sub>2</sub> <sup>·</sup>	Nitritna kiselina, HNO <sub>2</sub>
	Peroksinitrit, ONOO <sup>-</sup>
	Alkilperoksinitrit, ROONO

Slobodni radikali nastaju pri oksidacijskim procesima u stanici kao što su redukcija molekularnog kisika u superoksidni radikal, neenzimski sustavi prijenosa elektrona, reakcije autooksidacije, stvaranje slobodnih radikala u mitohondrijskom sustavu prijenosa elektrona, aktivacija neutrofilnih granulocita i dr. Slobodni radikali mogu biti nužni čimbenici patofizioloških procesa kao što je aktivacija neutrofilnih granulocita gdje se slobodni radikali ciljano stvaraju ili neželjena posljedica fizioloških reakcija kao što je stvaranje slobodnih radikala u mitohondriju tijekom procesa oksidacijske fosforilacije. Izvori slobodnih radikala mogu biti i vanjski kao što su ionizirajuće zračenje koje uzrokuje cijepanje molekule vode, fotoliza kemijske veze te slobodni radikali iz cigaretnog dima (20).

Male količine slobodnih radikala neophodne su u biokemijskim procesima unutarstanične signalizacije, diferencijaciji, progresiji i apoptozi stanica te obrani od mikroorganizama.

Antioksidansi su spojevi koji odgađaju ili sprječavaju oksidaciju tvari, a prisutni su u organizmu u maloj koncentraciji u odnosu na spoj koji se oksidira. Djeluju u međusobnoj suradnji poput kaskade. Prema mjestu djelovanja razlikujemo prirodne antioksidanse u plazmi, membrani i međustaničnom prostoru te unutar stanica (Tablica 3). Prema mjestu nastajanja antioksidansi mogu biti endogeni i egzogeni. Razlikujemo antioksidanse topljive u vodi i topljive u lipidima. Antioksidansi se dijele i prema načinu djelovanja na *preventivne* koji sprječavaju nastajanje radikala, na *čistače* (engl. *scavenger*) koji čiste radikale inhibicijom inicijacije ili prekidanjem propagacije lančane reakcije te na *enzime popravka* koji popravljaju oštećenja nastala djelovanjem slobodnih radikala (20,21,22).

Velike količine i/ili nedovoljno uklanjanje slobodnih radikala rezultira oksidacijskim stresom koji može uzrokovati teške metaboličke poremećaje, jer dolazi do oštećenja bioloških makromolekula (proteini, lipidi, DNA) i staničnih struktura (21,23).

Postprandijalni oksidacijski stres nastaje zbog konzumacije obroka koji sadrži oksidirane lipide pa se u organizmu povećava koncentracija lipidnih hidroperoksida ili zbog konzumiranja obroka bogatog lipidima i/ili ugljikohidratima koji mijenjaju redoks ravnotežu u organizmu ili su ciljne molekule za djelovanje slobodnih radikala (8).

Superoksid i dušikov oksid zajedno stvaraju peroksinitrit, snažan i dugovječan oksidans koji je citotoksičan, potiče lipidnu peroksidaciju i nitraciju aminokiselina, posebno tirozina, pri čemu nastaje produkt koji utječe na mnoge signalne puteve. Povećana koncentracija nitrotirozina u plazmi prisutna je pri postprandijalnoj hipertrigliceridemiji (9).

Čestice lipoproteina niske gustoće (LDL, engl. *low-density lipoprotein*) su heterogena skupina čestica. LDL čestice s gustoćom većom od  $1,037 \text{ g/cm}^3$  su male, guste LDL čestice. Postoji povezanost između stvaranja velikih, trigliceridima bogatih VLDL čestica (VLDL1) koje se stvaraju u jetri u stanjima hipertrigliceridemije i nastanka malih LDL čestica. VLDL1 čestice se djelovanjem lipoprotein lipaze pregrađuju izravno u male, guste LDL čestice, za razliku od malih VLDL2 čestica koje se pregrađuju do velikih LDL čestica (1,24,25).

**Tablica 3. Biološki važni antioksidansi.**

<b>Izvanstanični</b>	<b>Membranski</b>
Transferin	$\alpha$ -tokoferol (vitamin E)
Laktoferin	$\beta$ -karoten
Haptoglobini	koenzim Q
Hemopeksin	
Albumin	<b>Stanični</b>
Ceruloplazmin	Superoksid-dismutaze (Zn, Cu, Mn)*
Izvanstanična superoksid-dismutaza	Katalaza
Izvanstanična glutation-peroksidaza	Glutation-peroksidaza
Urati	
Bilirubin	
Glukoza	
Askorbinska kiselina (vitamin C)	

\* Kemijski elementi u zagradi označavaju metale u aktivnom središtu enzima.

Male LDL čestice zbog relativno malog promjera lakše ulaze u subendotelni prostor krvnih žila gdje podliježu reakcijama lipidne peroksidacije, jer je u subendotelu prisutna mala koncentracija antioksidansa. Lipidna peroksidacija je lančana reakcija slobodnih radikala koja rezultira stvaranjem lipidnog radikala, peroksilnog radikala i lipidnog hidroperoksida te dovodi do razgradnje lipida. Oksidirane LDL čestice imaju drugačija svojstva od LDL čestica, kemotaktične su za monocite, ne vežu se na LDL-receptor, već se uklanjaju pomoću receptora čistača na makrofagima, u makrofagima se ne metaboliziraju, već se nakupljaju i uzrokuju nastanak pjenastih makrofaga i plaka u endotelu krvne žile (26,27,28).

Lančana reakcija lipidne peroksidacije može biti prekinuta antioksidansima. Konzumacija kaloričnog masnog obroka zajedno s povrćem koje sadrži prirodne antioksidanse u velikoj mjeri sprječava negativan učinak postprandijalne hipertrigliceridemije na oksidacijski stres pa se za prevenciju i liječenje kroničnih bolesti uključujući koronarnu bolest predlaže nadomjesna terapija s vitaminima i antioksidansima (12,29,30).

Direktno određivanje slobodnih radikala nije rutinska metoda, jer slobodni radikali imaju kratak poluvijek života i prisutni su u vrlo malim koncentracijama (31). Slobodni radikali rutinski se određuju indirektnim metodama u kojima se određuju produkti djelovanja slobodnih radikala na biomolekule (malondialdehid, fosfolipidni peroksidi, antitijela na oksidirane LDL čestice, 8-hidroksigvanin), katalitička koncentracija enzima koji stvaraju slobodne radikale (mijeloperoksidaza), koncentracija pojedinih antioksidansa (superoksid-dismutaza, katalaza, vitamin A i C) ili ukupni antioksidacijski status (TAS, engl. *total antioxidant status*).

TAS je test kojim se mjeri ukupna koncentracija svih antioksidansa u cirkulaciji. Mjerenjem ukupnog antioksidacijskog statusa moguće je steći uvid u ukupnu antioksidacijsku zaštitu te procijeniti je li prisutno ravnotežno stanje ili je ravnoteža pomaknuta zbog pojačanog stvaranja reaktivnih spojeva ili zbog pojačanog stvaranja antioksidansa. Ova jednostavna, stabilna, pouzdana, osjetljiva, a potpuno automatizirana metoda može se koristiti kako bi se izmjerio ukupni antioksidacijski kapacitet (32).

Oksidacijski stres je usko povezan s razvojem i nastankom ateroskleroze i bolestima s aterosklerozom u podlozi, kao što su moždani udar i koronarna bolest. Mnogi su autori pokazali da vrijednosti TAS-a koreliraju s koncentracijom urata te da su povezane s aterosklerozom i koronarnom bolesti (33,34,35). No, ostaje nedovoljno jasno je li oksidacijski stres uzročni čimbenik ili posljedica niza zbivanja koja dovode do razvoja i progresije ateroskleroze. Daljnja istraživanja uloge TAS-a svakako će doprinijeti boljem razumijevanju



njegovog značaja, kao biljega ukupnog antioksidacijskog statusa u procjeni učinka postprandijalne hipertrigliceridemije.

### 1.3 C-reaktivni protein

C-reaktivni protein (CRP, engl. *C-reactive protein*) je reaktant akutne faze upale. CRP je neglikozilirani član obitelji pentraksina. Sastoji se od pet identičnih nekovalentno povezanih polipeptidnih podjedinica koje čine pentamernu strukturu. Gen za CRP se nalazi na kromosomu 1. CRP se primarno sintetizira u jetri, a njegovo otpuštanje u cirkulaciju je potaknuto interleukinom 6 i drugim proinflamatornim citokinima. CRP sudjeluje u upalnom procesu vezanjem za fosfokolin koji je izražen na površini odumrlih stanica oštećenih infekcijom, upalom ili traumom, vezanjem za sastavnice stanične jezgre kao što su kromatin, histoni i mali ribonukleoproteini te vezanjem za bjelančevine vezivnog tkiva kao što je fibronektin. Na taj način se aktivira sustav komplementa i sinteza molekula posrednika upalne reakcije. CRP djeluje i na fagocite, veže se za polimorfonukleare, makrofage i monocite potičući kemotaksiju, fagocitozu i nastanak superoksida te sintezu citokina u njima. Koncentracija CRP-a u serumu se tijekom upale ili ozljede tkiva povećava i do 1000 puta (36).

Upalni procesi imaju značajnu ulogu u patogenezi ateroskleroze i kliničkim manifestacijama aterosklerotskih bolesti. Upala je važna u procesu koji ateroskleroznu nakupinu čini nepostojanom što za posljedicu ima pojavu akutnog koronarnog sindroma. Koncentracija CRP-a je značajno povećana u aterotrombotskom plaku krvne žile. Zbog toga je koncentracija CRP-a u serumu neovisni pokazatelj rizika za aterosklerotične promjene krvnih žila (37,38,39).

Kronična upala u stijenci krvne žile nije sistemska i koncentracija CRP-a u serumu je unutar referentnih vrijednosti te nije klasičan biljeg akutne upale.

Kako je koncentracija CRP-a u serumu kod određivanja rizika obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti znatno niža nego u standardnoj dijagnostici, razvijene su osjetljivije metode za određivanje koncentracije visoko osjetljivog CRP-a u serumu (hsCRP, engl. *high sensitivity CRP*) (40,41).

Smjernice i preporuke u kliničkoj praksi za određivanje hsCRP-a u serumu su u siječnju 2003. godine objavili Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC, engl. *Centers for Disease Control and Prevention*) i Američko udruženje za bolesti srca (AHA, engl. *American Heart*

*Association*) (42). Preporučene vrijednosti koncentracije hsCRP-a u serumu za procjenu rizika od kardiovaskularnih bolesti svrstane su u kategorije prema relativnom riziku: nizak rizik (< 1,0 mg/L), srednji rizik (1,0 - 3,0 mg/L) i visoki rizik (> 3,0 mg/L).

## 1.4 Endotelna disfunkcija

Endotel je tanki sloj stanica koje prekrivaju lumen krvnih žila. Stanice endotela izlučuju razne tvari s vazodilatacijskim i vazokonstriktorskim djelovanjem. Endotelni čimbenici koji djeluju vazokonstriktorski su angiotenzin II, endotelin-1 (ET-1, engl. *endothelin-1*), faktor aktivacije trombocita (PAF, engl. *platelet activating factor*) te endotelni kontraktilni čimbenici ovisni o ciklooksigenazi (EDCFs, engl. *endothelium-derived cyclooxygenase-dependent contracting factors*): tromboksan A<sub>2</sub>, superoksid anion i prostaglandin H<sub>2</sub>. Osim izravnog vazokonstriktornog učinka, ET-1 povećava žilne učinke drugih vazoaktivnih peptida, poput angiotenzina II, norepinefrina i serotonina te sudjeluje u leukocitnoj i trombocitnoj aktivaciji. Endotelni čimbenici koji djeluju vazodilatacijski su dušikov oksid (NO, engl. *nitric oxide*), prostaciklini i endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (EDHF, engl. *endothelium derived hyperpolarizing factor*). NO je odgovoran za sprječavanje adhezije leukocita za endotel, proliferacije glatkih mišićnih stanica i agregacije trombocita. Endotelne stanice na taj način reguliraju vaskularni tonus, vaskularnu permeabilnost, stanični rast i trombogenezu. Uloga endotela je zaštita krvne žile od mehaničkih i kemijskih oštećenja (43,44).

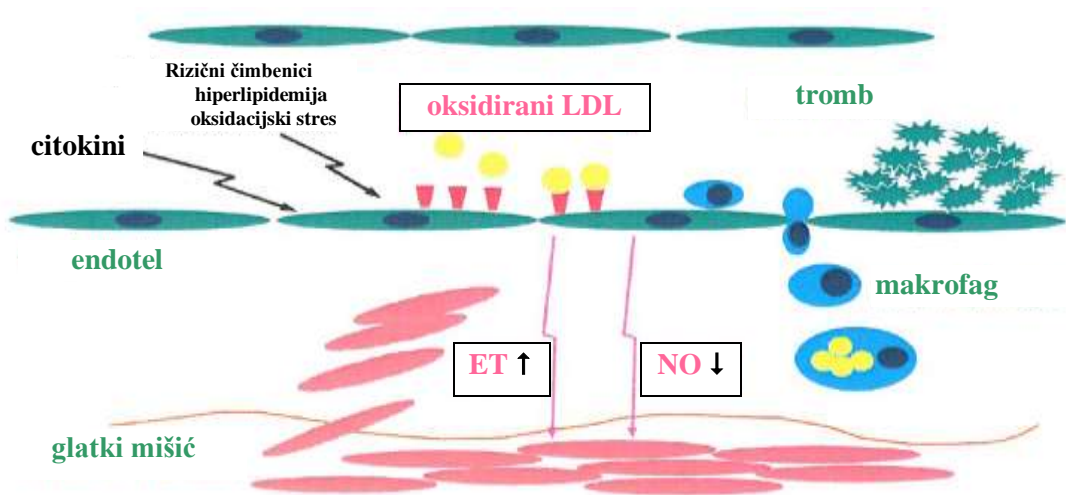
Adhezijske molekule su proteini na staničnoj površini koji sudjeluju u međusobnom povezivanju istovrsnih i različitih vrsta stanica te u povezivanju stanica s elementima izvanstaničnog matriksa putem specifičnih molekularnih interakcija. Adhezijske molekule su važne u čitavom nizu procesa poput hemostaze, posebice u održavanju vaskularne i epitelne cjelovitosti, imunog odgovora, upale, embriogeneze i organogeneze te razvoja živčanog sustava. Gubitak adhezijskih interakcija kao i njihova pretjerana stimulacija mogu biti uzrokom raznih bolesti. Njihova ekspresija na površini stanice, kao odgovor na izvjesne patofiziološke stimuluse, omogućava interakciju endotela krvnih žila i krvnih stanica i središnji je događaj u nastanku ateroskleroze. Adhezijske molekule se prema nekim funkcionalnim i strukturnim značajkama dijele u četiri osnovne skupine: cadherini, selektini, integrini i adhezijske molekule iz porodice imunoglobulina (44,45).

Endotel različitim mehanizmima prilagodbe nastoji kompenzirati mehanička i kemijska oštećenja žilnih stijenki. Endotelne stanice kao odgovor na ozljedu izlučuju čimbenike rasta

koji induciraju proliferaciju glatkih mišićnih stanica. Ako endotelne stanice izgube sposobnost kontrole reparacijskih procesa dolazi do trajne, neprekinute endotelne aktivacije koja rezultira s endotelnom disfunkcijom (27). Endotelna disfunkcija je prva faza u nastanku aterosklerotske lezije koja nije morfološki prepoznatljiva, ali se može detektirati određivanjem biokemijskih parametara u cirkulaciji (46).

Neravnoteža stvaranja i razgradnje NO-a je temelj poremećaja vazomotorike te predstavlja vodeći mehanizam kompleksnog sindroma endotelne disfunkcije.

Oksidirane LDL čestice smanjuju izlučivanje vazodilatatora NO-a iz endotelnih stanica i povećavaju izlučivanje vazokonstriktora ET-1 koji potiče proliferaciju glatkih mišićnih stanica i time doprinosi stvaranju aterosklerotskog plaka (Slika 1) (27,46).



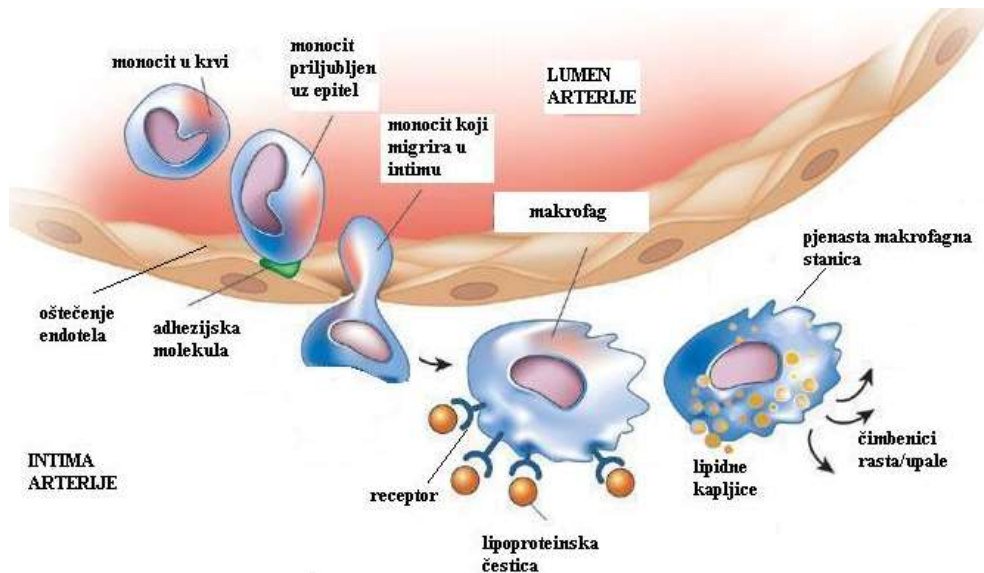
ET - endotelin, NO - dušikov oksid

**Slika 1. Poremećaj endotelne homeostaze (slika preuzeta iz literaturnog navoda 27).**

Oštećenje žilnog endotela može biti izazvano i povećanom koncentracijom LDL-a koja povećava ekspresiju adhezijskih molekula na endotelnim stanicama te smanjuje njihovu sposobnost izlučivanja NO-a i drugih tvari koje sprječavaju adheziju makromolekula, trombocita i monocita za endotel (Slika 1).

Na mjestu oštećenja žilnog endotela počinje nakupljanje cirkulirajućih monocita i lipida, prvenstveno LDL-a. Monociti prijanjaju uz adhezijske molekule na oštećenoj endotelnoj stanici arterije te prolaze kroz endotel u intimu arterijske stijenke gdje se diferenciraju u makrofage koji putem receptora čistača fagocitiraju oksidirane LDL čestice. Ekspresija

receptora čistača nije ovisna o koncentraciji kolesterola u stanici zbog čega makrofagi fagocitiraju oksidirani LDL sve dok ga ima u njihovoj neposrednoj okolini. Makrofagi uskoro bivaju prepunjeni lipidima i postaju takozvane pjenaste stanice. Oksidirana LDL čestica je vrlo aterogena i njezina je prisutnost u subendotelnom prostoru nužan uvjet za nastanak i razvoj aterosklerotične lezije. Pjenaste makrofagne stanice oslobađaju mnoge citokine i upalne medijatore koji potiču daljnju proliferaciju glatkog mišićnog i fibroznog tkiva na unutarnjoj strani arterijske stijenke. Nakupina makrofaga ispunjenih lipidima u krvnoj žili stvara vidljivu masnu prugu koja je najranija morfološki prepoznatljiva ozljeda kod ateroskleroze (Slika 2) (40,41,46,47).



**Slika 2. Nastanak pjenaste makrofagne stanice (slika preuzeta iz literaturnog navoda 47).**

Endotelna disfunkcija predstavlja izravnu poveznicu između kardiovaskularnih rizičnih čimbenika, razvoja i tijeka većine kardiovaskularnih bolesti (27).

Veliki interes stručnjaka za uključivanjem procjene endotelne funkcije u rutinski klinički rad, posljednjih je godina pitanje dijagnostičkog pristupa endotelnu disfunkciju svrstalo u red prvorazrednih znanstvenih interesa. Analiza bazalne koncentracije cirkulirajućih endotelnih biljega, njihova reaktivnost u stimuliranim uvjetima, mjerenje farmakološki izazvane i endogenim medijatorima posredovane arterijske vazodilatacije te mjerenje koncentracije

cirkulirajućih endotelnih stanica iz periferne krvi, metode su procjene funkcionalnog stanja endotela kojima se danas raspolaže (31,48).

Endotelna disfunkcija se ne može određivati direktno te su razvijene indirektno metode za procjenu endotelne disfunkcije. To uključuje određivanje koncentracije staničnih adhezijskih molekula: međustanične adhezijske molekule tipa 1 (ICAM-1, engl. *intercellular adhesion molecule-1*) i vaskularne stanične adhezijske molekule tipa 1 (VCAM-1, engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) u serumu.

Niz je autora istraživao ulogu i značaj adhezijskih molekula u razvoju i progresiji ateroskleroze. Od niza adhezijskih molekula, najzapaženiji je značaj ICAM-1 u akutnim i kroničnim promjenama vezanim za aterosklerozu. Naime, prethodna istraživanja pokazala su da je ICAM-1 najznačajniji pokazatelj endotelne disfunkcije u bolesnika s moždanim udarom (49). Pokazalo se da je ICAM-1 usko povezan i s poligenskom hiperkolesterolemijom (41). Nadalje, rano povećanje koncentracije ICAM-1 pokazalo se kao značajan čimbenik rizika za razvoj akutnog koronarnog sindroma, posebno nestabilne angine (50). Ceriello i suradnici ustanovili su da dolazi do postprandijalnog povećanja koncentracije ICAM-1 kod bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 (51). Do sličnih rezultata došli su i drugi autori (30). Stoga je ICAM-1 svakako biljeg od osobitog značaja za procjenu endotelnog statusa i endotelne disfunkcije u istraživanju odgovora na postprandijalnu hipertrigliceridemiju.

## **1.5 Genetska predispozicija postprandijalnog odgovora**

Značajno povećanojm koncentraciji triglicerida u cirkulaciji doprinose jednim dijelom i genetski čimbenici. S obzirom na genetiku u podlozi kod ljudi postprandijalni odgovor se manifestira na različite načine.

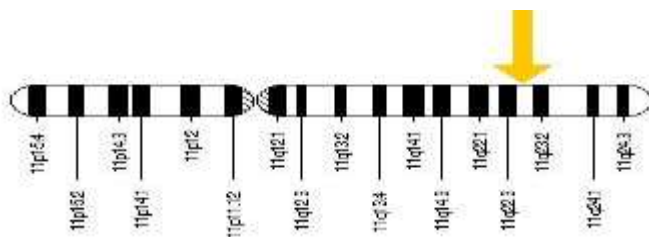
Dosadašnja istraživanja su pokazala da bi polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (52,53) i polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (54,55) mogli biti odgovorni za razlike u postprandijalnom odgovoru kod ljudi te se dovode u vezu s hipertrigliceridemijom i povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti.

Međutim, ove interindividualne varijabilnosti postprandijalnog odgovora nisu još u potpunosti razjašnjene.

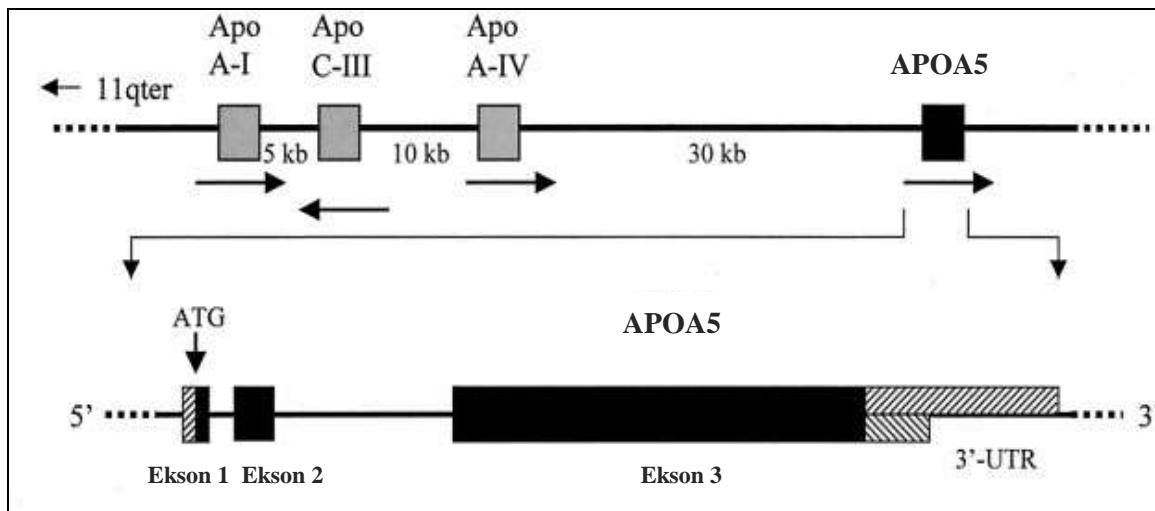
## 1.5.1 Apolipoprotein A5

### 1.5.1.1 Gen za apolipoprotein A5

Gen za apolipoprotein A5 (APOA5, engl. *apolipoprotein A5*) je dio značajne regulatorne skupine gena A1-C3-A4 na kromosomu 11 (11q23) (Slika 3) (56,57). Gen za APOA5 se sastoji od 3 eksona i 2 introna i veličine je 1935 pb ili 2477 pb ovisno o veličini trećeg eksona (Slika 4) (58,59).



Slika 3. Položaj gena za APOA5 na kromosomu 11.



Slika 4. Struktura gena za APOA5.

### 1.5.1.2 APOA5 protein

APOA5 protein je građen od 343 aminokiseline i ima molekularnu masu 39 kDa. Protein je vrlo hidrofoban pa se nakon sinteze u hepatocitima veže s unutarstaničnim kapljicama lipida koje predstavljaju depo neutralnih lipida, posebno triglicerida, i mogu biti upotrijebljene za stvaranje VLDL čestica. Nakon prvog vezanja s lipidima, APOA5 postaje topljiv i stabilan u vodenom mediju te prelazi u cirkulaciju u sastavu HDL čestica i VLDL čestica.

Za vezanje s lipidima odgovorne su aminokiseline u C-terminalnom dijelu APOA5.

Mutacija APOA5 koja uzrokuje promijenjenu strukturu hidrofobne spirale u C-terminalnom dijelu onemogućuje vezanje APOA5 s lipoproteinima.

N-terminalna sekvenca signalnog peptida APOA5 (23 aminokiseline) je odgovorna za unutarstanični prijenos proteina te njegovo izlučivanje iz stanice (60).

### 1.5.1.3 Kontrola ekspresije

Ekspresija gena za APOA5 je kontrolirana s peroksisomskim proliferator-aktiviranim receptorm  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ , engl. *peroxisome proliferator-activated receptor*) i farnesoid X-aktiviranim receptorom (FXR, engl. *farnesoid X-activated receptor*).

PPAR $\alpha$  je nuklearni transkripcijski čimbenik aktiviran slobodnim masnim kiselinama koji regulira ekspresiju mnogih gena uključenih u metabolizam lipida. PPAR $\alpha$  značajno inducira ekspresiju mRNA APOA5 u hepatocitima i doprinosi hipotrigliceridemičnom učinku fibrata.

FXR je drugi član velike obitelji nuklearnih receptora koji regulira ekspresiju većeg broja gena uključenih u metabolizam triglicerida. Ekspresija FXR je ograničena na jetru, crijeva, bubrege i koru nadbubrežne žlijezde. Djeluje kao heterodimer vezan s retinoidnim X receptorom, a aktiviran je žučnim kiselinama (61).

### 1.5.1.4 Sinteza i uloga

APOA5 je aktivator lipoprotein lipaze. Sintetizira se u jetri i izlučuje u cirkulaciju gdje ima ključnu regulatornu ulogu u metabolizmu triglicerida. Koncentracija APOA5 u serumu je vrlo mala (24 - 406 ng/mL) u usporedbi s drugim apolipoproteinima, APOA1 (~ 1 mg/mL) ili APOC3 (~ 0,1 mg/mL) (62,63).

Aktivnost APOA5 na metabolizam triglicerida se očituje na dva načina: 1) aktivira lipoprotein lipazu i potiče intravaskularnu hidrolizu triglicerida i 2) smanjuje koncentraciju triglicerida u serumu inhibirajući stvaranje VLDL-a u jetri (64).

### 1.5.1.5 Polimorfizmi u genu za APOA5

U genu za APOA5 je opisano pet polimorfizama koji se povezuju s određenim patofiziološkim stanjima: -1131T/C, c.-3A/G, c.56C/G, IVS3+476G/A i c.1259T/C. Kod osoba bijele rase navedeni polimorfizmi definiraju tri zajednička haplotipa (APOA5\*1, APOA5\*2 i APOA5\*3) (Tablica 4). Haplotip APOA5\*1 je kombinacija divljih tipova svih pet polimorfizama u genu za APOA5. Prisutnost mutiranog alela u polimorfizmu -1131T/C, poznatog kao SNP3, karakterizira haplotip APOA5\*2, dok mutirani alel u polimorfizmu c.56C/G, poznat kao S19W, karakterizira haplotip APOA5\*3 (65,66,67).

Zdravi haplotip APOA5\*1 zastupljen je kod 82% osoba bijele rase. Mutirani haplotip APOA5\*2 zastupljen je kod 8% bijelaca, dok je 8% bijelaca nositelj mutiranog haplotipa APOA5\*3.

Polimorfizmi u genu za APOA5 mogu utjecati na funkciju prepisanog proteina, jer dolazi do promjene interakcije APOA5 s lipoprotein lipazom što u konačnici rezultira s povećanjem koncentracije triglicerida u cirkulaciji (52).

**Tablica 4. Haplotipovi APOA5 u bijelaca (tablica preuzeta iz literaturnog navoda 66).**

Haplotip	-1131T>C (SNP3) rs662799	c.-3A>G (kozak) rs651821	c. 56C>G (S19W) rs3135506	IVS3+476G>A (SNP2) rs2072560	c.1259T>C (SNP1) rs2266788
<b>Apo A5*1</b>	<b>T</b>	<b>A</b>	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>T</b>
<b>Apo A5*2</b>	<b>C</b>	<b>G</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>C</b>
<b>Apo A5*3</b>	<b>T</b>	<b>A</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>T</b>

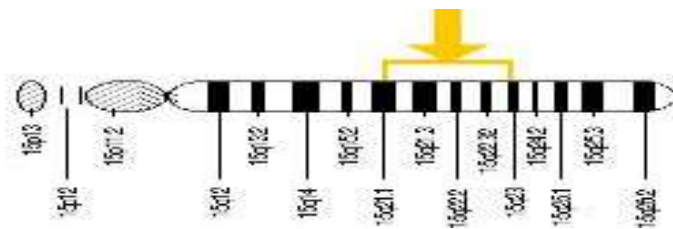


Polimorfizmi -1131T/C i c.56C/G, svaki pojedinačno, dovode se u vezu s velikom koncentracijom triglicerida u serumu u odnosu na vrijednosti u nositelja haplotipa APOA5\*1. Osobe koje su nositelji C (citozin) alela na položaju -1131, odnosno G (gvanin) alela na položaju 56 u genu za APOA5 imaju veću koncentraciju triglicerida u serumu natašte i postprandijalno za razliku od osoba koje su nositelji T (timin) alela na položaju -1131, odnosno C (citozin) alela na položaju 56 (52,68).

## 1.5.2 Jetrena lipaza

### 1.5.2.1 Gen za jetrenu lipazu

Gen za jetrenu lipazu (HL, engl. *hepatic lipase*) je smješten na kromosomu 15 (15q21) (Slika 5). Veličine je 35 kb i građen od 8 introna i 9 eksona. Gen za jetrenu lipazu kodira mRNA veličine 1,6 kb (69).



Slika 5. Položaj gena za jetrenu lipazu na kromosomu 15.

### 1.5.2.2 Protein jetrena lipaza

Jetrena lipaza je glikoprotein homodimerne strukture građen od 477 aminokiselina i veličine 65 kDa.

N-terminalni dio signalnog peptida se gubi nakon prolaska proteina kroz membranu endoplazmatskog retikuluma. Jetrena lipaza se sastoji od nekoliko funkcijskih domena. Dva hidrofobna segmenta građena od po 10 aminokiselina uključena su u interakciju jetrene lipaze s lipidima. Svaki od segmenata sadržava aminokiselinu serin (Ser146 i Ser267). Serin146 je

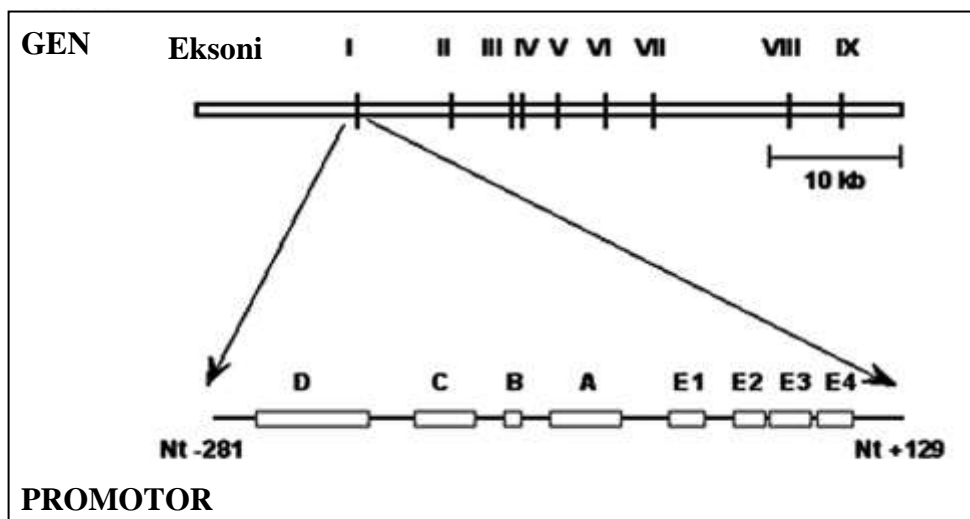
središte sekvence Gly-X-Ser-X-Gly koji je dio klasične katalitičke trijade Ser-Asp-His koja se nalazi i u endotelnoj lipazi, lipoprotein lipazi, pankreatičnoj lipazi i drugim esterazama.

U središtu proteina jetrene lipaze nalazi se 10 cisteinskih ostataka čija je terciarna struktura identična i u strukturi lipoprotein lipaze i pankreatične lipaze, što ukazuje da je stvaranje disulfidnih mostova značajno za konformaciju i katalitičku aktivnost svih lipaza. Jetrena lipaza sadrži i četiri vezna mjesta za heparin sa sekvencama BBBXXB ili BBXB, gdje je B temeljni aminokiselinski ostatak. Pomoću veznog mjesta za heparin jetrena lipaza se preko heparan sulfata veže na površinu stanica (70).

### 1.5.2.3 Kontrola ekspresije

Ekspresija gena za jetrenu lipazu je regulirana pozitivnim i negativnim regulatornim elementima (70).

U promotoru gena (-281 do +129 nukleotida) nalaze se dvije regulatorne domene. Zona A, između -28 i -75 nukleotida, je mjesto vezanja pozitivnih transkripcijskih čimbenika, a zone E2, E3 i E4 su mjesta vezanja negativnih regulatornih elemenata (Slika 6).



Slika 6. Struktura gena za jetrenu lipazu.

Androgeni spolni hormoni, tiroksin, trijodtironin, heparin i fibrati povećavaju koncentraciju pozitivnih regulatornih elemenata u jetri, dok kortikotropin djeluje kao pozitivni regulator u nadbubrežnoj žlijezdi.

Na koncentraciju negativnih regulatornih elemenata u jetri djeluju estrogeni, kortikotropin, kortikosteroidi, kateholamini (adrenalin), kolesterol, zasićene masne kiseline, N-3 masne kiseline i statini.

Ekspresija gena za jetrenu lipazu je regulirana sadržajem kolesterola u stanicama i hormonalnim statusom.

#### **1.5.2.4 Sinteza i uloga**

Jetrena lipaza je lipolitički enzim koji se sintetizira u endoplazmatskom retikulumu hepatocita. Povezanost jetrene lipaze s kalneksinom, kaperonskim proteinom, može povećati učinkovitost izlaza jetrene lipaze iz endoplazmatskog retikuluma (70).

Jetrena lipaza sadrži četiri glikozilacijska mjesta koja su smještena na pozicijama 20, 56, 340 i 375. Nakon posttranslacijske modifikacije jetrena lipaza se preko proteoglikana heparan sulfata veže na površinu hepatocita i sinusoidalnih endotelnih stanica. Za izlučivanje aktivne jetrene lipaze iz stanica ključan je N-terminalni dio proteina posebno Asn56 (71).

Jetrena lipaza je zajedno s lipoprotein lipazom lipaza vaskularnog odjeljka. Djeluje kao triglicerid lipaza i kao fosfolipaza A1 te je uključena u različite faze metabolizma lipoproteina. Hidrolizom triglicerida i fosfolipida metabolizira hilomikrone u ostatne hilomikrone, a VLDL čestice u čestice lipoproteina srednje gustoće (IDL, engl. *intermediate-density lipoprotein*). Sudjeluje u reverznom transportu kolesterola i ima značajnu ulogu u metabolizmu HDL-a, jer pretvara velike, trigliceridima bogate HDL2 u male, guste HDL3 čestice te također sudjeluje u stvaranju malih, gustih LDL čestica. Jetrena lipaza djeluje kao ligand za lipoproteine tijekom njihovog unosa u hepatocite pomoću jetrenih staničnih površinskih receptora. Tijekom lipolize, mala frakcija jetrene lipaze može disocirati s površine stanice te se jednim dijelom pričvrstiti za cirkulirajuće lipoproteine, a drugim dijelom vezati za proteoglikane na staničnoj površini. Osim toga, cirkulirajući plazmatski lipoproteini mogu stupiti u interakciju s jetrenom lipazom koja je već pričvršćena s proteoglikanima na staničnoj površini.

Proaterogena uloga jetrene lipaze očituje se unutar ateromatoznog plaka gdje olakšava akumulaciju kolesterola u makrofazima i mijenja ekspresiju pojedinih gena što ima za posljedicu ubrzani aterosklerotski proces.

Osim toga, njezina povećana aktivnost ubrzano pregrađuje HDL što ima za posljedicu smanjenu koncentraciju HDL-kolesterola u serumu (71,72,73).

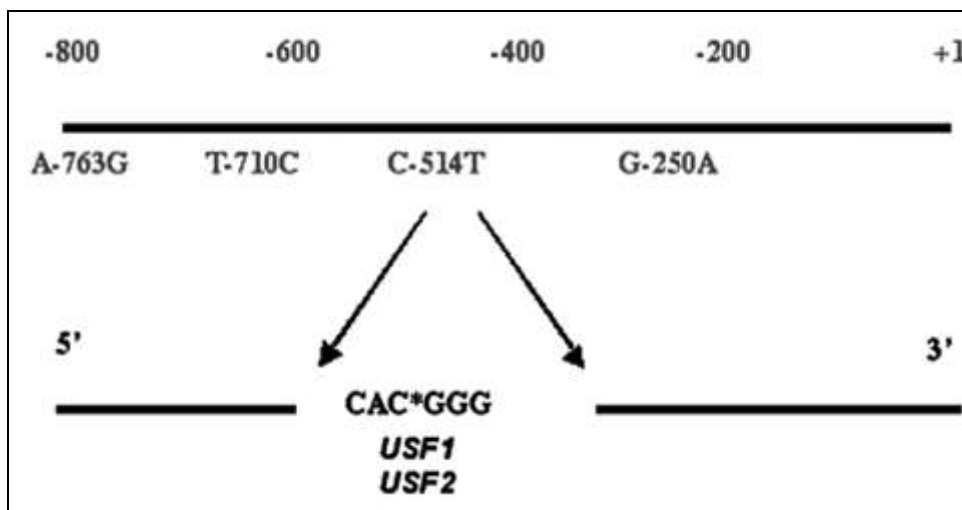
Također, osobe sa smanjenom ili inhibiranom aktivnosti jetrene lipaze imaju povećanu koncentraciju triglicerida u serumu što doprinosi postprandijalnoj lipemiji (72,74).

Osim genske regulacije, etničkog podrijetla i dobi, aktivnost jetrene lipaze je posredovana s količinom spolnih hormona i intraabdominalnim masnoćama (74).

### 1.5.2.5 Polimorfizmi u genu za jetrenu lipazu

U promotorskoj regiji gena za jetrenu lipazu opisana su četiri polimorfizma (-250G/A, -514C/T, -710T/C i -763A/G) (Slika 7). Frekvencija mutiranih alela iznosi od 0,15 do 0,29 kod bijelaca. Mutirani aleli su zastupljeni u frekvenciji od 0,45 do 0,53 kod Afro-Amerikanaca, dok frekvencija mutiranih alela iznosi 0,47 kod Amerikanaca japanskog podrijetla.

Kod osoba bijele rase prisutnost mutiranog alela u polimorfizmu -250G/A dovodi se u vezu s malom aktivnosti jetrene lipaze i visokom koncentracijom triglicerida u serumu postprandijalno (69,75). Osobe koje su nositelji A (adenin) alela na položaju -250 u genu za jetrenu lipazu imaju veću koncentraciju triglicerida u serumu postprandijalno za razliku od osoba koje su nositelji G (gvanin) alela na položaju -250 (54,66,76).



Slika 7. Polimorfizmi promotorske regije u genu za jetrenu lipazu.

## 2 RADNA HIPOTEZA

Poboljševanje i smrtnost od kardiovaskularnih bolesti povećavaju se iz godine u godinu kako u svijetu tako i u Hrvatskoj. Kardiovaskularne bolesti kod velikog broja bolesnika posljedica su aterosklerotskih promjena na krvnim žilama.

Premda je o hipertrigliceridemiji, kao čimbeniku rizika za koronarnu bolest srca i općenito za kardiovaskularne bolesti izazvane aterosklerozom, bilo tijekom proteklih desetljeća puno više dvojbi nego o hiperkolesterolemiji, na temelju nedavno objavljenih rezultata velikih istraživanja s priličnom se sigurnošću može reći da je i povećana koncentracija triglicerida u krvi, a ne samo povećana koncentracija kolesterola, važan pokazatelj odnosno čimbenik rizika za te bolesti.

Nadalje, pojedina prijašnja istraživanja su prikazala oksidacijski stres kao posrednik između postprandijalne hipertrigliceridemije i endotelne disfunkcije. Osim toga, pokazana je pozitivna korelacija između hipertrigliceridemije i različitih upalnih parametara kao i adhezijskih molekula, ukazujući na značajnu ulogu triglicerida u regulaciji upalnog odgovora.

U organizmu ubrzo nakon konzumiranja obroka bogatog lipidima dolazi do porasta koncentracije triglicerida u cirkulaciji. Pretpostavlja se da tako povećana koncentracija triglicerida aktivira oksidacijski stres koji uzrokuje endotelnu ozljedu. Kao posljedica toga vrlo vjerojatno dolazi do mjerljivog biokemijskog odgovora na povećanu koncentraciju triglicerida koji se manifestira povećanom koncentracijom biokemijskih parametara, kao i povećanom koncentracijom biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije.

Unatoč istom obrascu prehrane ne obolijevaju svi ljudi jednako od bolesti koje imaju aterosklerozu u podlozi. Očigledno je da postoje još i drugi čimbenici koji modificiraju odgovor organizma na hipertrigliceridemiju kao na primjer genetska predispozicija. Kako je poznato da polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 i polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu modificiraju metabolizam lipida jedna od pretpostavki je mogućnost da osobe s različitim genetskim varijantama mogu imati različit obrazac biokemijskih promjena nakon obroka bogatog lipidima.

Pretpostavka ovog istraživanja je da postprandijalna hipertrigliceridemija dovodi do oksidacijskog stresa koji posljedično uzrokuje endotelnu disfunkciju koja se pak smatra prvom fazom razvoja ateroskleroze. Osim toga, pretpostavlja se da je različit odgovor

hipertrigliceridemije genetski uvjetovan promotorskim polimorfizmima u genu za APOA5 i genu za jetrenu lipazu.

Do sada nije provedeno niti jedno istraživanje na homogenoj populaciji koje je objedinilo određivanje koncentracije biokemijskih parametara, biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije te određivanje genetske predispozicije. Razlog provedbe ovog istraživanja su nekonzistentni rezultati iz literature s naglaskom na koncentraciju triglicerida određenih postprandijalno kao značajne odrednice u procjeni rizika od kardiovaskularnih bolesti.

Rezultati ovog istraživanja doprinjet će razumijevanju patofiziološkog mehanizma postprandijalne hipertrigliceridemije. Nadalje, rezultati ovog istraživanja podastrijet će dokaze o mogućem mehanizmu pojačanog odgovora na postprandijalnu hipertrigliceridemiju i značenju genetskih polimorfizama u genu za APOA5 i genu za jetrenu lipazu u tom poremećaju.

Ako postprandijalna hipertrigliceridemija zaista dovodi do oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije i ako još k tome postoji genetska osnova za eventualno jači ili slabiji odgovor, onda će možda biti moguće jednostavnim laboratorijskim testom identificirati osobe s povećanim rizikom pobolijevanja.

Nadamo se da će ova saznanja biti korak bliže razumijevanju kompleksnih mehanizama u aterogenezi, a sve s ciljem prepoznavanja osoba s povećanim kardiovaskularnim rizikom, u kojih bi primarna prevencija imala koristan učinak redukcije rizika.

### 3 CILJ RADA

Ciljevi:

- Ispitati promjenu biokemijskih biljega (koncentracija glukoze, urata, ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola), biljega oksidacijskog stresa (koncentracija TAS-a), upale (koncentracija hsCRP-a) i endotelne disfunkcije (koncentracija ICAM-1) nakon kaloričnog obroka, u standardiziranim uvjetima u skupini zdravih muškaraca.
- Ispitati učestalost polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 i polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu u skupini zdravih muškaraca i u skupini bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2.
- Ispitati povezanost učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa (glukoza, urati, ukupni kolesterol, trigliceridi, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, TAS, hsCRP i ICAM-1) kod nositelja s polimorfizmom -1131T/C u genu za APOA5 i kod nositelja s polimorfizmom -250G/A u genu za jetrenu lipazu.
- Ispitati povezanost učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa (glukoza, urati, ukupni kolesterol, trigliceridi, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, TAS, hsCRP i ICAM-1) s demografskim i antropometrijskim značajkama te anamnestičkim podacima ispitanika.

## 4 MATERIJALI I METODE

### 4.1 Ispitanici

Istraživanje je provedeno u razdoblju od studenog 2009. godine do listopada 2010. godine u suradnji Odjela za laboratorijsku dijagnostiku Poliklinike Bonifarm, Kliničkog zavoda za kemiju Kliničkog bolničkog centra "Sestre milosrdnice" i Doma zdravlja Centar u Zagrebu.

Skupinu zdravih ispitanika činila su 102 zdrava muškarca. Ispitanici su osiguranici liječnika opće medicine Doma zdravlja Centar u Zagrebu koji su posjetili liječnika u okviru sistematskog pregleda.

#### Kriteriji za uključivanje ispitanika u istraživanje:

- muškarci;
- dob 52 - 68 godina;
- odsustvo kliničkih znakova akutne upale.

#### Kriteriji za isključivanje ispitanika iz istraživanja:

- šećerna bolest;
- veći operativni zahvat u posljednja dva mjeseca;
- moždani udar ili akutni infarkt miokarda;
- terapija statinima;
- dijeta za mršavljenje.

Znakove akutne upale i odsustvo bolesti ustanovio je liječnik temeljem pregleda i općeg stanja ispitanika te anamnestičkih podataka. Zdravlje je definirano kao stanje odsustva bolesti i kliničkih znakova akutne upale u trenutku uključivanja u istraživanje. Uvidom u anamnestičke podatke, liječnik je također isključio prisustvo šećerne bolesti, većeg operativnog zahvata u posljednja dva mjeseca, moždanog udara ili infarkta miokarda, terapije statinima i dijete za mršavljenje.

Kontrolna skupina ispitanika su 50 bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 (25 muškaraca i 25 žena). Bolesnici su obrađeni tijekom redovite kontrole kod liječnika, specijalista endokrinologije u Zavodu za endokrinologiju i metaboličke bolesti interne klinike Kliničkog bolničkog centra "Sestre milosrdnice" u Zagrebu.



### Kriteriji za uključivanje ispitanika u kontrolnu skupinu:

- dob 50 - 70 godina;
- klinički potvrđeno stanje visokog kardiovaskularnog rizika (dijagnoza šećerne bolesti tipa 2 s razvijenim mikro- i makrovaskularnim komplikacijama, ili klinička dijagnoza kardiovaskularne bolesti).

Prilikom uključivanja u istraživanje, zdravi ispitanici su upoznati s protokolom i svrhom ovog istraživanja. Svi zdravi ispitanici koji su sudjelovali u istraživanju potpisali su informirani pristanak.

Ispitanici kontrolne skupine nisu potpisivali informirani pristanak, jer je biološki materijal uzorkovan tijekom rutinske kontrolne obrade.

Prilikom liječničkog pregleda svim ispitanicima su izmjereni visina i tjelesna težina za izračun indeksa tjelesne mase (ITM, engl. *body mass index*), a skupini zdravih ispitanika su izmjereni i opseg struka i opseg bokova za izračun omjera struk/bokovi (w/h ratio, engl. *waste to hip ratio*).

Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra "Sestre milosrdnice" i Etičkog povjerenstva Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## **4.2 Uzorci**

Uzorkovanje krvi provedeno je venepunkcijom iz kubitalne vene. Uzorkovanje krvi zdravim ispitanicima je provedeno u Odjelu za laboratorijsku dijagnostiku u Poliklinici Bonifarm. Prvi uzorak krvi je uzorkovan u periodu od 7:30 do 9:00 sati natašte, 12 sati nakon uzimanja zadnjeg obroka (1. točka vađenja - natašte). Uzorkovane su epruveta bez antikoagulansa i epruveta s antikoagulansom K<sub>3</sub> etilendiamin tetraacetatom (K<sub>3</sub>EDTA, engl. *K<sub>3</sub> ethylene diamine tetra acetate*). Odmah nakon vađenja krvi ispitanici su konzumirali standardizirani kalorični obrok (77) u obliku sendviča sa 120 g francuskog kruha, 75 g salame, 50 g sira i 15 g margarina.

Sadržaj masnoće, proteina i ugljikohidrata u standardiziranom kaloričnom obroku prikazan je u Tablici 5.

Tijekom perioda od tri sata nakon standardiziranog kaloričnog obroka ispitanici nisu smjeli konzumirati hranu niti lijekove, samo su mogli piti vodu i lagano šetati. Drugi uzorak je uzorkovan tri sata nakon konzumiranja standardiziranog kaloričnog obroka (2. točka vađenja - postprandijalno). Uzorkovana je epruveta bez antikoagulansa.

Uzorkovanje krvi ispitanicima kontrolne skupine provedeno je u Kliničkom bolničkom centru "Sestre milosrdnice" samo jedanput u periodu od 7:30 do 9:00 sati natašte. Uzorkovana je epruveta s antikoagulansom K<sub>3</sub>EDTA. Bolesnici nisu konzumirali standardizirani kalorični obrok.

**Tablica 5. Sastav standardiziranog kaloričnog obroka kojeg su konzumirali ispitanici.**

<b>Namirnice</b>	<b>Proteini (g)</b>	<b>Masnoće (g)</b>	<b>Ugljikohidrati (g)</b>	<b>Kilokalorije (kcal)</b>
<b>Salama</b> (23% masnoće), 75 g	12,8	17,3	1,5	213
<b>Sir</b> (45% masnoće), 50 g	12	22,5	/	185
<b>Francuski kruh</b> 120 g	9,9	2,9	62,4	318
<b>Margarin</b> 15 g	/	12,8	/	107
<b>Ukupno</b> 260 g	34,7	55,5	63,9	823

Korištene su epruvete tvrtke Becton, Dickinson and Company (BD Vacutainer®, Franklin Lakes, NJ, USA).

Uzorci krvi uzeti bez antikoagulansa nakon 30 minuta koaguliranja centrifugirani su 10 minuta na 3500 g/min nakon čega su alikvotirani uzorci seruma. Uzorci seruma za mjerenje TAS-a i ICAM-1 su bili pohranjeni na -20 °C do izvođenja analiza unutar perioda od četrnaest dana.

Određivanje koncentracije glukoze, urata, ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola i hsCRP-a provedeno je u svježem serumu isti dan. Koncentracija HbA1c određena je u punoj krvi izvađenoj u epruveti s antikoagulansom K<sub>3</sub>EDTA isti dan. Iz

ostatnog uzorka krvi s antikoagulansom K<sub>3</sub>EDTA izolirana je deoksiribonukleinska kiselina (DNA, engl. *deoxyribonucleic acid*) u periodu od sedam dana nakon uzorkovanja. Uzorci DNA pohranjeni su na +4 °C. Genotipizacija svih polimorfizama provedena je unutar perioda od godine dana.

### **4.3 Mjerenja i anamneza**

Tjelesna težina ispitanika s minimalnom odjećom određena je na vagi s točnošću od 0,1 kg. Visina ispitanika u stojećem položaju, bez cipela, određena je digitalnim stadiometrom s točnošću od 0,1 cm. ITM je izračunat kao omjer tjelesne težine u kilogramima i kvadrata visine u metrima (kg/m<sup>2</sup>).

Opseg struka ispitanika je izmjeren približno na sredini između donjeg ruba zadnjeg rebra i opipljivog vrha zdjelične kosti. Opseg bokova ispitanika je izmjeren oko najšireg dijela stražnjice. Omjer struk/bokovi (w/h) je izračunat dijeljenjem vrijednosti dobivenih za omjer bokova s vrijednostima dobivenim za omjer struka (78).

Kriterij za kategorizaciju osoba s prekomjernom tjelesnom težinom su vrijednosti ITM 25,0 - 29,9 kg/m<sup>2</sup>, a za kategorizaciju pretilih osoba vrijednosti ITM  $\geq 30,0$  kg/m<sup>2</sup> i omjer struk/bokovi  $\geq 0,90$ .

Ispitanici su karakterizirani kao pušači ako puše jednu ili više cigareta dnevno te kao nepušači ako su bivši pušači ili nikada nisu pušili.

Uzeta je obiteljska anamneza za šećernu bolest i za kardiovaskularne bolesti (hipertenzija, akutni infarkt miokarda, moždani udar).

## **4.4 Metode**

### **4.4.1 Određivanje koncentracije biokemijskih parametara**

Koncentracije glukoze, urata, ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-kolesterola i LDL-kolesterola su određene standardnim enzimatskim metodama na analizatoru Cobas Integra 400 plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) korištenjem originalnih reagensa tvrtke Roche Diagnostics. Koncentracija HbA1c je određena standardnom imunoturbidimetrijskom

metodom na analizatoru Cobas Integra 400 plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) korištenjem originalnog reagensa tvrtke Roche Diagnostics.

Biološka varijabilnost i poželjna nepreciznost za metode za određivanje koncentracije biokemijskih parametara prikazani su u Tablici 6.

**Tablica 6. Biološka varijabilnost i nepreciznost metoda za određivanje koncentracije biokemijskih parametara.**

Parametar	Metoda	Biološka varijabilnost		Poželjna nepreciznost (%)
		Intra-individualna	Inter-individualna	
<b>Glukoza</b>	Enzimatska referentna metoda s heksokinazom	6,1	6,1	2,9
<b>HbA1c</b>	Turbidimetrijska inhibicijska imunometoda (TINIA) za mjerenje HbA1c iz hemolizata pune krvi	1,9	5,7	0,9
<b>Urati</b>	Enzimatska kolorimetrijska metoda	9,0	17,6	4,5
<b>Ukupni kolesterol</b>	Enzimatska kolorimetrijska metoda	5,4	15,2	2,7
<b>Trigliceridi</b>	Enzimatska kolorimetrijska metoda (GPO/PAP) s glicerol fosfat oksidazom	20,9	37,2	10,5
<b>HDL-kolesterol</b>	Homogena enzimatska kolorimetrijska metoda	7,1	19,7	3,6
<b>LDL-kolesterol</b>	Homogena enzimatska kolorimetrijska metoda za direktno mjerenje LDL-kolesterola uz primjenu neionskog detergenta	6,5	----	3,3

#### 4.4.2 Određivanje koncentracije TAS-a

Koncentracija TAS-a je određena kolorimetrijskom metodom na analizatoru Olympus AU640 (Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, SAD) korištenjem komercijalnog reagensa tvrtke Randox (RANDOX Laboratories Ltd., Crumlin, County Antrim, Ujedinjeno Kraljevstvo).

ABTS<sup>®</sup> (2,2'-azino(3-etilbenziazolin sulfonat)) se inkubira s peroksidazom (metmioglobin) i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> te nastaje kationski radikal ABTS<sup>®\*+</sup> čija je plavo-zelena boja relativno stabilna, a apsorbancija se mjeri na 600 nm. Prisutnost antioksidansa u ispitivanom uzorku rezultira smanjenjem koncentracije ABTS<sup>®\*+</sup> pa je apsorbancija razmjerna koncentraciji antioksidansa u uzorku.

Linearnost metode je 0 - 2,5 mmol/L. Prema deklaraciji proizvođača preciznost u seriji je 3,25% sa srednjom vrijednosti 1,06 mmol/L, a preciznost između serija je 3,03% sa srednjom vrijednosti 0,97 mmol/L.

#### **4.4.3 Određivanje koncentracije hsCRP-a**

Koncentracija hsCRP-a je određena standardnom imunoturbidimetrijskom metodom na analizatoru Cobas Integra 400 plus (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) korištenjem originalnog reagensa tvrtke Roche Diagnostics.

#### **4.4.4 Određivanje koncentracije ICAM-1**

Koncentracija ICAM-1 je određena enzimimunokemijskom metodom (ELISA, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) korištenjem komercijalnog reagensa ELISA kit Human sICAM-1 Platinum ELISA (eBioscience, Sjeverna Amerika - Bender MedSystems GmbH, Beč, Austrija) na čitaču mikrotitarskih pločica ELISA Humareader 2106 (Human, Wiesbaden, Njemačka).

Metoda se temelji na reakciji specifičnih anti-humanih ICAM-1 antitijela vezanih u jažicama na mikrotitarskoj pločici s humanim ICAM-1 antigenom prisutnim u uzorku i vezanju sekundarnog anti-humanog ICAM-1 antitijela obilježenog enzimom HRP (engl. *horseradish peroxidase*) za ispitivani antigen ICAM-1 tijekom prve inkubacije. U drugoj inkubaciji se ispiranjem uklanja nevezano sekundarno antitijelo. Dodatkom supstrata za HRP nastaje obojeni produkt čija je apsorbancija razmjerna koncentraciji ICAM-1 u uzorku.

Granica detekcije humanog ICAM-1 je 2,2 ng/mL, a prema deklaraciji proizvođača preciznost u seriji je 4,1%.

## 4.5 Izolacija DNA

DNA je izolirana metodom pročišćavanja nukleinskih kiselina iz pune krvi korištenjem komercijalnog reagensa High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka).

### Postupak:

1. Krv se lizira inkubacijom s puferom za liziranje i proteinazom K.
2. Nukleinske kiseline se vežu za staklena vlakna u posebnim tubama.
3. Vezane nukleinske kiseline se ispiru s puferom za uklanjanje inhibitora PCR reakcije.
4. Vezane nukleinske kiseline se ispiru s puferom za pročišćavanje od soli, proteina i drugih staničnih nečistoća.
5. Pročišćene nukleinske kiseline se eluiraju s puferom za eluiranje.

## 4.6 Određivanje polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5

Određivanje polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 provedeno je metodom lančane reakcije polimerazom (PCR, engl. *polymerase chain reaction*) nakon čega slijedi određivanje polimorfizma duljine restrikcijskih odsječaka (RFLP, engl. *restriction fragment length polymorphism*) (53). PCR-om umnoženi ulomak gena za APOA5 obrađen je s restrikcijskim enzimom *MseI*, a dobiveni produkti određuju se na 4%-tnoj agarози.

### 4.6.1 Lančana reakcija polimerazom

Početnice za umnažanje ulomka gena za APOA5 su:

1. nizvodna početnica (Fw, engl. *forward primer*)

5'-CCCCAGGAACTGGAGCGAAATT-3'

2. uzvodna početnica (Rv, engl. *reverse primer*)

5'-TTCAAGCAGAGGGAAGCCTGTA-3'

Početnice su proizvod tvrtke Invitrogen Corporation (Carlsbad, CA, USA).

PCR reakcijski pufer, dNTPs i Taq DNA polimeraza su proizvod tvrtke Roche Diagnostics (Mannheim, Njemačka).

Reagencije i način pripreme reakcijske smjese za umnažanje ulomka gena za APOA5 prikazane su u Tablici 7.

**Tablica 7. Reagencije za umnažanje ulomka gena za APOA5.**

Reagens	Koncentracija u reakcijskoj smjesi	Priprema reakcijske smjese ( $\mu\text{L}$ )
dNTP	0,20 mM	0,26
Fw početnica	5 $\mu\text{M}$	0,83
Rv početnica	5 $\mu\text{M}$	0,83
PCR reakcijski pufer	Tris-HCl 100 mM MgCl <sub>2</sub> 15 mM KCl 500 mM	3,30
Taq DNA polimeraza	5 U/ $\mu\text{L}$	0,13
H <sub>2</sub> O	/	26,65
DNA	50 ng/ $\mu\text{L}$	1,00

U svakoj PCR reakciji umnožena su i tri pozitivna kontrolna uzorka (divlji tip, heterozigot, mutirani homozigot) te negativni kontrolni uzorak (sadrži destiliranu H<sub>2</sub>O umjesto DNA). PCR produkt u negativnoj kontroli ukazuje na kontaminaciju reakcijske smjese i PCR treba ponoviti.

Umnažanje je provedeno na aparatu MasterCycler Gradient (Eppendorf AG, Hamburg, Njemačka).

Reakcijski uvjeti za umnažanje ulomka gena za APOA5 prikazani su u Tablici 8.

**Tablica 8. Reakcijski uvjeti za umnažanje ulomka gena za APOA5.**

Faza ciklusa	
Početna denaturacija	97°C/5 min
Denaturacija	95°C/1 min
Prianjanje	60°C /45 sec
Umnažanje	72°C/1 min
Broj ciklusa	35
Završno umnažanje	72°C/10 min

## 4.6.2 Provjera PCR produkta

Veličina i kvaliteta PCR produkta provjerena je elektroforezom na komercijalnim gelovima PCR CheckIT Mini (Elchrom Scientific, Cham, Švicarska) u TAE (Tris-acetat-EDTA) puferu (pH 8,0).

Korišten je molekularni biljeg od 100 pb (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). Elektroforetsko razdvajanje se provodi 20 minuta pri 120 V na aparatu SEA 2000<sup>TM</sup> (Elchrom Scientific, Švicarska). Gelovi sadrže etidijev bromid pa nije potrebno dodatno bojanje prije vizualizacije na transiluminatoru MacroVue<sup>TM</sup> (Hoefer, San Francisco, Kalifornija, SAD). Slike elfelograma načinjene su digitalnom kamerom Olympus (Tokio, Kina).

Dobro umnoženi ulomak gena za APOA5 veličine je 398 pb.

## 4.6.3 Polimorfizam duljine restrikcijskih odsječaka

### Reagencije:

<i>MseI</i>	(New England Biolabs, Ipswich, MA, USA)
Pufer za <i>MseI</i>	NEBuffer 4 (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) (50 mM kalij acetat, 20 mM Tris acetat, 10 mM magnezij acetat, 1 mM ditiotritol, pH 7,9, 25°C)
4% agarozni gel	2 g agaroze (4% NuSieve <sup>®</sup> 3:1 Agarose gel, Cambrex, SAD) 50 mL TAE pufer (pH 8,0) s etidij bromidom
Molekularni biljeg 100 pb	(Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka)
Pufer za elektroforezu	TAE pufer (pH 8,0)
Sample Loading Buffer	(Elchrom Scientific, Cham, Švicarska)



### Postupak:

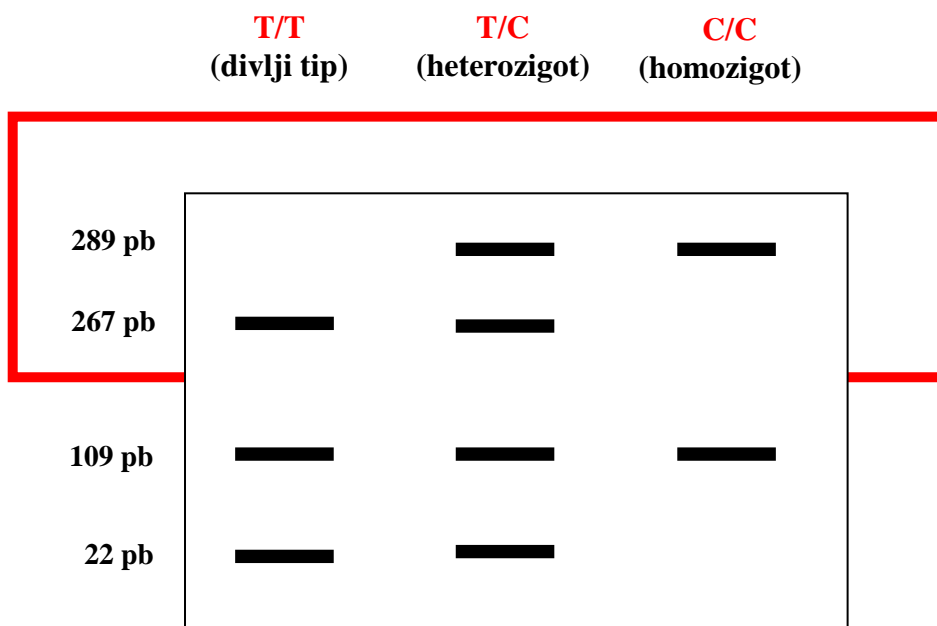
#### Digestija

8  $\mu\text{L}$  PCR produkta inkubira se preko noći (16 sati) na  $37^\circ\text{C}$  s  $1,42 \mu\text{L}$  smjese koja sadržava  $0,48 \mu\text{L}$  restrikcijskog enzima *MseI* (10 U/L) i  $0,94 \mu\text{L}$  pufera za *MseI*.

#### Elektroforeza

Nakon inkubacije uzorci se centrifugiraju nekoliko sekundi na 11000 okr/min.  $8 \mu\text{L}$  digestijske smjese se pomiješa s  $5 \mu\text{L}$  *sample loading buffera* koji služi za spuštanje uzorka na dno i vizualizaciju. Produkti cijepanja ulomka gena za APOA5 razdvajaju se elektroforetski na 4%-tnoj agarozu. Nakon elektroforeze fragmenti su vizualizirani na transiluminatoru MacroVue<sup>TM</sup> (Hofer, San Francisco, Kalifornija, SAD). Slike elfelograma načinjene su digitalnom kamerom Olympus (Tokio, Kina).

Schema cijepanja ulomka gena za APOA5 s polimorfizmom -1131T/C pomoću restrikcijske endonukleaze *MseI* prikazana je na Slici 8. U prisutnosti alela divljeg tipa (T/T) restrikcijski enzim cijepa umnoženi PCR produkt na tri odsječka (267, 109 i 22 pb). U prisutnosti homozigotnog mutiranog alela (C/C) restrikcijski enzim cijepa PCR produkt na dva odsječka (289 i 109 pb). Kod heterozigota (T/C) djelovanjem *MseI* na PCR produkt nastaju četiri odsječka (289, 267, 109 i 22 pb).



**Slika 8. Shema cijepanja ulomka gena za APOA5 s *MseI* za polimorfizam -1131T/C.**

## 4.7 Određivanje polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu

Određivanje polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu provedeno je metodom PCR u stvarnom vremenu (RT-PCR, engl. *real time PCR*) i analizom krivulje taljenja (engl. *melting curve analysis*). RT-PCR je PCR reakcija s dvije specifične oligonukleotidne probe koje su obilježene različitim bojama. Jedna hibridizacijska proba je obilježena fluorescinom (donorska boja) na 3' kraju, dok je druga hibridizacijska proba obilježena LightCycler-Red 640 (akceptorska boja) na 5' kraju. Tijekom faze denaturacije ne dolazi do hibridizacije probe s ciljnom sekvencom. U fazi vezanja početnica na ciljnu DNA dolazi i do specifičnog vezanja hibridizacijskih probi unutar odsječka koji se umnaža. Fluorescin s prve hibridizacijske probe pobuđuje se s plavim svjetlom s diode nakon čega slijedi emisija zelenog fluorescentnog svjetla koje pobuđuje LightCycler-Red 640 na drugoj hibridizacijskoj boji koja potom emitira crvenu fluorescenciju koja se mjeri na 640 nm. Prijenos energije se događa samo ako su probe udaljene od 1 do 5 nukleotida. Prijenos energije između dva fluorofora se naziva prijenos fluorescentno-rezonantne energije (FRET, engl. *fluorescence resonance energy transfer*) i ovisan je o udaljenosti između dviju fluorescentnih boja. Intenzitet fluorescencije je najveći na kraju druge faze ciklusa, jer je količina fluorescencije direktno proporcionalna količini PCR produkta.

Svaka dvolančana DNA ima specifičnu temperaturu taljenja ( $T_m$ , engl. *melting temperature*) koja je definirana kao temperatura pri kojoj je polovica DNA u jednolančanom, a polovica u dvolančanom obliku. Najvažniji čimbenici koji određuju  $T_m$  neke DNA molekule su duljina i udio GC parova baza pri čemu DNA s većim udjelom GC parova baza ima veću  $T_m$  zbog većeg broja vodikovih veza.

Određivanje polimorfizma pomoću analize krivulje taljenja zasniva se na činjenici da  $T_m$  osim o duljini DNA i udjelu GC parova baza ovisi i o stupnju homologije između dvaju DNA lanaca. Specifičnim hibridizacijskim probama koje su komplementarne za divlji ili mutirani tip DNA moguće je razlikovati odsječke DNA koji se razlikuju samo u jednoj bazi, jer hibridizacijska proba koja se savršeno veže za DNA zahtijeva veću temperaturu za denaturaciju u PCR ciklusu u odnosu na hibridizacijsku probu kod koje krivo sparene baze djeluju destabilizirajuće i denaturacija je moguća pri manjoj temperaturi.

## 4.7.1 RT-PCR

Početnice za umnažanje ulomka gena za jetrenu lipazu su:

1. Fw početnica

5'-CCT ACC CCG ACC TTT GGC AG-3'

2. Rv početnica

5'-GGG GTC CAG GCT TTC TTG G-3'

Početnice su proizvod tvrtke TIB MOLBIOL (Berlin, Njemačka).

Proba HybProbe 1 je obilježena s fluorescinom i proba HybProbe 2 je obilježena s LightCycler-Red 640 i proizvod su tvrtke Roche Diagnostics (Mannheim, Njemačka).

Komercijalni reagens LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe je proizvod tvrtke Roche Diagnostics (Mannheim, Njemačka).

Reagencije i način pripreme reakcijske smjese za umnažanje ulomka gena za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 9.

**Tablica 9. Reagencije za umnažanje ulomka gena za jetrenu lipazu.**

<b>Reagens</b>	<b>Priprema reakcijske smjese (<math>\mu</math>L)</b>
<b>H<sub>2</sub>O</b>	12,0
<b>FastStart DNA Master</b> Taq DNA polimeraza Reakcijski pufer dNTP (dUTP, umjesto dTTP) MgCl <sub>2</sub> 10 mM	2,0
<b>MgCl<sub>2</sub> 25 mM</b>	1,6
<b>Smjesa početnica i proba</b> Fw početnica Rv početnica HybProbe 1 HybProbe 2	1,0
<b>DNA</b>	3,4

Umnažanje je provedeno na analizatoru Roche Diagnostics LightCycler System 1.5 (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka).

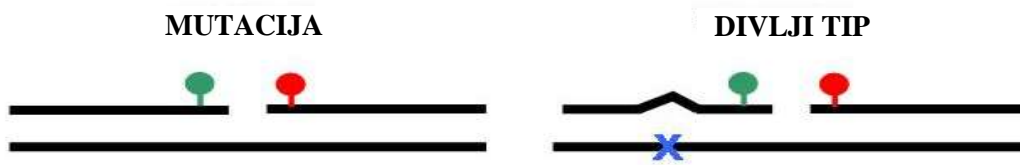
Reakcijski uvjeti za provođenje RT-PCR metode prikazani su u Tablici 10.

**Tablica 10. Reakcijski uvjeti za provođenje RT-PCR metode.**

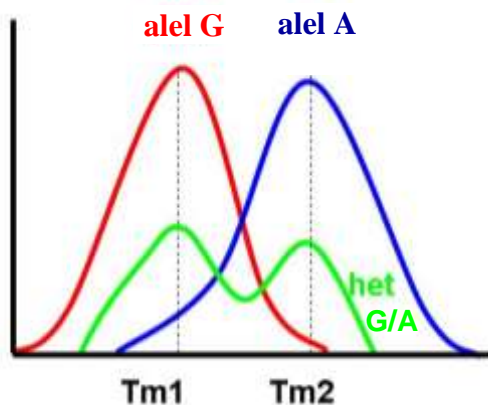
Program:	Denaturacija	Ciklusi			Taljenje			Hlađenje
Parametar								
Vrsta analize		Kvantifikacija			Krivulja taljenja			
Ciklusi	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Ciljana temperatura [°C]	95	95	60	72	95	40	85	40
Vrijeme inkubacije [sec]	600	10	10	15	20	20	0	30

#### 4.7.2 Analiza krivulje taljenja

Za određivanje polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu hibridizacijske probe su komplementarne DNA molekuli u kojoj je prisutan mutirani alel A, dok u slučaju divljeg alela G hibridizacija nije potpuna (Slika 9 i Slika 10).



**Slika 9. Prianjanje hibridizacijskih proba za molekulu DNA kod mutiranog i divljeg alela za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu.**



**Slika 10. Analiza temperature taljenja za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu ( $T_{m1}=54,01^{\circ}\text{C}$ ;  $T_{m2}=59,39^{\circ}\text{C}$ ).**

## 4.8 Statistička analiza

Kategoričke varijable su prikazane cijelim brojem i postotkom ako je broj ispitanika u skupini veći od 100 ( $N$  (%)) ili udjelom ako je broj ispitanika u skupini manji od 100 ( $N$ /udio) (79).

Za sve kvantitativne varijable ispitana je normalnost razdiobe korištenjem Kolmogorov-Smirnovljevog testa. Ukoliko je postojala statistički značajna razlika između razdiobe ispitivane varijable i teoretske normalne razdiobe ( $P < 0,05$ ), tada ispitivana varijabla nije imala normalnu razdiobu. Ukoliko nije bilo statistički značajne razlike između razdiobe ispitivane varijable i teoretske normalne razdiobe ( $P > 0,05$ ), varijabla ima normalnu razdiobu. Varijable koje su imale normalnu razdiobu prikazane su aritmetičkom sredinom  $\pm$  standardnom devijacijom (SD, engl. *standard deviation*), dok su varijable čija razdioba odstupa od normalne prikazane medijanom i interkvartilnim rasponom. Dob je, bez obzira na vrstu razdiobe, prikazana medijanom te rasponom (minimum-maksimum).

Parametrijski test je korišten u slučaju normalnih razdiobi i velikih skupina ispitanika, dok je neparametrijski test korišten ukoliko raspodjele nisu slijedile normalnu razdiobu ili ako je bilo manje od 30 ispitanika u skupini. Ispitivanje statistički značajne razlike između dvije skupine zavisnih (parnih) podataka za kvantitativne varijable provedeno je parametrijskim parnim Studentovim t-testom ili neparametrijskim Wilcoxonovim testom. Ispitivanje statistički značajne razlike između dviju skupina nezavisnih (neparnih) podataka za kvantitativne varijable provedeno je parametrijskim Studentovim t-testom ili neparametrijskim Mann-Whitneyevim testom. P-vrijednost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom i ukazivala je na postojanje razlike između skupina.

Neparametrijski test je korišten ukoliko razdiobe za sve tri skupine nisu bile normalne i ukoliko u svakoj skupini nije bilo više od 30 ispitanika. Ispitivanje statistički značajne razlike između tri skupine kvantitativnih nezavisnih (neparnih) podataka načinjeno je neparametrijskim Kruskal-Wallisovim testom. P-vrijednost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom i ukazivala je na postojanje razlike između skupina (79).

Za ispitivanje korelacije izračunat je Spearmanov koeficijent korelacije, s obzirom da su bili zadovoljeni uvjeti za njegovo korištenje (kvantitativne varijable od kojih neke imaju, a druge nemaju normalnu razdiobu). Koeficijent korelacije ( $r$ ) interpretiran je kao statistički značajan ukoliko je P-vrijednost bila manja od 0,05, a jačina povezanosti interpretirana je na način kako je opisano u Tablici 11. Predznak ispred koeficijenta govori jesu li varijable međusobno proporcionalne ( $r$  je pozitivan) ili obrnuto proporcionalne ( $r$  je negativan) (80).

**Tablica 11. Interpretacija koeficijenta korelacije.**

<b>Interpretacija</b>	<b>r</b>
Nema povezanosti	0 do 0,25 ili 0 do -0,25
Slaba povezanost	0,26 do 0,50 ili -0,26 do -0,50
Umjerena do dobra povezanost	0,51 do 0,75 ili -0,51 do -0,75
Vrlo dobra do izvrsna povezanost	0,76 do 1 ili -0,76 do -1

Za ispitivanje statistički značajne razlike između skupina kategoričkih podataka (genotipovi, aleli) nisu zadovoljeni uvjeti za korištenje hi-kvadrat testa zbog malog broja ispitanika u kategorijama te su kategorije regrupirane i korišten je Fisherov egzaktni test. P-vrijednost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom i ukazivala je na postojanje razlike između skupina. Za raspodjelu genotipova izračunat je i omjer izgleda (OR, engl. *odds ratio*) s pripadajućim 95% -tnim intervalom pouzdanosti (CI, engl. *confidence interval*).

Isti test je korišten i za ispitivanje Hardy-Weinbergove ravnoteže. Za svaki polimorfizam izračunate su očekivane frekvencije za pojedine genotipove. Fisherovim egzaktnim testom ispitano je postojanje statistički značajne razlike između očekivanih (izračunatih) frekvencija i frekvencija dobivenih u istraživanju. P-vrijednost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom i ukazivala je na postojanje razlike između očekivanih i dobivenih frekvencija te da raspodjela polimorfizma odstupa od Hardy-Weinbergove ravnoteže. P-vrijednost veća od 0,05 ukazivala je da nema razlike između očekivanih i dobivenih frekvencija te da raspodjela polimorfizma ne odstupa od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Podaci su prikupljeni i pohranjeni u programu Microsoft Excel Office 2003. Statističko testiranje provedeno je korištenjem programa Medcalc®, verzija 12.3.0.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija).

## 5 REZULTATI

### 5.1 Ispitanici

Demografske karakteristike zdravih muških ispitanika prikazane su u Tablici 12. Prekomjernu tjelesnu težinu ima 61 (60%) zdravi ispitanik, a 28 (27%) zdravih ispitanika zadovoljava kriterije za kategoriju pretilih osoba. U obiteljskoj anamnezi za kardiovaskularne bolesti, hipertenziju imaju 54 (53%) zdrava ispitanika.

**Tablica 12. Karakteristike zdravih muških ispitanika.**

<b>Parametar</b>	<b>Zdravi muški ispitanici</b>
<b>N</b>	102
<b>Dob</b> (godine)	58 (52 - 68)
<b>ITM</b> (kg/m <sup>2</sup> )	28,3 ± 3,8
<b>Opseg struka</b> (cm)	105 ± 9
<b>Opseg bokova</b> (cm)	109 ± 7
<b>w/h</b>	0,96 ± 0,05
<b>Pušači</b> , N (%)	35 (34)
<b>Obiteljska anamneza za šećernu bolest</b> , N (%)	13 (13)
<b>Obiteljska anamneza za kardiovaskularne bolesti</b>	
<b>Hipertenzija</b> , N (%)	54 (53)
<b>Akutni infarkt miokarda</b> , N (%)	24 (24)
<b>Moždani udar</b> , N (%)	16 (16)

Karakteristike kontrolne skupine ispitanika prikazane su u Tablici 13. Za kontrolnu skupinu ispitanika odabrano je 50 bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 (25 muškaraca i 25 žena). Prosječno trajanje bolesti bilo je 6 godina. Prekomjernu tjelesnu težinu ima 47/50 (94%) ispitanika kontrolne skupine. Mikrovaskularne dijabetičke komplikacije razvilo je 8/50 (16%)

ispitanika kontrolne skupine, a 25/50 (50%) ispitanika kontrolne skupine boluje od kardiovaskularnih bolesti. U anamnezi za kardiovaskularne bolesti, hipertenziju ima 20/50 (40%) ispitanika kontrolne skupine.

Ispitanici kontrolne skupine su prosječno 3 godine stariji od zdravih ispitanika ( $P < 0,001$ ).

**Tablica 13. Karakteristike kontrolne skupine ispitanika.**

<b>Parametar</b>	<b>Kontrolna skupina ispitanika</b>
<b>N</b>	50
<b>Spol</b> , muškarci, N/udio	25/0,50
<b>Dob</b> (godine)	61 (53 - 65)
<b>ITM</b> (kg/m <sup>2</sup> )	30,9 ± 5,8
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	8,7 ± 2,4
<b>HbA1c</b> (%)	7,4 ± 1,4
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	5,2 ± 1,0
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,8 (1,2 - 2,4)
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	1,28 ± 0,29
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	3,1 ± 0,9
<b>Trajanje bolesti</b> (godine)	6 (4 - 12)
<b>Terapija statinima</b> , N (%)	31 (62)
<b>Mikrovaskularne dijabetičke komplikacije</b> , N (%)	8 (16)
<b>Kardiovaskularne bolesti</b> , N (%)	25 (50)
<b>Arterijska hipertenzija</b> , N (%)	20 (40)
<b>Koronarna bolest</b> , N (%)	9 (18)
<b>Kronična bubrežna insuficijencija</b> , N (%)	6 (12)
<b>Ostale kardiovaskularne bolesti</b> , N (%)	8 (16)



## **5.2 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1**

### **5.2.1 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte prema referentnim i preporučenim vrijednostima**

Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a i ICAM-1 natašte u skupini zdravih ispitanika prema referentnim i preporučenim vrijednostima prikazane su u Tablici 14. Kod 39% zdravih ispitanika je koncentracija triglicerida natašte veća od preporučene vrijednosti. Koncentracija urata natašte je povećana kod 32% zdravih ispitanika, dok je koncentracija HbA1c povećana kod 51% zdravih ispitanika. Kod 75% zdravih ispitanika su koncentracije ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola natašte veće od preporučenih vrijednosti. Svi zdravi ispitanici imaju koncentraciju TAS-a iznad gornje granice referentnih vrijednosti. Niti jedan zdravi ispitanik nema povećanu koncentraciju ICAM-1 natašte, a 39% zdravih ispitanika ima koncentraciju ICAM-1 ispod donje granice referentnih vrijednosti. Niti jedan zdravi ispitanik nema koncentracije svih parametara natašte u granicama referentnih i preporučenih vrijednosti.

Koncentracije hsCRP-a natašte u skupini zdravih ispitanika svrstane su u kategorije prema relativnom riziku za kardiovaskularne bolesti (Tablica 15). Samo 28% zdravih ispitanika nema rizik za kardiovaskularne bolesti.

Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte kod zdravog ispitanika s izrazito povećanom koncentracijom triglicerida (19,3 mmol/L) prikazane su prema referentnim i preporučenim vrijednostima (Tablica 16). Pored izrazito povećane koncentracije triglicerida zdravi ispitanik ima značajno povećanu koncentraciju ukupnog kolesterola, dok je koncentracija urata povećana 10%, a koncentracija TAS-a je povećana 5%. Razlike u koncentracijama urata i TAS-a su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne. Zdravi ispitanik s izrazito povećanom koncentracijom triglicerida natašte ima visoki relativni rizik za kardiovaskularne bolesti (hsCRP 2,54 mg/L).

**Tablica 14. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a i ICAM-1 natašte u skupini zdravih ispitanika (N = 102) prema referentnim i preporučenim vrijednostima.**

<b>Parametar</b>	<b>Referentne i preporučene vrijednosti</b>	<b>U granicama referentnih i preporučenih vrijednosti N (%)</b>	<b>Iznad gornje granice referentnih i preporučenih vrijednosti N (%)</b>
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	4,4 - 6,4	91 (89)	11 (11)
<b>HbA1c</b> (%)	< 6,0	50 (49)	52 (51)
<b>Urati</b> ( $\mu$ mol/L)	182 - 403	69 (68)	33 (32)
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	< 5,0	25 (25)	77 (75)
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	< 1,7	62 (61)	40 (39)
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	> 1,0	95 (93)	7 (7)*
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	< 3,0	25 (25)	77 (75)
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,30 - 1,77	0	102 (100)
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	302 - 1115	62 (61)	40 (39)*

\*Koncentracija HDL-kolesterola i koncentracija ICAM-1 je ispod donje granice referentnih vrijednosti.

**Tablica 15. Koncentracije hsCRP-a natašte u skupini zdravih ispitanika (N = 102) svrstane u kategorije prema relativnom riziku za kardiovaskularne bolesti.**

<b>Relativni rizik</b>	<b>hsCRP</b>	<b>N (%)</b>
<b>Nizak rizik</b>	< 1,0 mg/L	29 (28)
<b>Srednji rizik</b>	1,0 - 3,0 mg/L	46 (46)
<b>Visoki rizik</b>	> 3,0 mg/L	27 (26)

**Tablica 16. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 kod zdravog ispitanika s izrazito povećanom koncentracijom triglicerida natašte.**

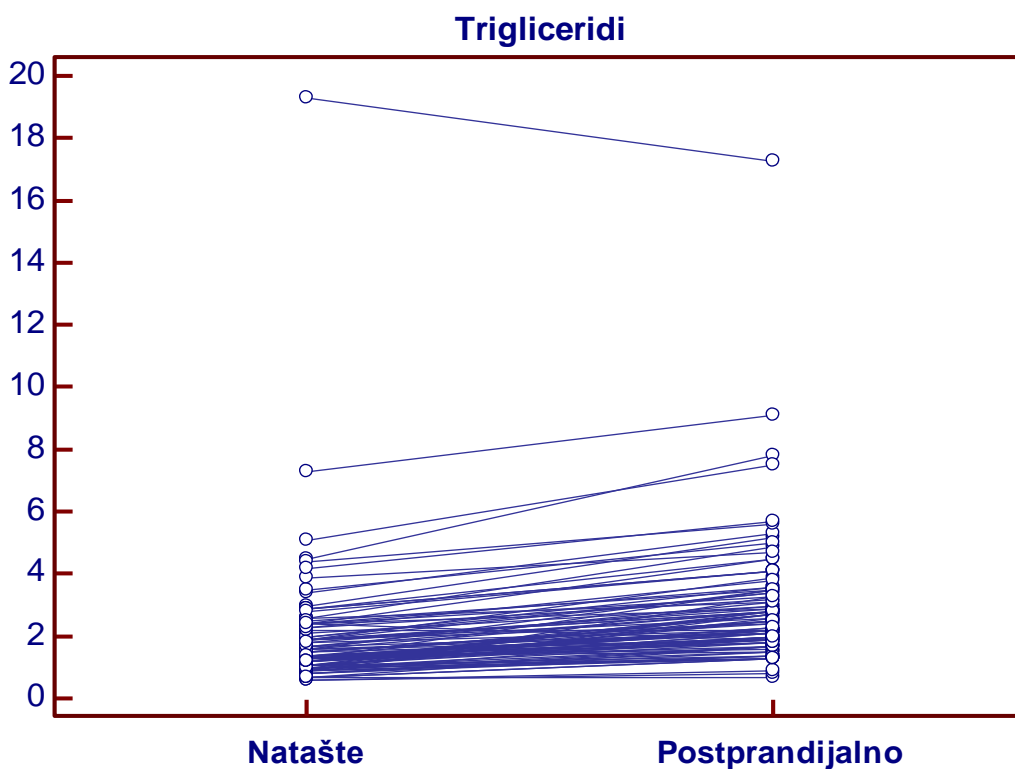
<b>Parametar</b>	<b>Referentne i preporučene vrijednosti</b>	<b>Zdravi ispitanik natašte</b>
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	4,4 - 6,4	4,9
<b>HbA1c</b> (%)	< 6,0	5,7
<b>Urati</b> ( $\mu$ mol/L)	182 - 403	<b>442</b>
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	< 5,0	<b>10,8</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	< 1,7	<b>19,3</b>
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	> 1,0	1,1
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	< 3,0	2,4
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,30 - 1,77	<b>1,85</b>
<b>hsCRP</b> (mg/L)	< 3,0	2,54
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	302 - 1115	478

### **5.2.2 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno**

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika prikazane su u Tablici 17. Zdravi ispitanici imaju prosječno 65% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte (Slika 11). Prosječno povećanje koncentracije triglicerida postprandijalno je  $1,0 \pm 0,7$  mmol/L. Razlike u koncentracijama glukoze ( $P = 0,017$ ), urata ( $P < 0,001$ ), HDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) i LDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) s obzirom na vrijeme uzorkovanja su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 17. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102).**

Parametar	Natašte N = 102	Postprandijalno N = 102	P
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	5,8 ± 0,5	5,6 ± 0,8	<b>0,017</b>
<b>HbA1c</b> (%)	5,9 ± 0,3	/	/
<b>Urati</b> (μmol/L)	372 ± 82	368 ± 82	<b>&lt;0,001</b>
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	6,0 ± 1,1	5,9 ± 1,1	0,087
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,4 (1,1 - 2,1)	2,4 (1,9 - 3,3)	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,4)	<b>&lt;0,001</b>
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	4,0 ± 1,0	3,8 ± 1,0	<b>&lt;0,001</b>



**Slika 11. Usporedba koncentracije triglicerida natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102).**

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika prikazane su u Tablici 18. Premda se koncentracije TAS-a ( $P < 0,001$ ) i ICAM-1 ( $P < 0,001$ ) natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika statistički razlikuju, razlike nisu klinički značajne i njihova statistička značajnost nije uzeta u obzir. Statistička obrada rezultata za koncentracije hsCRP-a natašte kod zdravih ispitanika svrstane u kategorije prema relativnom riziku za kardiovaskularne bolesti nije prikazana. Zdravi ispitanici koji prema koncentraciji hsCRP-a natašte imaju nizak rizik za kardiovaskularne bolesti ostali su u istoj kategoriji i nakon određivanja koncentracije hsCRP-a postprandijalno.

**Tablica 18. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102).**

<b>Parametar</b>	<b>Natašte N = 102</b>	<b>Postprandijalno N = 102</b>	<b>P</b>
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,82 ± 0,02	1,83 ± 0,03	<b>&lt;0,001</b>
<b>hsCRP</b> (mg/L)	1,72 (0,88 - 3,04)	1,64 (0,90 - 3,03)	0,080
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	301 ± 84	269 ± 84	<b>&lt;0,001</b>

Koeficijenti korelacije između biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte te antropometrijskih mjerenja u skupini zdravih ispitanika prikazani su u Tablici 19, a postprandijalno su prikazani u Tablici 20.

U skupini zdravih ispitanika natašte pronađena je slaba povezanost između koncentracije hsCRP-a i koncentracije TAS-a, između koncentracije hsCRP-a i koncentracije urata, između koncentracije urata i koncentracije TAS-a, između koncentracije urata i koncentracije triglicerida, između koncentracije hsCRP-a i ITM, između koncentracije hsCRP-a i w/h, između koncentracije urata i ITM, između koncentracije urata i opsega bokova te između koncentracije urata i opsega struka.

U skupini zdravih ispitanika postprandijalno nisu prisutne značajne promjene u koeficijentima korelacije između biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-, ICAM-1 i antropometrijskih mjerenja u odnosu na vrijednosti natašte.

**Tablica 19. Korelacije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte te antropometrijskih mjerenja u skupini zdravih ispitanika (N = 102).**

		ITM	Glukoza	HbA1c	HDL-kolesterol	hsCRP	ICAM-1	LDL-kolesterol	Opseg bokova	Opseg struka	TAS	Trigliceridi	Ukupni kolesterol	Urati
Glukoza	r P	0,14 0,169												
HbA1c	r P	<b>0,28</b> <b>0,005</b>	<b>0,29</b> <b>0,004</b>											
HDL-kolesterol	r P	-0,10 0,298	-0,21 0,039	-0,20 0,043										
hsCRP	r P	<b>0,42</b> <b>&lt;0,001</b>	0,15 0,136	0,19 0,055	-0,23 0,022									
ICAM-1	r P	0,14 0,155	-0,11 0,296	0,11 0,291	-0,18 0,066	0,16 0,103								
LDL-kolesterol	r P	-0,09 0,364	0,07 0,462	0,21 0,036	0,09 0,384	0,05 0,609	-0,09 0,387							
Opseg bokova	r P	<b>0,82</b> <b>&lt;0,001</b>	0,17 0,082	0,21 0,033	-0,08 0,421	<b>0,29</b> <b>0,004</b>	0,17 0,093	0,02 0,826						
Opseg struka	r P	<b>0,86</b> <b>&lt;0,001</b>	0,17 0,085	<b>0,35</b> <b>&lt;0,001</b>	-0,14 0,151	<b>0,38</b> <b>&lt;0,001</b>	0,17 0,097	-0,05 0,595	<b>0,84</b> <b>&lt;0,001</b>					
TAS	r P	0,18 0,069	0,09 0,379	-0,15 0,128	0,02 0,855	<b>0,30</b> <b>0,002</b>	-0,21 0,034	-0,02 0,846	0,13 0,200	0,13 0,205				
Trigliceridi	r P	0,25 0,011	0,19 0,059	0,24 0,016	<b>-0,31</b> <b>0,002</b>	0,13 0,210	0,11 0,286	0,11 0,282	0,17 0,087	0,17 0,088	0,10 0,304			
Ukupni kolesterol	r P	-0,01 0,904	0,02 0,808	0,15 0,143	0,20 0,043	0,06 0,553	-0,09 0,352	<b>0,87</b> <b>&lt;0,001</b>	0,056 0,576	-0,02 0,834	0,12 0,215	<b>0,30</b> <b>0,003</b>		
Urati	r P	<b>0,38</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,26</b> <b>0,009</b>	0,08 0,448	-0,06 0,567	<b>0,30</b> <b>0,003</b>	0,06 0,566	-0,05 0,656	<b>0,36</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,34</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,46</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,44</b> <b>&lt;0,001</b>	0,13 0,195	
w/h	r P	<b>0,50</b> <b>&lt;0,001</b>	0,06 0,583	<b>0,33</b> <b>&lt;0,001</b>	-0,13 0,201	<b>0,29</b> <b>0,004</b>	0,12 0,224	-0,19 0,063	<b>0,26</b> <b>0,010</b>	<b>0,71</b> <b>&lt;0,001</b>	0,07 0,466	0,11 0,295	-0,17 0,092	0,16 0,110

**Tablica 20. Korelacije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u skupini zdravih ispitanika (N = 102).**

		ITM	Glukoza	HbA1c	HDL-kolesterol	hsCRP	ICAM-1	LDL-kolesterol	Opseg bokova	Opseg struka	TAS	Trigliceridi	Ukupni kolesterol	Urati
Glukoza	r P	0,09 0,372												
HbA1c	r P	<b>0,28</b> <b>0,005</b>	0,25 0,011											
HDL-kolesterol	r P	-0,11 0,265	-0,01 0,936	-0,18 0,078										
hsCRP	r P	<b>0,39</b> <b>&lt;0,001</b>	0,08 0,452	0,19 0,061	-0,18 0,069									
ICAM-1	r P	0,05 0,651	-0,17 0,091	0,12 0,243	-0,09 0,378	0,13 0,178								
LDL-kolesterol	r P	-0,06 0,547	-0,12 0,215	0,20 0,041	0,15 0,144	0,07 0,482	-0,06 0,538							
Opseg bokova	r P	<b>0,82</b> <b>&lt;0,001</b>	0,03 0,797	0,21 0,033	-0,07 0,462	<b>0,26</b> <b>0,007</b>	0,02 0,840	0,05 0,601						
Opseg struka	r P	<b>0,86</b> <b>&lt;0,001</b>	0,05 0,620	<b>0,35</b> <b>&lt;0,001</b>	-0,15 0,146	<b>0,34</b> <b>&lt;0,001</b>	0,03 0,762	-0,03 0,744	<b>0,84</b> <b>&lt;0,001</b>					
TAS	r P	0,25 0,012	0,17 0,092	-0,06 0,573	-0,08 0,425	<b>0,34</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>-0,33</b> <b>&lt;0,001</b>	0,01 0,927	0,19 0,060	0,19 0,051				
Trigliceridi	r P	0,25 0,012	0,01 0,960	0,23 0,021	<b>-0,37</b> <b>&lt;0,001</b>	0,23 0,021	0,04 0,724	0,07 0,511	0,18 0,074	<b>0,26</b> <b>0,007</b>	0,13 0,196			
Ukupni kolesterol	r P	0,01 0,934	-0,18 0,069	0,17 0,090	0,23 0,020	0,08 0,441	-0,10 0,306	<b>0,87</b> <b>&lt;0,001</b>	0,10 0,306	0,00 0,997	0,10 0,316	0,20 0,041		
Urati	r P	<b>0,38</b> <b>&lt;0,001</b>	0,05 0,623	0,10 0,321	-0,07 0,508	<b>0,31</b> <b>0,001</b>	0,02 0,868	-0,03 0,755	<b>0,33</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,33</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,43</b> <b>&lt;0,001</b>	<b>0,42</b> <b>&lt;0,001</b>	0,14 0,161	
w/h	r P	<b>0,50</b> <b>&lt;0,001</b>	0,08 0,456	<b>0,33</b> <b>&lt;0,001</b>	-0,15 0,131	0,25 0,012	0,09 0,355	-0,20 0,047	<b>0,26</b> <b>0,010</b>	<b>0,71</b> <b>&lt;0,001</b>	0,09 0,389	0,24 0,017	-0,19 0,061	0,17 0,080

### **5.2.3 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema preporučenoj vrijednosti triglicerida**

Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika u odnosu na preporučenu vrijednost triglicerida natašte prikazane su u Tablici 21.

Koncentracija urata se razlikuje između zdravih ispitanika podijeljenih u podskupine obzirom na preporučenu vrijednost triglicerida natašte. Zdravi ispitanici s koncentracijom triglicerida  $\geq 1,7$  mmol/L natašte imaju prosječno 14% ( $P = 0,002$ ) veću koncentraciju urata natašte i postprandijalno u odnosu na zdrave ispitanike s koncentracijom triglicerida  $< 1,7$  mmol/L natašte.

Koncentracija triglicerida postprandijalno se razlikuje između zdravih ispitanika u odnosu na preporučenu vrijednost triglicerida natašte. Zdravi ispitanici s koncentracijom triglicerida  $\geq 1,7$  mmol/L natašte imaju prosječno 80% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na zdrave ispitanike s koncentracijom triglicerida  $< 1,7$  mmol/L natašte.

Razlike u koncentracijama HbA1c ( $P = 0,019$ ), ukupnog kolesterola natašte ( $P = 0,010$ ) i postprandijalno ( $P = 0,012$ ) te HDL-kolesterola natašte ( $P = 0,009$ ) i postprandijalno ( $P = 0,020$ ) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.



**Tablica 21. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na preporučenu vrijednost triglicerida natašte.**

Parametar	Trigliceridi ( $< 1,7$ mmol/L) N = 62	Trigliceridi ( $\geq 1,7$ mmol/L) N = 40	P
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,7 ± 0,5	5,9 ± 0,5	0,071
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 ± 0,8	5,7 ± 1,0	0,332
<b>HbA1c</b> (%)	5,9 ± 0,4	6,1 ± 0,3	<b>0,019</b>
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	353 ± 75	403 ± 83	<b>0,002</b>
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	348 ± 75	398 ± 83	<b>0,002</b>
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,7 ± 1,1	6,3 ± 1,1	<b>0,010</b>
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,7 ± 1,1	6,2 ± 1,1	<b>0,012</b>
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,0 (1,6 - 2,4)	3,6 (2,9 - 4,8)	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,4 ± 0,3	1,2 ± 0,3	<b>0,009</b>
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,5)	1,1 (1,0 - 1,3)	<b>0,020</b>
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	3,9 ± 1,0	4,1 ± 1,0	0,384
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,7 ± 1,0	4,0 ± 0,9	0,264
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 ± 0,02	1,83 ± 0,02	0,408
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 ± 0,03	1,84 ± 0,03	0,302
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,24 (0,86 - 2,80)	2,36 (1,15 - 3,57)	0,067
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,25 (0,89 - 2,54)	2,34 (1,10 - 3,62)	0,069
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	296 ± 77	309 ± 94	0,429
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	265 ± 77	275 ± 94	0,560

## **5.2.4 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema ITM**

Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika podijeljenih u podskupine obzirom na ITM prikazane su u Tablici 22.

Koncentracija urata se razlikuje između zdravih ispitanika s različitim vrijednostima ITM. Zdravi ispitanici s prekomjernom tjelesnom težinom imaju prosječno 25% ( $P = 0,003$ ) veću koncentraciju urata, a pretili zdravi ispitanici imaju prosječno 39% ( $P = 0,003$ ) veću koncentraciju urata natašte u odnosu na zdrave ispitanike s normalnom tjelesnom težinom. U postprandijalnom stanju, zdravi ispitanici s prekomjernom tjelesnom težinom imaju prosječno 19% ( $P = 0,003$ ) veću koncentraciju urata, a pretili zdravi ispitanici imaju prosječno 31% ( $P = 0,003$ ) veću koncentraciju urata u usporedbi sa zdravim ispitanicima s normalnom tjelesnom težinom.

Koncentracija hsCRP-a se razlikuje između zdravih ispitanika s različitim vrijednostima ITM. Zdravi ispitanici s prekomjernom tjelesnom težinom imaju prosječno 49% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju hsCRP-a, a pretili zdravi ispitanici imaju prosječno 96% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju hsCRP-a natašte u odnosu na zdrave ispitanike s normalnom tjelesnom težinom. Zdravi ispitanici s prekomjernom tjelesnom težinom imaju prosječno 46% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju hsCRP-a, a pretili zdravi ispitanici imaju prosječno 86% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju hsCRP-a postprandijalno u odnosu na zdrave ispitanike s normalnom tjelesnom težinom.

Razlike u koncentracijama HbA1c ( $P = 0,022$ ) i TAS-a ( $P = 0,018$ ) postprandijalno su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

Koncentracije hsCRP-a natašte u skupini zdravih ispitanika u odnosu na ITM prikazane su u Tablici 23. Srednji relativni rizik ima 46% zdravih ispitanika s prekomjernom tjelesnom težinom i 46% pretilih zdravih ispitanika, dok visoki relativni rizik za kardiovaskularne bolesti ima 23% zdravih ispitanika s prekomjernom tjelesnom težinom i 46% pretilih zdravih ispitanika.

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika s normalnom tjelesnom težinom i s koncentracijom triglicerida ispod granične preporučene vrijednosti prikazane su u Tablici 24. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika s

normalnom tjelesnom težinom i s koncentracijom triglicerida ispod granične preporučene vrijednosti.

**Tablica 22. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na ITM.**

Parametar	ITM ( $< 25,0 \text{ kg/m}^2$ ) N = 13	ITM ( $25,0 - 29,9 \text{ kg/m}^2$ ) N = 61	ITM ( $\geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ ) N = 28	P
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,6 (5,5 - 6,2)	5,7 (5,5 - 6,1)	6,0 (5,5 - 6,4)	0,163
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 (5,1 - 6,5)	5,4 (5,0 - 5,9)	5,7 (5,3 - 6,2)	0,171
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,6 - 6,1)	5,9 (5,7 - 6,1)	6,1 (5,9 - 6,3)	<b>0,022</b>
<b>Urati,</b> natašte ( $\mu\text{mol/L}$ )	288 (253 - 365)	359 (331 - 425)	399 (358 - 445)	<b>0,003</b>
<b>Urati,</b> postprandijalno ( $\mu\text{mol/L}$ )	295 (244 - 363)	351 (321 - 420)	386 (359 - 447)	<b>0,003</b>
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,4 - 7,0)	5,9 (4,9 - 6,6)	6,2 (5,3 - 6,7)	0,838
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	6,0 (5,5 - 6,9)	5,9 (4,9 - 6,5)	6,2 (5,2 - 6,6)	0,723
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,2 (1,0 - 1,4)	1,5 (1,0 - 2,4)	1,6 (1,2 - 2,3)	0,062
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,1 (1,3 - 2,4)	2,5 (1,9 - 3,4)	2,8 (1,9 - 3,9)	0,070
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,5 (1,2 - 1,6)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,3 (1,1 - 1,5)	0,222
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,4 (1,2 - 1,6)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,2 (1,1 - 1,4)	0,101
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,1 (3,4 - 5,0)	4,0 (3,0 - 4,7)	4,2 (3,4 - 4,6)	0,718
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (3,3 - 4,7)	3,8 (2,8 - 4,5)	4,0 (3,2 - 4,4)	0,747
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,81 (1,80 - 1,82)	1,82 (1,81 - 1,84)	1,83 (1,82 - 1,84)	0,099
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,83)	1,83 (1,81 - 1,84)	1,85 (1,82 - 1,87)	<b>0,018</b>
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	0,93 (0,56 - 1,04)	1,39 (0,84 - 2,89)	2,75 (1,96 - 4,53)	<b>&lt;0,001</b>
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	0,92 (0,56 - 1,03)	1,34 (0,88 - 2,89)	2,63 (1,86 - 4,48)	<b>&lt;0,001</b>
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	249 (208 - 283)	290 (241 - 353)	289 (261 - 352)	0,074
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	235 (200 - 279)	274 (212 - 307)	238 (202 - 322)	0,661

**Tablica 23. Koncentracije hsCRP-a natašte u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na ITM.**

hsCRP	ITM ( $< 25,0 \text{ kg/m}^2$ ) N = 13	ITM ( $25,0 - 29,9 \text{ kg/m}^2$ ) N = 61	ITM ( $\geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ ) N = 28
$< 1,0 \text{ mg/L}$ , N/udio	8/0,62	19/0,31	2/0,02
$1,0 - 3,0 \text{ mg/L}$ , N/udio	5/0,38	28/0,46	13/0,46
$> 3,0 \text{ mg/L}$ , N/udio	0	14/0,23	13/0,46

**Tablica 24. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika s normalnom tjelesnom težinom i s koncentracijom triglicerida ispod granične preporučene vrijednosti (N = 11).**

Parametar	Natašte N = 11	Postprandijalno N = 11	P
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,81 (1,80 - 1,83)	1,82 (1,81 - 1,83)	0,063
<b>hsCRP</b> (mg/L)	0,93 (0,64 - 1,02)	0,92 (0,64 - 1,04)	0,695
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	270 (193 - 286)	235 (192 - 295)	0,465

### **5.2.5 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema pušačkom statusu**

Koncentracije biokemijskih parametara, biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika prema pušačkom statusu prikazane su u Tablici 25. Pušači i nepušači se ne razlikuju u koncentracijama biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1.

**Tablica 25. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) prema pušačkom statusu.**

<b>Parametar</b>	<b>Nepušači N = 67</b>	<b>Pušači N = 35</b>	<b>P</b>
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 ± 0,5	5,7 ± 0,5	0,296
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,7 ± 0,9	5,4 ± 0,6	0,062
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 ± 0,3	6,0 ± 0,4	0,974
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	367 ± 86	384 ± 73	0,327
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	363 ± 86	378 ± 73	0,377
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	6,0 ± 1,2	5,9 ± 1,0	0,713
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,9 ± 1,2	5,9 ± 0,9	0,846
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,4 (1,0 - 2,3)	1,5 (1,2 - 2,0)	0,626
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,4 (1,8 - 3,5)	2,3 (1,9 - 3,3)	0,698
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,3	0,098
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,0 - 1,4)	0,444
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 ± 1,0	4,0 ± 1,0	0,900
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,8 ± 1,0	3,8 ± 0,8	0,981
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 ± 0,02	1,82 ± 0,02	0,920
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 ± 0,03	1,84 ± 0,03	0,331
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,45 (0,78 - 2,85)	2,12 (0,99 - 3,74)	0,096
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,32 (0,75 - 2,92)	1,92 (0,95 - 3,56)	0,107
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	293 ± 78	317 ± 93	0,177
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	264 ± 79	280 ± 94	0,376

## **5.2.6 Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno prema obiteljskoj anamnezi**

Razlike u koncentracijama biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika u odnosu na obiteljsku anamnezu za kardiovaskularne bolesti prikazane su u Tablici 26 za šećernu bolest, u Tablici 27 za hipertenziju, u Tablici 28 za akutni infarkt miokarda i u Tablici 29 za moždani udar.

Ne postoji statistički značajna razlika između koncentracija biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika s obzirom na obiteljsku anamnezu za šećernu bolest.

Koncentracija triglicerida postprandijalno je prosječno 29% ( $P = 0,016$ ) veća kod zdravih ispitanika s pozitivnom obiteljskom anamnezom za hipertenziju u odnosu na zdrave ispitanike s negativnom obiteljskom anamnezom za hipertenziju. Zdravi ispitanici s pozitivnom obiteljskom anamnezom za hipertenziju imaju prosječno 10% veću koncentraciju urata natašte ( $P = 0,022$ ) i postprandijalno ( $P = 0,023$ ) u odnosu na zdrave ispitanike s negativnom obiteljskom anamnezom za hipertenziju. Razlike u koncentraciji urata su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

Zdravi ispitanici s pozitivnom obiteljskom anamnezom za akutni infarkt miokarda imaju prosječno 46% ( $P = 0,004$ ) veću koncentraciju triglicerida natašte i 27% ( $P = 0,039$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na zdrave ispitanike s negativnom obiteljskom anamnezom za akutni infarkt miokarda. Razlike u koncentracijama urata natašte ( $P = 0,047$ ) i TAS-a postprandijalno ( $P = 0,032$ ) kod zdravih ispitanika s obzirom na obiteljsku anamnezu za akutni infarkt miokarda su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

Razlike u koncentracijama ukupnog kolesterola natašte ( $P = 0,008$ ) i postprandijalno ( $P = 0,041$ ) i razlike u koncentracijama LDL-kolesterola natašte ( $P = 0,012$ ) i postprandijalno ( $P = 0,016$ ) u skupini zdravih ispitanika s obzirom na obiteljsku anamnezu za moždani udar su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 26. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na obiteljsku anamnezu za šećernu bolest.**

Parametar	Šećerna bolest		P
	NE N = 89	DA N = 13	
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	6,1 (5,5 - 6,2)	0,275
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 (5,1 - 6,1)	5,3 (5,1 - 6,0)	0,849
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,8 - 6,2)	5,9 (5,6 - 6,1)	0,569
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	365 (329 - 431)	344 (326 - 392)	0,473
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	362 (321 - 426)	335 (324 - 377)	0,380
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,9 (5,3 - 6,6)	5,7 (4,7 - 6,7)	0,517
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	6,0 (5,1 - 6,5)	5,5 (4,7 - 6,7)	0,634
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,4 (1,1 - 2,2)	1,2 (1,1 - 2,0)	0,303
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,5 (1,9 - 3,4)	1,8 (1,5 - 2,6)	0,070
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,3 (1,2 - 1,5)	0,632
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,2 (1,1 - 1,5)	0,589
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 (3,1 - 4,7)	3,7 (3,1 - 4,8)	0,912
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (3,0 - 4,4)	3,5 (2,9 - 4,6)	0,932
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,84)	1,82 (1,81 - 1,83)	0,879
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,84 (1,82 - 1,87)	0,191
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,59 (0,88 - 3,05)	2,00 (0,91 - 3,24)	0,741
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,54 (0,92 - 2,98)	1,87 (0,85 - 3,77)	0,744
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	287 (242 - 351)	281 (253 - 325)	0,767
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	257 (212 - 313)	242 (196 - 303)	0,473

**Tablica 27. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na obiteljsku anamnezu hipertenzije.**

Parametar	Hipertenzija		P
	NE N = 48	DA N = 54	
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 ± 0,4	5,8 ± 0,6	0,326
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 ± 0,9	5,6 ± 0,8	0,536
<b>HbA1c</b> (%)	5,9 ± 0,4	6,0 ± 0,3	0,280
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	353 ± 63	390 ± 92	<b>0,022</b>
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	349 ± 63	385 ± 92	<b>0,023</b>
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,9 ± 1,0	6,0 ± 1,2	0,700
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,9 ± 1,0	5,9 ± 1,2	0,981
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,4 (1,0 - 1,8)	1,6 (1,2 - 2,4)	0,055
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,1 (1,6 - 2,9)	2,7 (2,1 - 3,5)	<b>0,016</b>
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,2	0,852
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,4)	0,954
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 ± 1,0	4,0 ± 1,0	0,890
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,8 ± 0,9	3,8 ± 1,0	0,958
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 ± 0,02	1,83 ± 0,02	0,204
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 ± 0,03	1,84 ± 0,03	0,155
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,33 (0,87 - 2,90)	1,81 (0,97 - 3,21)	0,357
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,33 (0,90 - 2,90)	1,78 (0,92 - 3,33)	0,429
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	297 ± 85	305 ± 83	0,640
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	268 ± 90	271 ± 79	0,847



**Tablica 28. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na obiteljsku anamnezu za akutni infarkt miokarda.**

Parametar	Akutni infarkt miokarda		P
	NE N = 78	DA N = 24	
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,7 (5,5 - 6,2)	5,9 (5,6 - 6,2)	0,434
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 (5,1 - 6,1)	5,6 (5,2 - 5,9)	0,928
<b>HbA1c</b> (%)	5,9 (5,7 - 6,2)	6,0 (5,8 - 6,3)	0,330
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	355 (323 - 405)	383 (350 - 456)	<b>0,047</b>
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	356 (320 - 397)	369 (345 - 447)	0,088
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (4,9 - 6,6)	6,2 (5,5 - 6,9)	0,157
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,9 (4,9 - 6,5)	6,2 (5,5 - 6,8)	0,117
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,9)	1,9 (1,4 - 2,9)	<b>0,004</b>
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,2 (1,8 - 3,1)	2,8 (2,2 - 4,5)	<b>0,039</b>
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,2 - 1,5)	1,3 (1,1 - 1,4)	0,381
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,2 (1,0 - 1,5)	0,595
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 (3,0 - 4,7)	4,1 (3,2 - 4,8)	0,693
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (2,9 - 4,4)	4,0 (3,0 - 4,8)	0,470
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,83)	1,83 (1,81 - 1,85)	0,282
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,84 (1,82 - 1,88)	<b>0,032</b>
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,63 (0,87 - 3,15)	1,96 (0,93 - 2,78)	0,804
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,51 (0,92 - 3,17)	1,78 (0,90 - 2,78)	0,881
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	286 (240 - 353)	290 (258 - 335)	0,699
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	261 (200 - 310)	251 (212 - 305)	0,956

**Tablica 29. Koncentracije biokemijskih parametara, TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u skupini zdravih ispitanika (N = 102) u odnosu na obiteljsku anamnezu za moždani udar.**

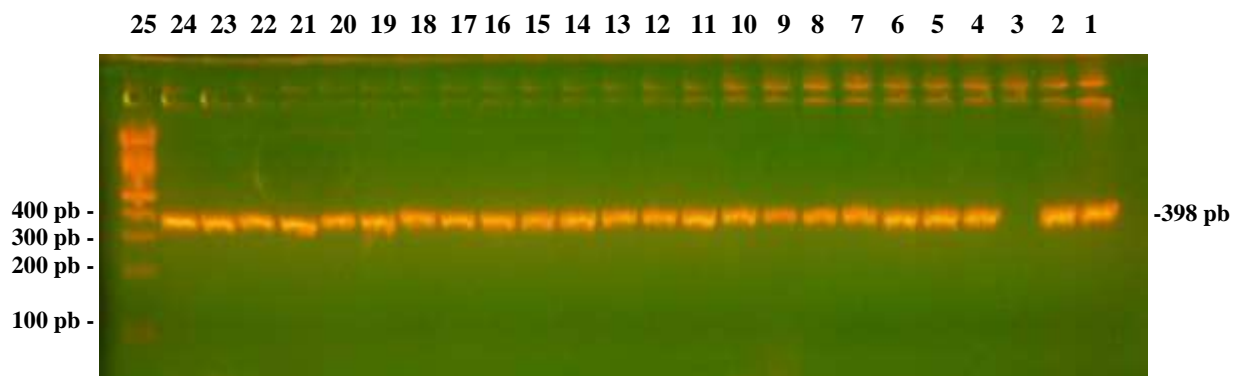
Parametar	Moždani udar		P
	NE N = 86	DA N = 16	
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	5,8 (5,3 - 6,3)	0,404
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 (5,1 - 6,1)	5,4 (5,3 - 5,7)	0,387
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,8 - 6,2)	6,0 (5,8 - 6,1)	0,810
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	364 (333 - 423)	371 (322 - 440)	0,854
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	362 (320 - 421)	359 (326 - 452)	0,709
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	6,1 (5,3 - 6,7)	5,2 (4,6 - 6,1)	<b>0,008</b>
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	6,0 (5,3 - 6,7)	5,3 (4,6 - 6,3)	<b>0,041</b>
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,4 (1,1 - 2,1)	1,4 (1,1 - 2,2)	1,000
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,5 (1,9 - 3,4)	2,2 (1,9 - 3,0)	0,632
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,3 (1,2 - 1,5)	0,831
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,3 (1,1 - 1,5)	0,875
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,2 (3,5 - 4,7)	3,0 (2,9 - 4,1)	<b>0,012</b>
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (3,3 - 4,6)	3,0 (2,7 - 4,0)	<b>0,016</b>
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,84)	1,82 (1,81 - 1,83)	0,900
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,82 (1,81 - 1,86)	0,753
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,78 (0,93 - 2,91)	1,24 (0,74 - 4,35)	0,840
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,71 (0,95 - 2,94)	1,27 (0,71 - 4,43)	0,800
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	287 (245 - 351)	277 (235 - 345)	0,783
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	252 (207 - 310)	279 (218 - 307)	0,479

## 5.3 Analiza gena

### 5.3.1 Gen za APOA5

#### 5.3.1.1 Kontrola kvalitete lančane reakcije polimerazom

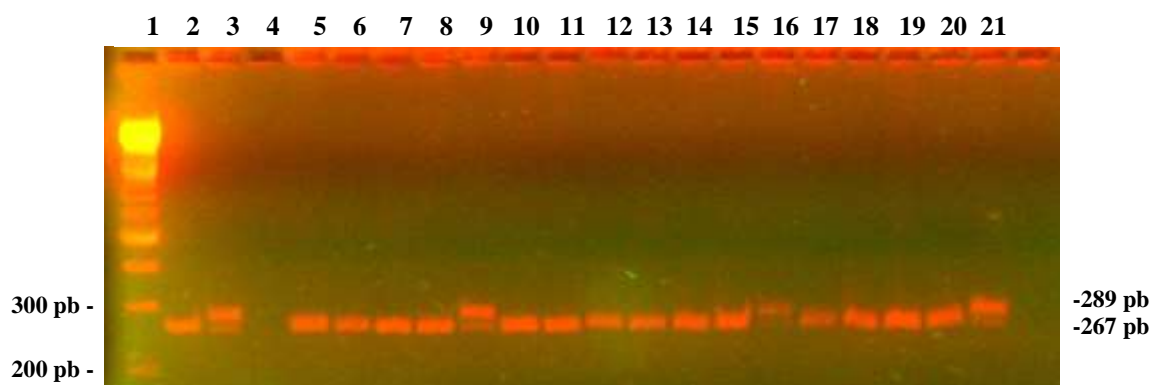
Provjera kvalitete PCR produkta za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 u skupini zdravih ispitanika i u kontrolnoj skupini ispitanika prikazana je na Slici 12. Dobro umnoženi PCR odsječak je veličine 398 pb.



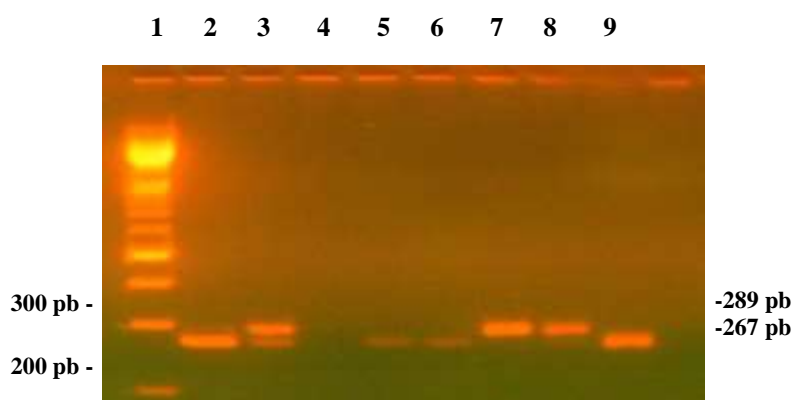
**Slika 12.** Provjera uspješnosti umnažanja za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5. Uzorci 1-3 su kontrolni uzorci; uzorci 4-24 su uzorci zdravih ispitanika; uzorak 25 je biljeg od 100 pb.

#### 5.3.1.2 Analiza polimorfizma duljine restrikcijskih odsječaka

Polimorfizam duljine restrikcijskih odsječaka nakon cijepanja PCR produkta s restrikcijskom endonukleazom *MseI* za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 u skupini zdravih ispitanika prikazan je na Slici 13, a u kontrolnoj skupini ispitanika na Slici 14.



**Slika 13. Polimorfizam duljine restrikcijskih odsječaka za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5. Uzorak 1 je biljeg od 100 pb; uzorci 2-4 su kontrolni uzorci; uzorci 5-8, 10-15 i 17-20 su T/T genotip; uzorci 9, 16 i 21 su T/C genotip.**



**Slika 14. Polimorfizam duljine restrikcijskih odsječaka za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5. Uzorak 1 je biljeg od 100 pb; uzorci 2-4 su kontrolni uzorci; uzorci 5, 6 i 9 su T/T genotip; uzorci 7 i 8 su C/C genotip.**

### 5.3.1.3 Frekvencije polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5

Rezultati genotipizacije polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 su dostupni za 100 od ukupno 102 zdrava ispitanika, jer zbog tehničke pogreške nije bilo moguće očitati rezultate genotipiziranja za dva uzorka.

Frekvencije genotipova i alela za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 u skupini zdravih ispitanika i u kontrolnoj skupini ispitanika prikazane su u Tablici 30.

Raspodjela frekvencija polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 u skupini zdravih ispitanika ( $P = 0,834$ ) i u kontrolnoj skupini ispitanika ( $P = 1,000$ ) nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Raspodjela genotipova polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 i raspodjela alela T i C nije se razlikovala između skupine zdravih ispitanika i kontrolne skupine ispitanika.

**Tablica 30. Frekvencije genotipova i alela za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 u skupini zdravih ispitanika (N = 100) i u kontrolnoj skupini ispitanika (N = 50).**

<b>Genotip / Alel</b>	<b>Skupina zdravih ispitanika</b>	<b>Kontrolna skupina ispitanika</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>T/T (wt/wt) , N/udio</b>	88/0,88	44/0,88	1,00	
<b>T/C (wt/mut), N/udio</b>	9/0,09	6/0,12	(0,35 - 2,84)	1,000
<b>C/C (mut/mut), N/udio</b>	3/0,03	0		
<b>T (wt), N/udio</b>	185/0,93	94/0,94	1,27	0,811
<b>C (mut), N/udio</b>	15/0,07	6/0,06	(0,48 - 3,38)	

## 5.3.2 Gen za jetrenu lipazu

### 5.3.2.1 Frekvencije polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu

Rezultati genotipizacije polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu su dostupni za 101 od ukupno 102 zdrava ispitanika uključena u istraživanje, jer zbog tehničke pogreške nije bilo moguće očitati rezultate genotipiziranja za jedan uzorak.

Frekvencije genotipova i alela za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu u skupini zdravih ispitanika i u kontrolnoj skupini ispitanika prikazane su u Tablici 31.

Raspodjela frekvencija polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu u skupini zdravih ispitanika ( $P = 1,000$ ) i u kontrolnoj skupini ispitanika ( $P = 1,000$ ) nije odstupala od Hardy-Weinbergove ravnoteže.

Raspodjela genotipova polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu i raspodjela alela G i A nije se razlikovala između skupine zdravih ispitanika i kontrolne skupine ispitanika.

**Tablica 31. Frekvencije genotipova i alela za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu u skupini zdravih ispitanika (N = 101) i u kontrolnoj skupini ispitanika (N = 50).**

<b>Genotip / Alel</b>	<b>Skupina zdravih ispitanika</b>	<b>Kontrolna skupina ispitanika</b>	<b>OR (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>G/G (wt/wt), N/udio</b>	71/0,70	30/0,60	0,63	
<b>G/A (wt/mut), N/udio</b>	26/0,26	18/0,36	(0,31- 1,29)	0,270
<b>A/A (mut/mut), N/udio</b>	4/0,04	2/0,04		
<b>G (wt), N/udio</b>	168/0,83	78/0,78	0,72	0,276
<b>A (mut), N/udio</b>	34/0,17	22/0,22	(0,39 - 1,31)	

### 5.3.3 Kombinacije frekvencija polimorfizama

Kombinacije frekvencija genotipova za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 i polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu u skupini zdravih ispitanika prikazane su u Tablici 32, a u kontrolnoj skupini ispitanika su prikazane u Tablici 33. Genotip divljeg tipa za oba polimorfizma ima 61% zdravih ispitanika, 1% zdravih ispitanika je nositelj jednog polimorfnog alela za oba polimorfizma, a niti jedan zdravi ispitanik nije homozigot za oba polimorfizma. Genotip divljeg tipa za oba polimorfizma ima 52% ispitanika kontrolne skupine, a niti jedan ispitanik kontrolne skupine nije nositelj jednog ili oba polimorfna alela za oba polimorfizma.

**Tablica 32. Kombinacije frekvencija genotipova za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 i za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu u skupini zdravih ispitanika (N = 100).**

Genotip za jetrenu lipazu	Genotip za APOA5		
	Divlji tip N (%)	Heterozigot N (%)	Homozigot N (%)
Divlji tip, N (%)	61 (61)	6 (6)	3 (3)
Heterozigot, N (%)	25 (25)	1 (1)	0
Homozigot, N (%)	2 (2)	2 (2)	0

**Tablica 33. Kombinacije frekvencija genotipova za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 i za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu u kontrolnoj skupini ispitanika (N = 50).**

Genotip za jetrenu lipazu	Genotip za APOA5		
	Divlji tip N/udio	Heterozigot N/udio	Homozigot N/udio
Divlji tip, N/udio	26/0,52	5/0,10	0
Heterozigot, N/udio	18/0,36	0	0
Homozigot, N/udio	1/0,02	1/0,02	0

## 5.4 Povezanost genotipa i fenotipa

### 5.4.1 Povezanost genotipa APOA5 i biokemijskih parametara

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 34. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama pojedinih biokemijskih parametara natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T), zdravih ispitanika koji su nositelji jednog polimorfnog alela (T/C) i zdravih ispitanika koji su nositelji oba polimorfna alela (C/C).

Zbog malog broja zdravih ispitanika koji su nositelji C alela grupirani su nositelji jednog i oba polimorfna alela u istu skupinu.

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) i grupiranoj podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 35. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama pojedinih biokemijskih parametara natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) i zdravih ispitanika koji su nositelji polimorfnog C alela (T/C i C/C). Premda nije statistički značajno, koncentracija triglicerida natašte je prosječno 29% ( $P = 0,074$ ) veća kod zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) u odnosu na koncentraciju triglicerida kod zdravih nositelja divljeg tipa (T/T). Također, iako nije statistički značajno koncentracija triglicerida postprandijalno je prosječno 42% ( $P = 0,061$ ) veća kod zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) u odnosu na koncentraciju triglicerida kod zdravih nositelja divljeg tipa (T/T).



**Tablica 34. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 100).**

<b>Parametar</b>	<b>APOA5 skupina 1 T/T N = 88</b>	<b>APOA5 skupina 2 T/C N = 9</b>	<b>APOA5 skupina 3 C/C N = 3</b>	<b>P</b>
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	5,6 (5,5 - 6,0)	6,1 (5,6 - 6,6)	0,660
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,6 (5,2 - 6,1)	5,4 (4,9 - 5,6)	5,5 (4,3 - 6,4)	0,419
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,8 - 6,2)	5,9 (5,8 - 6,0)	5,8 (5,7 - 6,3)	0,493
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	364 (327 - 423)	356 (265 - 392)	442 (363 - 459)	0,448
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	362 (322 - 420)	356 (269 - 385)	431 (352 - 445)	0,499
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,9 (5,0 - 6,6)	6,2 (5,6 - 6,7)	5,3 (4,9 - 6,7)	0,757
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,9 (5,1 - 6,6)	6,1 (5,6 - 6,6)	5,2 (5,0 - 7,1)	0,958
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,4 (1,1 - 2,0)	1,6 (1,3 - 2,9)	2,4 (2,1 - 4,0)	0,083
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,4 (1,8 - 3,1)	2,2 (2,0 - 4,1)	3,6 (3,5 - 6,8)	0,064
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,3)	1,3 (1,2 - 1,5)	0,388
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,1 (1,0 - 1,2)	1,3 (1,2 - 1,4)	0,288
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 (3,1 - 4,7)	4,0 (3,4 - 4,6)	3,0 (2,9 - 4,7)	0,892
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (3,0 - 4,5)	3,9 (3,2 - 4,6)	2,8 (2,7 - 4,8)	0,901
<b>ITM</b> (kg/m <sup>2</sup> )	27,5 (25,9 - 30,7)	28,7 (26,9 - 30,7)	29,1 (28,4 - 29,6)	0,607
<b>Opseg struka</b> (cm)	105 (98 - 110)	108 (100 - 111)	108 (103 - 110)	0,762
<b>Opseg bokova</b> (cm)	108 (104 - 115)	110 (106 - 112)	112 (106 - 115)	0,719
<b>w/h</b>	0,97 (0,93 - 1,00)	0,97 (0,94 - 0,99)	0,97 (0,94 - 0,99)	0,959

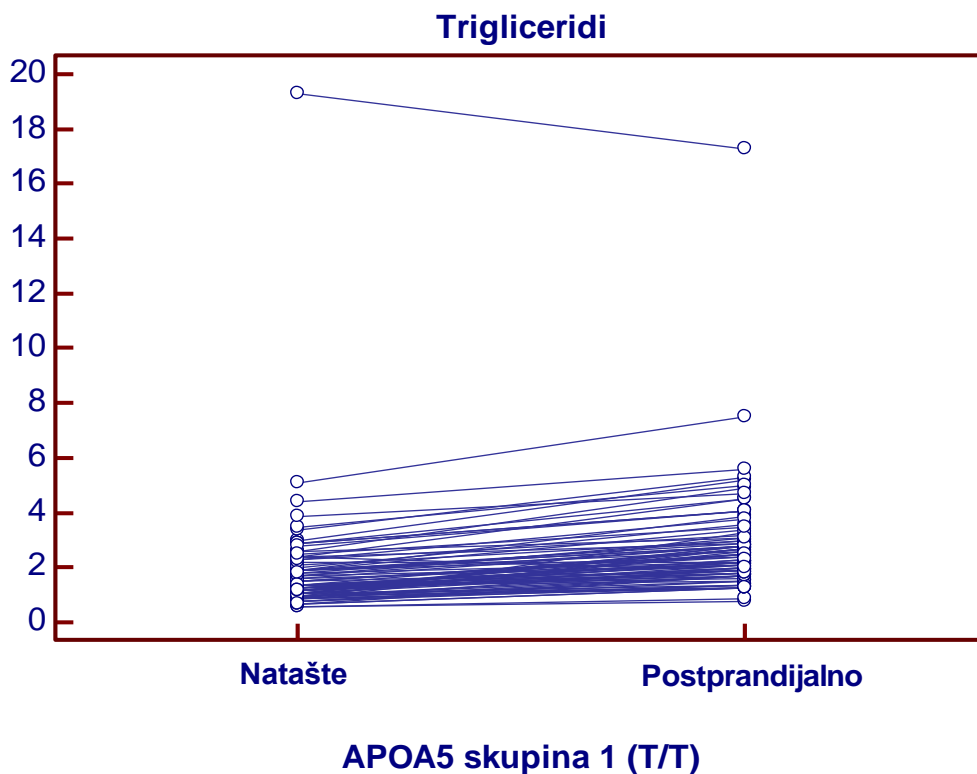
**Tablica 35. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) i podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 100).**

<b>Parametar</b>	<b>APOA5 skupina 1 (T/T) N = 88</b>	<b>APOA5 skupina (2+3) (T/C + C/C) N = 12</b>	<b>P</b>
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	5,8 (5,5 - 6,2)	0,844
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,6 (5,2 - 6,1)	5,5 (4,9 - 5,6)	0,218
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,8 - 6,2)	5,9 (5,8 - 6,0)	0,294
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	364 (327 - 423)	363 (301 - 439)	0,962
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	362 (322 - 420)	357 (295 - 430)	0,762
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,9 (5,0 - 6,6)	6,2 (5,3 - 6,8)	0,614
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,9 (5,1 - 6,6)	6,0 (5,2 - 6,6)	0,840
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,4 (1,1 - 2,0)	1,8 (1,3 - 3,3)	0,074
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,4 (1,8 - 3,1)	3,4 (2,1 - 4,7)	0,061
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,3)	0,318
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,1 (1,0 - 1,3)	0,230
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 (3,1 - 4,7)	3,9 (3,0 - 4,7)	0,779
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (3,0 - 4,5)	3,7 (2,8 - 4,8)	0,945
<b>ITM</b> (kg/m <sup>2</sup> )	27,5 (25,9 - 30,7)	28,9 (27,8 - 30,0)	0,351
<b>Opseg struka</b> (cm)	105 (98 - 110)	108 (101 - 111)	0,474
<b>Opseg bokova</b> (cm)	108 (104 - 115)	111 (106 - 113)	0,423
<b>w/h</b>	0,97 (0,93 - 1,00)	0,97 (0,94 - 0,99)	0,799

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 36. Zdravi ispitanici s genotipom divljeg tipa (T/T) imaju prosječno 71% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte (Slika 15). Prosječno povećanje koncentracije triglicerida postprandijalno je  $0,9 \pm 0,7$  mmol/L. Razlike u koncentracijama urata ( $P < 0,001$ ), HDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) i LDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 36. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 88).**

Parametar	Natašte N = 88	Postprandijalno N = 88	P
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	$5,8 \pm 0,5$	$5,6 \pm 0,8$	0,098
<b>Urati</b> ( $\mu$ mol/L)	$372 \pm 80$	$368 \pm 80$	<b>&lt;0,001</b>
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	$5,9 \pm 1,1$	$5,9 \pm 1,1$	0,161
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,4 (1,1 - 2,0)	2,4 (1,8 - 3,1)	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,4)	<b>&lt;0,001</b>
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	$4,0 \pm 1,0$	$3,8 \pm 0,9$	<b>&lt;0,001</b>

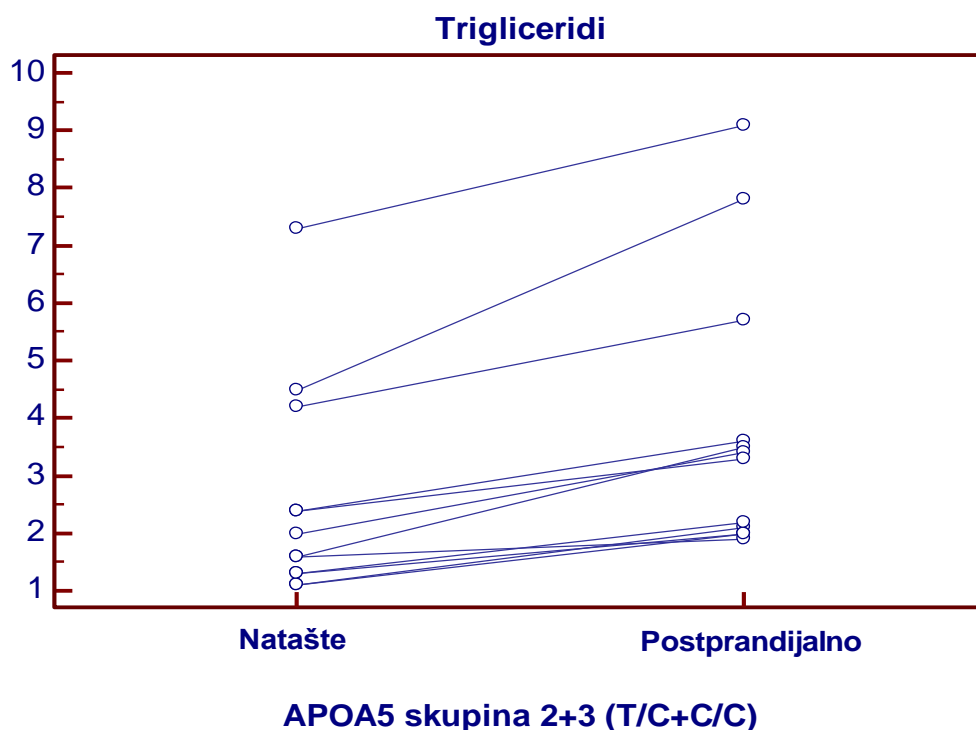


**Slika 15. Usporedba koncentracije triglicerida natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 88).**

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 37. Zdravi ispitanici nositelji C alela (T/C i C/C) imaju prosječno 89% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte (Slika 16). Prosječno povećanje koncentracije triglicerida postprandijalno je  $1,3 \pm 0,8$  mmol/L. Razlike u koncentracijama glukoze ( $P = 0,042$ ) i HDL-kolesterola ( $P = 0,016$ ) natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika nositelja polimorfnog C alela (T/C i C/C) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 37. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 12).**

Parametar	Natašte N = 12	Postprandijalno N = 12	P
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	5,5 (4,9 - 5,6)	<b>0,042</b>
<b>Urati</b> ( $\mu$ mol/L)	363 (301 - 439)	357 (295 - 430)	0,470
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	6,2 (5,3 - 6,8)	6,0 (5,2 - 6,6)	0,175
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,8 (1,3 - 3,3)	3,4 (2,1 - 4,7)	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,3)	1,1 (1,0 - 1,3)	<b>0,016</b>
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	3,9 (3,0 - 4,7)	3,7 (2,8 - 4,8)	0,077



**Slika 16. Usporedba koncentracije triglicerida natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 12).**

#### 5.4.2 Povezanost genotipa APOA5 i TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 38. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T), zdravih ispitanika koji su nositelji jednog polimorfnog alela (T/C) i zdravih ispitanika koji su nositelji oba polimorfna alela (C/C).

**Tablica 38. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 100).**

Parametar	APOA5 skupina 1	APOA5 skupina 2	APOA5 skupina 3	P
	T/T N = 88	T/C N = 9	C/C N = 3	
TAS, natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,84)	1,83 (1,82 - 1,83)	1,81 (1,80 - 1,83)	0,806
TAS, postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,82 (1,81 - 1,85)	1,82 (1,81 - 1,84)	0,712
hsCRP, natašte (mg/L)	1,80 (0,88 - 3,12)	1,19 (1,01 - 2,19)	1,01 (0,79 - 2,29)	0,760
hsCRP, postprandijalno (mg/L)	1,73 (0,90 - 3,27)	1,45 (0,94 - 1,91)	0,95 (0,77 - 2,34)	0,740
ICAM-1, natašte (ng/mL)	287 (245 - 349)	240 (222 - 341)	336 (287 - 369)	0,423
ICAM-1, postprandijalno (ng/mL)	252 (212 - 307)	234 (182 - 305)	289 (287 - 305)	0,510

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) i grupiranoj podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 39. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) i zdravih ispitanika koji su nositelji polimorfnog C alela (T/C i C/C).

**Tablica 39. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) i podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 100).**

Parametar	APOA5 skupina 1 (T/T) N = 88	APOA5 skupina 2+3 (T/C + C/C) N = 12	P
TAS, natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,84)	1,83 (1,81 - 1,84)	0,992
TAS, postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,82 (1,81 - 1,85)	0,505
hsCRP, natašte (mg/L)	1,80 (0,88 - 3,12)	1,16 (0,94 - 2,32)	0,581
hsCRP, postprandijalno (mg/L)	1,73 (0,90 - 3,27)	1,26 (0,92 - 2,11)	0,511
ICAM-1, natašte (ng/mL)	287 (245 - 349)	286 (236 - 349)	0,715
ICAM-1, postprandijalno (ng/mL)	252 (212 - 307)	281 (189 - 304)	0,983

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 40. Razlike u koncentracijama TAS-a ( $P < 0,001$ ) i ICAM-1 ( $P < 0,001$ ) natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 40. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (T/T) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 88).**

<b>Parametar</b>	<b>Natašte N = 88</b>	<b>Postprandijalno N = 88</b>	<b>P</b>
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,82 ± 0,02	1,83 ± 0,03	<b>&lt;0,001</b>
<b>hsCRP</b> (mg/L)	1,80 (0,88 - 3,12)	1,73 (0,90 - 3,27)	0,181
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	287 (245 - 349)	251 (212 - 307)	<b>&lt;0,001</b>

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 prikazane su u Tablici 41. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika koji su nositelji polimorfnog C alela (T/C i C/C).

**Tablica 41. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja C alela (T/C i C/C) za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 (N = 12).**

<b>Parametar</b>	<b>Natašte N = 12</b>	<b>Postprandijalno N = 12</b>	<b>P</b>
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,84)	1,82 (1,81 - 1,85)	0,164
<b>hsCRP</b> (mg/L)	1,16 (0,94 - 2,32)	1,26 (0,92 - 2,11)	0,175
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	286 (236 - 349)	281 (189 - 304)	0,064



### 5.4.3 Povezanost genotipa jetrene lipaze i biokemijskih parametara

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 42. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama pojedinih biokemijskih parametara natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G), zdravih ispitanika koji su nositelji jednog polimorfnog alela (G/A) i zdravih ispitanika koji su nositelji oba polimorfna alela (A/A).

Zbog malog broja zdravih ispitanika koji su nositelji A alela grupirani su nositelji jednog i oba alela u istu skupinu.

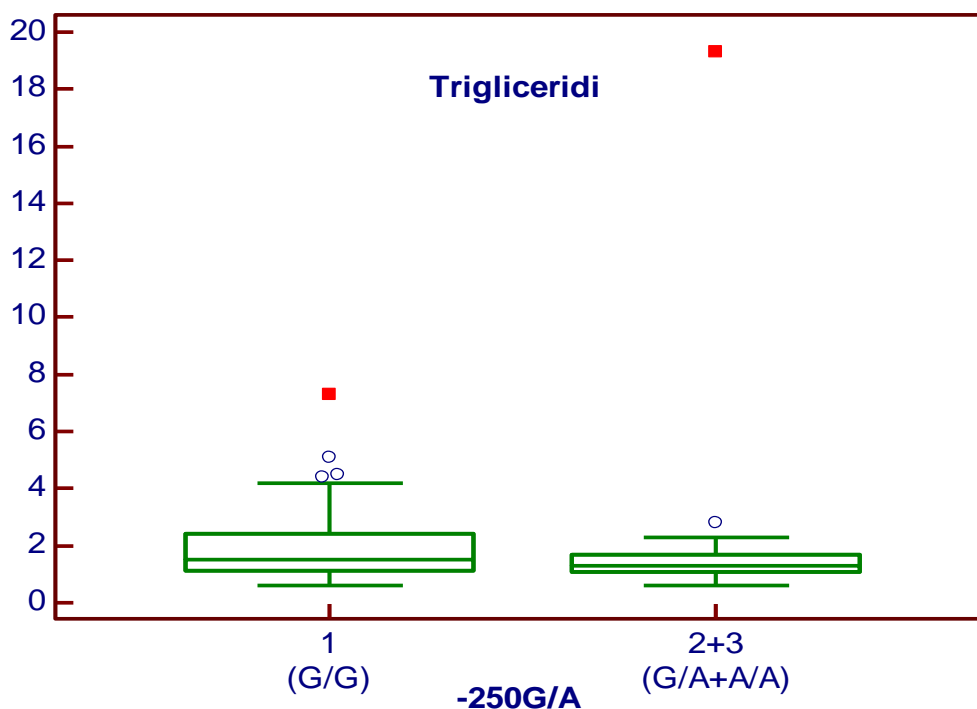
Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i grupiranoj podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 43. Zdravi ispitanici koji su nositelji polimorfnog A alela (G/A i A/A) imaju prosječno 15% ( $P = 0,042$ ) manju koncentraciju triglicerida natašte u odnosu na ispitanike s genotipom divljeg tipa (G/G) (Slika 17). Ako se iz statističke obrade isključi zdravi ispitanik s koncentracijom triglicerida 19,3 mmol/L, razlika u koncentraciji triglicerida natašte ( $P = 0,019$ ) između zdravih ispitanika s pojedinim genotipovima za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu je i dalje prisutna. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama pojedinih biokemijskih parametara natašte i postprandijalno za ostale parametre između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i zdravih ispitanika koji su nositelji A alela (G/A i A/A).

**Tablica 42. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 101).**

<b>Parametar</b>	<b>HL skupina 1 G/G N = 71</b>	<b>HL skupina 2 G/A N = 26</b>	<b>HL skupina 3 A/A N = 4</b>	<b>P</b>
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	5,6 (5,3 - 6,2)	5,9 (5,5 - 6,4)	0,484
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 (5,1 - 6,1)	5,5 (5,3 - 6,0)	5,0 (4,1 - 5,8)	0,404
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,8 - 6,2)	5,9 (5,6 - 6,2)	5,7 (5,5 - 6,1)	0,339
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	365 (335 - 433)	355 (320 - 416)	324 (264 - 390)	0,379
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	362 (326 - 427)	349 (312 - 397)	325 (269 - 383)	0,452
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,9 (5,2 - 6,7)	6,0 (5,3 - 6,5)	5,3 (4,6 - 6,0)	0,413
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	6,0 (5,1 - 6,7)	5,9 (5,1 - 6,5)	5,6 (4,6 - 6,1)	0,401
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,5 (1,1 - 2,4)	1,3 (1,0 - 1,7)	1,2 (1,1 - 1,6)	0,126
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,5 (1,9 - 3,6)	2,1 (1,7 - 2,8)	2,1 (1,9 - 2,5)	0,172
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,3 (1,2 - 1,5)	1,2 (1,0 - 1,6)	0,724
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,4)	1,1 (0,9 - 1,5)	0,760
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 (3,1 - 4,7)	4,2 (3,0 - 4,4)	3,8 (3,2 - 4,1)	0,619
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (2,9 - 4,6)	3,9 (3,0 - 4,4)	3,7 (3,1 - 4,0)	0,676
<b>ITM</b> (kg/m <sup>2</sup> )	27,5 (25,8 - 29,8)	28,0 (26,3 - 31,1)	33,3 (25,1 - 40,3)	0,474
<b>Opseg struka</b> (cm)	105 (98 - 110)	104 (100 - 110)	119 (98 - 129)	0,434
<b>Opseg bokova</b> (cm)	108 (104 - 114)	108 (104 - 115)	118 (106 - 126)	0,535
<b>w/h</b>	0,97 (0,93 - 0,99)	0,97 (0,92 - 1,00)	1,00 (0,92 - 1,02)	0,583

**Tablica 43. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno te antropometrijskih mjerenja u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 101).**

Parametar	HL skupina 1 (G/G) N = 71	HL skupina 2+3 (T/A + A/A) N = 30	P
<b>Glukoza,</b> natašte (mmol/L)	5,8 (5,5 - 6,2)	5,6 (5,4 - 6,3)	0,394
<b>Glukoza,</b> postprandijalno (mmol/L)	5,5 (5,1 - 6,1)	5,5 (5,2 - 6,0)	0,812
<b>HbA1c</b> (%)	6,0 (5,8 - 6,2)	5,8 (5,6 - 6,2)	0,213
<b>Urati,</b> natašte (μmol/L)	365 (335 - 433)	355 (316 - 408)	0,213
<b>Urati,</b> postprandijalno (μmol/L)	362 (326 - 427)	349 (305 - 389)	0,265
<b>Ukupni kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	5,9 (5,2 - 6,7)	5,8 (5,0 - 6,5)	0,397
<b>Ukupni kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	6,0 (5,1 - 6,7)	5,8 (5,1 - 6,4)	0,240
<b>Trigliceridi,</b> natašte (mmol/L)	1,5 (1,1 - 2,4)	1,3 (1,1 - 1,7)	<b>0,042</b>
<b>Trigliceridi,</b> postprandijalno (mmol/L)	2,5 (1,9 - 3,6)	2,1 (1,7 - 2,8)	0,062
<b>HDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,5)	1,3 (1,2 - 1,5)	0,878
<b>HDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,2 (1,1 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,4)	0,692
<b>LDL-kolesterol,</b> natašte (mmol/L)	4,0 (3,1 - 4,7)	4,1 (3,0 - 4,4)	0,513
<b>LDL-kolesterol,</b> postprandijalno (mmol/L)	3,9 (2,9 - 4,6)	3,9 (3,0 - 4,2)	0,496
<b>ITM</b> (kg/m <sup>2</sup> )	27,5 (25,8 - 29,8)	28,2 (26,3 - 31,6)	0,338
<b>Opseg struka</b> (cm)	105 (98 - 110)	105 (100 - 113)	0,537
<b>Opseg bokova</b> (cm)	108 (104 - 114)	109 (104 - 115)	0,685
<b>w/h</b>	0,97 (0,93 - 0,99)	0,98 (0,92 - 1,00)	0,524

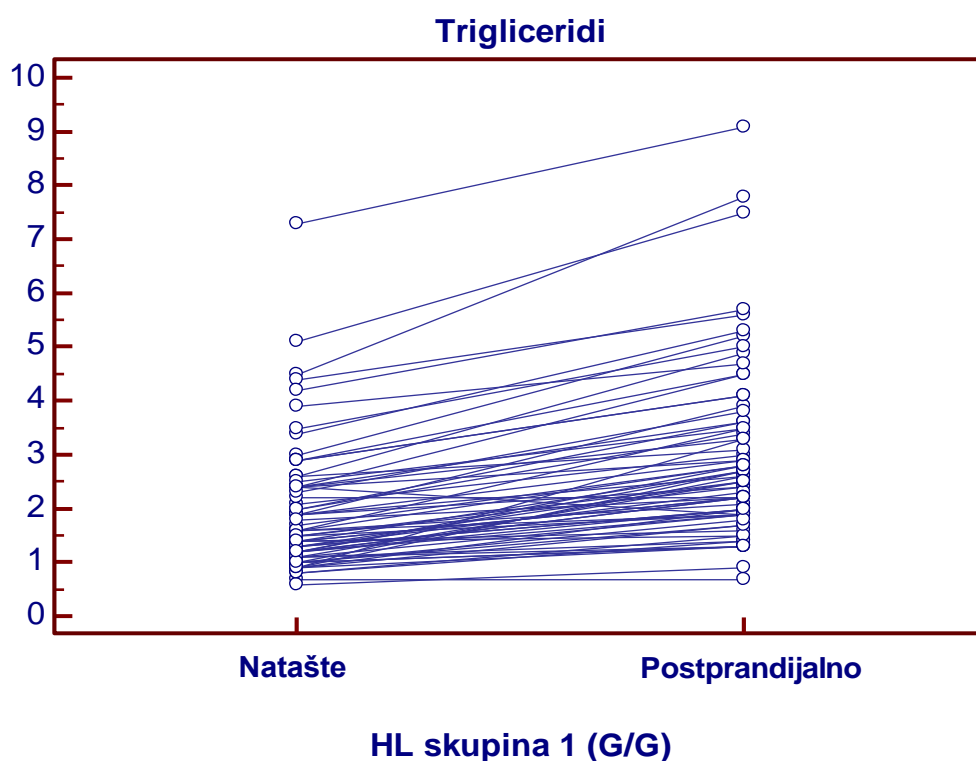


**Slika 17. Prikaz koncentracije triglicerida natašte u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 101).**

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 44. Zdravi ispitanici s genotipom divljeg tipa (G/G) imaju prosječno 67% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte (Slika 18). Prosječno povećanje koncentracije triglicerida postprandijalno je  $1,0 \pm 0,7$  mmol/L. Razlike u koncentracijama urata ( $P < 0,001$ ), HDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) i LDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 44. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 71).**

Parametar	Natašte N = 71	Postprandijalno N = 71	P
Glukoza (mmol/L)	5,8 ± 0,5	5,6 ± 0,9	0,043
Urati (μmol/L)	378 ± 85	373 ± 86	<0,001
Ukupni kolesterol (mmol/L)	6,0 ± 1,0	5,9 ± 1,0	0,414
Trigliceridi (mmol/L)	1,5 (1,1 - 2,4)	2,5 (1,9 - 3,6)	<0,001
HDL-kolesterol (mmol/L)	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,3	<0,001
LDL-kolesterol (mmol/L)	4,0 ± 1,0	3,8 ± 1,0	<0,001

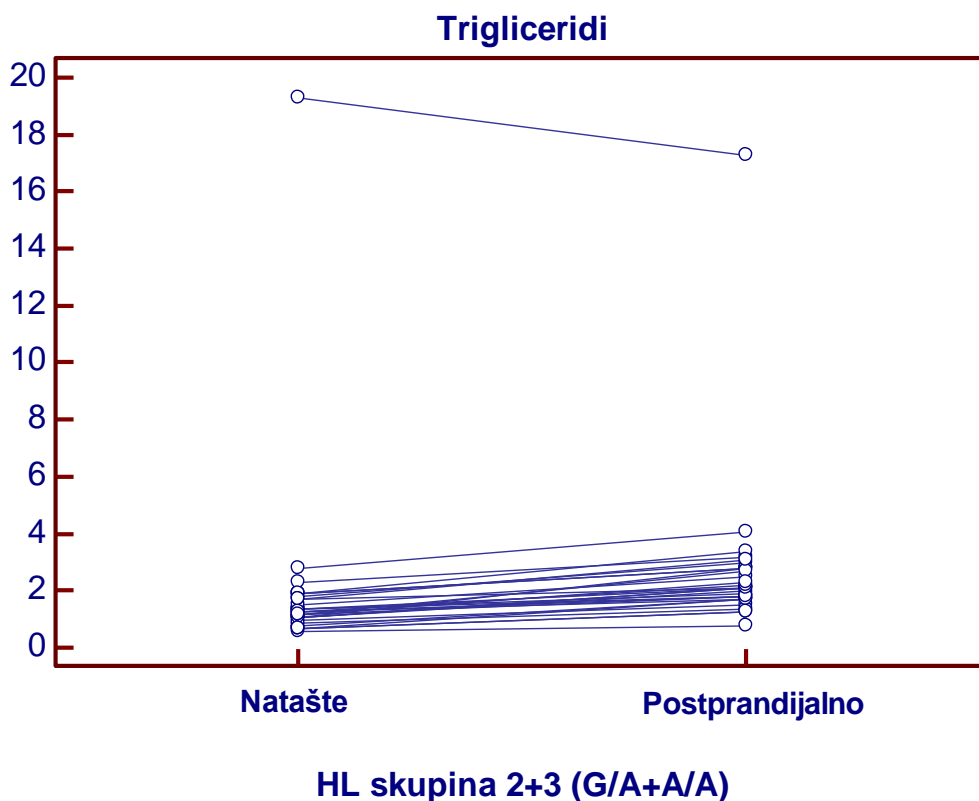


**Slika 18. Usporedba koncentracije triglicerida natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 71).**

Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 45. Zdravi ispitanici nositelji A alela (G/A i A/A) imaju prosječno 62% ( $P < 0,001$ ) veću koncentraciju triglicerida postprandijalno u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte (Slika 19). Prosječno povećanje koncentracije triglicerida postprandijalno je  $0,8 \pm 0,6$  mmol/L. Razlike u koncentracijama urata ( $P = 0,011$ ), ukupnog kolesterola ( $P = 0,031$ ), HDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) i LDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika nositelja polimorfnog A alela (G/A i A/A) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 45. Koncentracije biokemijskih parametara natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 30).**

Parametar	Natašte N = 30	Postprandijalno N = 30	P
<b>Glukoza</b> (mmol/L)	5,6 (5,4 - 6,3)	5,5 (5,2 - 6,0)	0,371
<b>Urati</b> ( $\mu$ mol/L)	355 (316 - 408)	349 (305 - 389)	<b>0,011</b>
<b>Ukupni kolesterol</b> (mmol/L)	5,8 (5,0 - 6,5)	5,8 (5,1 - 6,4)	<b>0,031</b>
<b>Trigliceridi</b> (mmol/L)	1,3 (1,1 - 1,7)	2,1 (1,7 - 2,8)	<b>&lt;0,001</b>
<b>HDL-kolesterol</b> (mmol/L)	1,3 (1,2 - 1,5)	1,2 (1,1 - 1,4)	<b>&lt;0,001</b>
<b>LDL-kolesterol</b> (mmol/L)	4,1 (3,0 - 4,4)	3,9 (3,0 - 4,2)	<b>&lt;0,001</b>



**Slika 19.** Usporedba koncentracije triglicerida natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 30).

#### **5.4.4 Povezanost genotipa jetrene lipaze i TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1**

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 46. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G), zdravih ispitanika koji su nositelji jednog polimorfnog alela (G/A) i zdravih ispitanika koji su nositelji oba polimorfna alela (A/A).

**Tablica 46. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupinama zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 101).**

<b>Parametar</b>	<b>HL skupina 1 G/G N = 71</b>	<b>HL skupina 2 G/A N = 26</b>	<b>HL skupina 3 A/A N = 4</b>	<b>P</b>
<b>TAS,</b> natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,83)	1,82 (1,80 - 1,84)	1,82 (1,80 - 1,85)	0,724
<b>TAS,</b> postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,84 (1,81 - 1,86)	1,82 (1,81 - 1,83)	0,585
<b>hsCRP,</b> natašte (mg/L)	1,79 (0,89 - 2,86)	1,42 (0,74 - 3,08)	2,17 (1,09 - 3,31)	0,803
<b>hsCRP,</b> postprandijalno (mg/L)	1,71 (0,90 - 2,84)	1,23 (0,88 - 2,96)	2,39 (1,26 - 3,27)	0,728
<b>ICAM-1,</b> natašte (ng/mL)	285 (245 - 347)	289 (229 - 336)	382 (295 - 438)	0,369
<b>ICAM-1,</b> postprandijalno (ng/mL)	249 (217 - 299)	257 (194 - 331)	335 (248 - 390)	0,451

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i grupiranoj podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 47. Ne postoji statistički značajna razlika u koncentracijama TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno između zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i zdravih ispitanika koji su nositelji polimorfnog A alela (G/A i A/A).

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 48. Razlike u koncentracijama TAS-a ( $P < 0,001$ ) i ICAM-1 ( $P < 0,001$ ) natašte i postprandijalno kod ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.



**Tablica 47. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) i podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 101).**

Parametar	HL skupina 1 (G/G) N = 71	HL skupina 2+3 (T/A + A/A) N = 30	P
TAS, natašte (mmol/L)	1,82 (1,81 - 1,83)	1,82 (1,80 - 1,84)	0,433
TAS, postprandijalno (mmol/L)	1,83 (1,81 - 1,85)	1,83 (1,81 - 1,86)	0,785
hsCRP, natašte (mg/L)	1,79 (0,89 - 2,86)	1,42 (0,87 - 3,15)	0,824
hsCRP, postprandijalno (mg/L)	1,71 (0,90 - 2,84)	1,30 (0,92 - 3,21)	0,730
ICAM-1, natašte (ng/mL)	285 (245 - 347)	294 (240 - 349)	0,716
ICAM-1, postprandijalno (ng/mL)	249 (217 - 299)	275 (194 - 339)	0,688

**Tablica 48. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa (G/G) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 71).**

Parametar	Natašte N = 71	Postprandijalno N = 71	P
TAS (mmol/L)	1,82 ± 0,02	1,83 ± 0,03	<0,001
hsCRP (mg/L)	1,79 (0,89 - 2,86)	1,71 (0,90 - 2,84)	0,360
ICAM-1 (ng/mL)	285 (245 - 347)	249 (217 - 299)	<0,001

Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu prikazane su u Tablici 49. Razlike u koncentracijama TAS-a (P = 0,016) i ICAM-1 (P = 0,014) natašte i postprandijalno kod zdravih ispitanika koji su nositelji polimorfnog A alela (G/A i A/A) su unutar granica analitičke nepreciznosti i nisu klinički značajne.

**Tablica 49. Koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 natašte i postprandijalno u podskupini zdravih nositelja A alela (G/A i A/A) za polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu (N = 30).**

<b>Parametar</b>	<b>Natašte N = 30</b>	<b>Postprandijalno N = 30</b>	<b>P</b>
<b>TAS</b> (mmol/L)	1,82 (1,80 - 1,84)	1,83 (1,81 - 1,86)	<b>0,016</b>
<b>hsCRP</b> (mg/L)	1,42 (0,87 - 3,15)	1,30 (0,92 - 3,21)	0,114
<b>ICAM-1</b> (ng/mL)	294 (240 - 349)	275 (194 - 339)	<b>0,014</b>

## 6 RASPRAVA

U ovom radu su prikazani rezultati istraživanja učinka kaloričnog masnog obroka na koncentraciju biokemijskih parametara (glukoza, HbA1c, urati, ukupni kolesterol, trigliceridi, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol), oksidacijskog stresa (TAS), biljega upale (hsCRP) i endotelne disfunkcije (ICAM-1) te povezanost dvaju polimorfizama -1131T/C u genu za APOA5 i -250G/A u genu za jetrenu lipazu s različitim odgovorom na kalorični masni obrok kod 102 zdrava ispitanika. Nadalje, ispitana je razlika učestalosti polimorfizma navedenih gena između zdrave populacije muškaraca i bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2.

Zdravi muški dobrovoljci su konzumirali standardizirani kalorični masni obrok, a uzorci krvi su im uzeti natašte i postprandijalno, odnosno tri sata nakon konzumiranja obroka. Vremenska točka od tri sata za uzorkovanje krvi je izabrana na temelju prijašnjih istraživanja koja su pokazala da koncentracija lipidnih parametara, biljega upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije kod zdravih ispitanika dostiže najveće vrijednosti između drugog i četvrtog sata nakon konzumiranja kaloričnog masnog obroka (41,81). Standardizirani kalorični obrok koji su ispitanici konzumirali se temeljio na istraživanju kojeg su proveli Liu i suradnici (77), a po sastavu je sličan obroku kojeg ispitanici normalno konzumiraju kako bi opterećenje bilo što sličnije svakodnevnom opterećenju i kako bi se postigle okolnosti približne onima kojima su naši ispitanici svakodnevno izloženi. Standardizirani kalorični obrok je osigurao jednako opterećenje svih zdravih ispitanika našeg istraživanja s obzirom da na koncentraciju triglicerida u serumu značajno utječe sastav obroka.

Kliničke manifestacije ateroskleroze pojavljuju se češće u muškaraca u srednjoj ili starijoj životnoj dobi zbog čega je ovo istraživanje provedeno na muškim ispitanicima u dobi od 52 do 68 godina. Skupina zdravih ispitanika izabrana je temeljem pregleda liječnika i nakon utvrđivanja odsustva akutne upale, šećerne bolesti te moždanog udara i infarkta miokarda, a koji nisu imali veći operativni zahvat u posljednja dva mjeseca te nisu bili na terapiji statinima i dijeti za mršavljenje. Kako se radi o ispitanicima koji su uključivani tijekom sistematskog pregleda, smatramo da oni odražavaju stvarno stanje muške populacije te dobi što potvrđuju brojna istraživanja i objavljeni radovi.

Istraživanje kojeg su proveli Kackov i suradnici obuhvatilo je 6476 zdravih odraslih ispitanika iz Republike Hrvatske upućenih u laboratorij u sklopu sistematskog pregleda (82). Rezultati su pokazali da je koncentraciju kolesterola iznad preporučene vrijednosti od 5 mmol/L imalo

54% ispitanika. Koncentraciju triglicerida iznad 1,7 mmol/L imalo je 21,2% ispitanika, dok je srednja vrijednost koncentracije triglicerida u skupini muškaraca bila 1,4 (0,9 - 2,0) mmol/L, što je gotovo identično s našim rezultatima. Kod 39% zdravih muških ispitanika uključenih u naše istraživanje koncentracija triglicerida natašte je veća od preporučene vrijednosti, dok je srednja vrijednost koncentracije triglicerida 1,4 (1,1 - 2,1) mmol/L. Hiperurikemija je u navedenom istraživanju bila prisutna u muškoj populaciji s učestalosti od 26%, a u našem istraživanju hiperurikemija je prisutna s učestalosti od 32%.

Prema podacima Hrvatske zdravstvene ankete koju je provelo Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske (83) u prosjeku 68,3% muškaraca ima prekomjernu tjelesnu težinu (ITM > 25 kg/m<sup>2</sup>), s tim da 46,7% muškaraca ima prekomjernu tjelesnu težinu (ITM 25 - 29,9 kg/m<sup>2</sup>) i 21,6% muškaraca (regionalno 17 - 25%) je pretilo (ITM ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>).

Temeljem navedenog proizlazi da su podaci Hrvatske zdravstvene ankete u potpunosti usporedivi sa situacijom ustanovljenom u našem radu: 60% muškaraca je imalo prekomjernu tjelesnu težinu (ITM 25 - 29,9 kg/m<sup>2</sup>), a 27% muškaraca je bilo pretilo (ITM ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>).

Premda je pronađena slaba povezanost ITM i koncentracije hsCRP-a ( $r = 0,42$ ,  $P < 0,001$ ), 46% zdravih ispitanika s prekomjernom tjelesnom težinom i 46% pretilih zdravih ispitanika imali su srednji relativni rizik, dok je visoki relativni rizik za kardiovaskularne bolesti imalo 23% zdravih ispitanika s prekomjernom tjelesnom težinom i 46% pretilih zdravih ispitanika.

Premda je prosječna koncentracija hsCRP-a natašte u skupini zdravih ispitanika bila unutar granica preporučenih vrijednosti, razdioba zdravih ispitanika u koncentracijske kategorije hsCRP-a prema relativnom riziku za kardiovaskularne bolesti pokazala je da 46% zdravih ispitanika ima srednji rizik, čak 26% visoki rizik, a samo 28% zdravih ispitanika ima nizak rizik za kardiovaskularne bolesti. Ti podaci dodatno govore u prilog prethodno navedene podudarnosti naših rezultata s epidemiološkim pokazateljima za Hrvatsku tj. demografskoj slici populacije muškaraca u Republici Hrvatskoj.

Referentne vrijednosti za TAS i ICAM-1 su preuzete iz deklaracije od proizvođača, nisu validirane na hrvatskoj populaciji i stoga naše rezultate nažalost nije moguće interpretirati u odnosu na te referentne vrijednosti.

Ovo je istraživanje potvrdilo da koncentracija triglicerida određenih postprandijalno raste tri sata nakon konzumiranja kaloričnog masnog obroka. Prosječan porast koncentracije triglicerida u naših zdravih ispitanika tri sata nakon standardiziranog kaloričnog obroka bio je 65% u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte. No, naši rezultati ne ukazuju na mjerljivi postprandijalni porast koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1. Nadalje prema našim

rezultatima, nema povezanosti između porasta koncentracije triglicerida i koncentracije TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 određenih postprandijalno (84).

K tome, rezultati ovog istraživanja su pokazali da osobe imaju jednaki postprandijalni odgovor na porast koncentracije triglicerida neovisno o genotipu APOA5 i jetrene lipaze. Nadalje, pokazalo se da nema razlika u koncentraciji biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije kao odgovor na kalorični masni obrok u odnosu na prisutnost polimorfizama u genu za APOA5 i genu za jetrenu lipazu. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da nositelji polimorfnog A alela u polimorfizmu -250G/A u genu za jetrenu lipazu imaju prosječno manju koncentraciju triglicerida natašte u odnosu na ispitanike s genotipom divljeg tipa te da nositelji polimorfnog C alela u polimorfizmu -1131T/C u genu za APOA5 imaju jači postprandijalni hipertrigliceridemični odgovor u odnosu na nositelje divljeg T alela.

Time naravno ne isključujemo u potpunosti mogućnost da postoji genska osnova postprandijalnog biokemijskog odgovora. Moguće je da su za razlike u odgovoru zaslužni neki drugi polimorfizmi istraživanih gena ili da se radi o vezanom nasljeđivanju istraživanih gena s nekim drugim genima koje nismo obuhvatili ovim istraživanjem. U prilog tome govori činjenica da se u našem radu obiteljska anamneza za kardiovaskularne bolesti pokazala kao značajan diskriminirajući čimbenik za promjene u povećanju koncentracije triglicerida određenih postprandijalno. Naime, u našem su istraživanju pozitivna obiteljska anamneza za hipertenziju i akutni infarkt miokarda bile značajno povezane s razlikama u koncentraciji triglicerida određenih postprandijalno. Koncentracija triglicerida određenih postprandijalno je bila statistički značajno povećana kod ispitanika s pozitivnom obiteljskom anamnezom za hipertenziju (2,7 (2,1 - 3,5) vs. 2,1 (1,6 - 2,9) mmol/L,  $P = 0,016$ ).

Nadalje, koncentracija triglicerida određenih natašte (1,9 (1,4 - 2,9) vs. 1,3 (1,1 - 1,9) mmol/L,  $P = 0,004$ ) i postprandijalno (2,8 (2,2 - 4,5) vs. 2,2 (1,8 - 3,1) mmol/L,  $P = 0,039$ ) je bila statistički značajno povećana kod ispitanika s pozitivnom obiteljskom anamnezom za akutni infarkt miokarda.

S obzirom da su roditelji naših ispitanika imali akutni infarkt miokarda, pretpostavlja se da je genska predispozicija ili način života naših ispitanika razlog povećanoj koncentraciji triglicerida natašte te postoji sumnja da je prisutan neki genski polimorfizam koji mijenja sam metabolizam triglicerida. Nadalje, sprega genetike i rizičnih čimbenika kao i polimorfizam koji zasebno nije dovoljno jak, ali u sprezi s drugim polimorfizmima može biti povezan s metabolizmom triglicerida i imati za posljedicu povećanu koncentraciju triglicerida natašte

kod naših ispitanika. Poveznica s našim rezultatima za ispitanike s pozitivnom obiteljskom anamnezom za akutni infarkt miokarda su rezultati istraživanja kojeg su proveli Atar i suradnici prema kojem se povećana koncentracija triglicerida postprandijalno dovodi u vezu s koronarnom arterijskom bolesti, ako su ispitanici imali povećanu koncentraciju triglicerida natašte, dok kod ispitanika s koncentracijom triglicerida natašte unutar preporučenih vrijednosti nije utvrđena veza postprandijalne hipertrigliceridemije i koronarne arterijske bolesti (85). Među ispitanicima s povećanom koncentracijom triglicerida natašte, ispitanici s koronarnom arterijskom bolesti su imali prosječno 23% veću koncentraciju triglicerida u odnosu na zdrave ispitanike. Također su uočili značajno povećanje koncentracije triglicerida postprandijalno nakon drugog i četvrtog sata kod ispitanika s koronarnom arterijskom bolesti u odnosu na zdrave ispitanike.

Kako je već u uvodnom dijelu ovog rada navedeno, postprandijalna hipertrigliceridemija se pokazala neovisnim rizičnim čimbenikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti kod zdravih ispitanika. Međutim, ova povezanost je još uvijek predmet rasprave. Velika je pozornost usredotočena na rezultate studija koji pokazuju da su abnormalnosti postprandijalnog stanja značajan čimbenik koji doprinosi razvoju ateroskleroze. Nametnulo se i pitanje treba li koncentraciju triglicerida u krvi određivati natašte ili bi ih se s jednakom pouzdanošću predviđanja koronarne bolesti moglo odrediti postprandijalno. Europske smjernice o prevenciji kardiovaskularnih bolesti preporučuju određivanje koncentracije triglicerida u serumu natašte zbog nedostatka referentnih vrijednosti za koncentraciju triglicerida u postprandijalnom uzorku (14). Međutim, kako veći dio života provodimo u postprandijalnom stanju brojni autori zastupaju potrebu određivanja koncentracije triglicerida postprandijalno kako bi se dobio uvid u stvarno opterećenje organizma i bolje procijenio rizik za kardiovaskularne bolesti (16,17,18,19).

Kako je više od dvije trećine zdravih ispitanika u našem istraživanju imalo koncentraciju hsCRP-a natašte veću od 1 mg/L, a ispitanici nisu bili akutno bolesni, može se pretpostaviti da je prisutni CRP posljedica aterosklerotske upale stijenke krvne žile što su opisali i drugi autori (40,41,86). Temeljem obrade podataka više od 20000 odraslih ispitanika Centar za kontrolu i prevenciju bolesti i Američko udruženje za bolesti srca preporučili su upotrebu određivanja hsCRP-a kao rutinskog upalnog biljega za predviđanje rizika za kardiovaskularne bolesti (87). Kako određena koncentracija hsCRP-a u zdravih ispitanika može biti posljedica i upalne bolesti crijeva, reumatoidnog artritisa te dugotrajnog alkoholizma ne može se isključiti da neki od naših zdravih ispitanika nije imao koncentraciju hsCRP-a veću od 1 mg/L zbog

navedenih stanja. Osim navedenih stanja koja mogu utjecati na koncentraciju CRP-a, rezultati istraživanja koje su proveli autori u Engleskoj pokazali su da je koncentracija CRP-a natašte veća prosječno 23% kod sjedećih sredovječnih muškaraca u odnosu na fizički aktivne muške ispitanike (88).

Svi zdravi ispitanici u našem istraživanju imali su natašte povećanu koncentraciju TAS-a, a njih 32% imalo je i povećanu koncentraciju urata koji djeluju kao izvanstanični antioksidans. Premda nije pronađena povezanost između koncentracije lipidnih parametara i biljega oksidacijskog statusa, a povezanost između koncentracije triglicerida i koncentracije urata natašte je slaba ( $r = 0,44$ ,  $P < 0,001$ ), može se pretpostaviti da su povećane koncentracije TAS-a i urata u značajnom broju zdravih ispitanika posljedica aktiviranog antioksidacijskog statusa već natašte. Premda je povezanost ITM i koncentracije urata natašte slaba ( $r = 0,38$ ,  $P < 0,001$ ), zdravi ispitanici s prekomjernom tjelesnom težinom imaju prosječno 25%, a pretili zdravi ispitanici čak 39% veću koncentraciju urata natašte u odnosu na zdrave ispitanike s normalnom tjelesnom težinom. Razlike u koncentraciji TAS-a natašte s obzirom na vrijednosti ITM nisu pronađene. Rezultati drugih autora koji su istraživali povezanost biljega oksidacijskog stresa i postprandijalne hipertrigliceridemije navode promjene koncentracija biljega oksidacijskog stresa kao odgovor na standardizirani kalorični masni obrok, ali ne analiziraju vrijednosti biljega oksidacijskog stresa natašte u odnosu na referentne ili preporučene vrijednosti. Međutim, autori iz Hrvatske su u svom istraživanju pokazali da je prevalencija hiperurikemije 14% u općoj populaciji u Hrvatskoj i učestalija je kod muškaraca nego kod žena (84). U njihovom istraživanju je čak 47% ispitanika s povećanom koncentracijom urata natašte imalo i povećanu koncentraciju triglicerida natašte.

Povećana koncentracija ICAM-1 u serumu pokazatelj je endotelne disfunkcije (27). Kako niti jedan zdravi ispitanik našeg istraživanja nije natašte imao povećanu koncentraciju ICAM-1, a njih 39% je čak imalo smanjenu koncentraciju ICAM-1 natašte može se pretpostaviti da endotelna funkcija u zdravih ispitanika nije narušena za što je možda odgovoran pozitivni učinak antioksidacijske zaštite premda nema povezanosti između koncentracije ICAM-1 i koncentracije TAS-a ili koncentracije urata natašte. Rezultati drugih autora koji su istraživali povezanost biljega endotelne disfunkcije i postprandijalne hipertrigliceridemije navode promjene koncentracije ICAM-1 u skupini ispitanika s poligenomskom hiperkolesterolemijom (41). Međutim, povećana koncentracija ICAM-1 u skupini ispitanika s poligenomskom hiperkolesterolemijom u odnosu na druge skupine je na donjoj granici referentnih vrijednosti

što znači da ostali ispitanici također imaju koncentraciju ICAM-1 ispod donje granice referentnih vrijednosti slično kao što su pokazali rezultati u našem istraživanju.

Među zdravim ispitanicima uključenih u naše istraživanje bilo je 34% pušača. Između pušača i nepušača nisu pronađene razlike u koncentraciji biokemijskih parametara, biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije natašte. Kako je skupina pušača obuhvaćala zdrave ispitanike koji puše jednu ili više cigareta dnevno, a skupina nepušača zdrave ispitanike koji nikada nisu pušili ili su bivši pušači moguće je da su razlike u biokemijskim parametrima, biljezima oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije izostale zbog heterogenog sastava pojedinih skupina zdravih ispitanika s obzirom na pušački status. Pušenje kao važan čimbenik rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti i uzrok smrtnosti opisali su brojni autori (89,90,91,92). Prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, engl. *World Health Organization*) ispitanici koji su pušači u trenutku provođenja istraživanja trebaju biti svrstani u kategoriju "trenutnih pušača" koja treba biti dodatno kategorizirana kao "dnevni" ili "povremeni" pušači. "Dnevni" pušači su pojedinci koji puše cigarete barem jednom dnevno, uključujući i one koji puše svakodnevno osim u danima vjerskog posta. "Povremeni" pušači su pojedinci koji puše cigarete, ali ne svakodnevno (93). Novije smjernice WHO za prevenciju kardiovaskularnih bolesti su za prikaz podataka klasificirali osobe kao pušače i nepušače na način da se svi aktualni pušači i oni koji su prestali pušiti u periodu kraćem od jedne godine prije procjene kardiovaskularnog rizika smatraju pušačima (94). S obzirom da za naše ispitanike koji su klasificirani kao nepušači nemamo točan podatak o vremenu kada su prestali pušiti, možda je to razlog izostanka razlika između određivanih parametara.

Naše smo zdrave ispitanike podijelili u podskupine s obzirom na preporučene vrijednosti triglicerida (1,7 mmol/L) i ITM, želeći na taj način iz ispitivane skupine izdvojiti one koji su po tim parametrima uredni (tj. "zdraviji" među zdravima). Prema rezultatima usporedbe TAS-a i ICAM-1 među tim podskupinama, zaključujemo kako niti koncentracija triglicerida natašte niti ITM nisu povezani s postprandijalnom promjenom koncentracije mjerenih biljega oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije. Postprandijalni odgovor ne razlikuje se između osoba s normalnom tjelesnom težinom i normalnom koncentracijom triglicerida od onih s vrijednostima iznad preporučenih.

U našem istraživanju u skupini zdravih ispitanika istaknuo se ispitanik koji je imao koncentraciju triglicerida u serumu natašte 19,3 mmol/L. Pored izrazito povećane



koncentracije triglicerida zdravi ispitanik imao je značajno povećanu koncentraciju ukupnog kolesterola, a prema koncentraciji hsCRP-a od 2,54 mg/L natašte, imao je visoki relativni rizik za kardiovaskularne bolesti. Kod ovog ispitanika je izražena sumnja na gensku hipertrigliceridemiju. Ispitanik nije isključen iz obrade, jer njegovi rezultati nisu značajno utjecali na ishod obrade.

Literaturni podaci o utjecaju postprandijalnog stanja na oksidacijski stres, upalu i endotelnu disfunkciju su proturječni.

Među istraživanjima koja su potvrdila povezanost postprandijalnog stanja i oksidacijskog stresa je istraživanje Ceriello i suradnika na pretilim nepušačima oba spola (51). Tri sata nakon konzumiranja kaloričnog obroka koji je sadržavao više masnoće nego obrok u našem istraživanju određena je prosječno oko 65% veća koncentracija nitrotirozina u odnosu na koncentraciju nitrotirozina natašte. Istraživanje Tsai i suradnika na mlađim osobama oba spola s normalnom tjelesnom težinom je pokazalo da je koncentracija 8-epi-prostaglandina-F2 $\alpha$  u urinu značajno povećana četiri sata nakon konzumiranja kaloričnog obroka (81). Moguće je da su nitrotirozin i 8-epi-prostaglandina-F2 $\alpha$  osjetljiviji biljezi oksidacijskog stresa.

Osim koncentracije CRP-a, pokazatelji upale su i koncentracija tumor nekrotizirajućeg čimbenika  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , engl. *tumor necrosis factor- $\alpha$* ) i interleukina 6. Postprandijalni učinak na koncentraciju ovih biljega su ispitali Nappo i suradnici koji su kod ispitanika oba spola s prekomjernom tjelesnom težinom odredili značajno povećanje koncentracije TNF- $\alpha$  za oko 30% i interleukina 6 za oko 50% u drugom satu nakon konzumiranja obroka, dok je nakon četiri sata koncentracija oba biljega bila povećana prosječno oko 25% u odnosu na njihovu koncentraciju natašte (30). Kako je interleukin 6 aktivator sinteze CRP-a za što je potreban određeni vremenski period proizlazi da bi promjenu koncentracije hsCRP-a trebalo pratiti u dužem vremenskom periodu nakon obroka.

Ferreira i suradnici su u svom istraživanju na mladim ispitanicima oba spola normalne tjelesne težine i normalne koncentracije triglicerida natašte procjenjivali endotelnu disfunkciju nakon opterećenja kaloričnim obrokom (95). Kao biljeg endotelne disfunkcije odredili su broj endotelnih mikročestica i dokazali značajan porast broja endotelnih mikročestica kao i značajno povećanje koncentracije triglicerida tri sata nakon opterećenja kaloričnim obrokom. Nappo i suradnici su na ispitanicima oba spola s prekomjernom tjelesnom težinom odredili porast koncentracije ICAM-1 za oko 25% nakon dva sata, dok je četiri sata nakon konzumiranja kaloričnog obroka koncentracija ICAM-1 bila povećana oko 35% u odnosu na

koncentraciju natašte (30). Za razliku od koncentracije ICAM-1, koncentracija VCAM-1 je bila konstantno povećana za oko 25% i u drugom i u četvrtom satu nakon opterećenja. Osim koncentracija ICAM-1 i VCAM-1 u istraživanju Ceriello i suradnika je kao biljeg endotelne disfunkcije određivana koncentracija E-selektina nakon konzumiranja kaloričnog obroka koji je sadržavao više masnoće nego obrok u našem istraživanju (51). Ispitanici oba spola, nepušači s prekomjernom tjelesnom težinom uključeni u njihovo istraživanje imali su značajan porast koncentracije E-selektina tri sata nakon obroka. Može se pretpostaviti da je E-selektin bolji biljeg za procjenu endotelne disfunkcije od ICAM-1 ili je endotelna funkcija više oštećena nakon obroka s većim sadržajem masnoća.

Postoji više mogućih objašnjenja za razlike između rezultata zabilježenih u spomenutim studijama i rezultata dobivenih u našem istraživanju. Prethodno prikazana istraživanja su provedena na ispitanicima oba spola. Nadalje, neki istraživači su uključili samo mlade i zdrave ispitanike te ispitanike s normalnom tjelesnom težinom, dok su drugi uključili ispitanike s prekomjernom tjelesnom težinom.

Velika heterogenost u konzumiranim obrocima u različitim istraživanjima može također biti uzrok razlika u promatranim odnosima između ispitivanih biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije. Primjerice, različita vremena uzorkovanja krvi nakon konzumiranja kaloričnog masnog obroka mogu za posljedicu imati rezultate koji su nekonzistentni između prijašnjih istraživanja i ovog istraživanja.

Znakovito je da su istraživanja koja su dokazala povezanost postprandijalne hipertrigliceridemije i oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije provedena na malom broju ispitanika (81,95,96) te su shodno tome rezultati neponovljivi na većem broju ispitanika što je dokazano i potvrđeno ovim istraživanjem.

Za razliku od istraživanja koja su dokazala učinak postprandijalnog stanja, rezultati drugih istraživanja potvrđuju da postprandijalno stanje nije stanje koje uzrokuje povećanje koncentracije oksidacijskih, upalnih i endotelnih biljega (96,97,98).

U radu Peairs i suradnika je pokazano da je koncentracija hsCRP-a ostala nepromijenjena neovisno o vrsti kaloričnog obroka obogaćenog s mono-nezasićenim, zasićenim ili omega 3 polinezasićenim masnim kiselinama (96), a koncentracija TNF- $\alpha$  bila je čak smanjena u odnosu na vrijednosti natašte.

Rubin i suradnici su zamijetili da su koncentracije ICAM-1, VCAM-1 i E-selektina tri sata nakon kaloričnog obroka ovisne o koncentraciji triglicerida natašte (97). Naime, u njihovom istraživanju ispitanici s koncentracijom triglicerida natašte unutar preporučenih vrijednosti

razlikuju se u postprandijalnoj koncentraciji adhezijskih molekula od ispitanika s povećanom koncentracijom triglicerida već natašte. Sve su to pokazatelji važnosti uvođenja većeg broja strožih kriterija za uključivanje ispitanika u istraživanje koji bi osigurali što homogeniju skupinu ispitanika.

Dennis i suradnici su ispitivali učinak postprandijalnog stanja na koncentraciju malondialdehida kao biljega oksidacijskog stresa kod mlađih ispitanika s normalnom i s prekomjernom tjelesnom težinom (98). Nisu odredili promjene u koncentraciji malondialdehida, CRP-a, ICAM-1 i VCAM-1. Kako je obrok koji su ispitanici konzumirali bio po sadržaju masnoće sličan obroku u našem istraživanju moguće je da obrok s 55,5 g masnoće nije dovoljan za postprandijalni odgovor u smjeru povećanja koncentracije ispitivanih biljega tri sata nakon opterećenja što je podudarno s rezultatima našeg istraživanja.

Pored dobi i spola na koncentraciju triglicerida utječu prehrana, bolesti i terapija lijekovima (5). Međutim, kako je metabolizam triglicerida određen nizom proteina koji djeluju kao receptori i lipolitički enzimi ili njihovi aktivatori moguće je da promjene u strukturi i ekspresiji gena koji kodiraju te proteine utječu i na strukturu i funkciju samih proteina (3,56). Prema genskoj osnovi razlikujemo monogenske i poligenske hipertrigliceridemije. Postprandijalna hipertrigliceridemija se najčešće manifestira kod ljudi u srednjoj ili starijoj životnoj dobi i zbog toga se smatra da je poligenske osnove.

Jetrena lipaza i njezin aktivator APOA5 su važni čimbenici metabolizma triglicerida pa je u našem istraživanju određena učestalost polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu i polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5. Haplotip APOA5\*2 koji je definiran s pet različitih polimorfizama u genu za APOA5 između kojih je i mutirani oblik polimorfizma -1131T/C zastupljen kod 8% bijelaca, dok je frekvencija mutiranog alela u polimorfizmu -250G/A u genu za jetrenu lipazu kod bijelaca od 0,15 do 0,29. Raspodjela genotipova polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 kao i raspodjela alela T i C kod zdravih ispitanika našeg istraživanja nije se razlikovala od raspodjele u kontrolnoj skupini ispitanika te je bila u skladu s literaturnim podacima za zastupljenost haplotipa APOA\*2 kod bijelaca. Također, raspodjela genotipova polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu i raspodjela alela G i A nije se razlikovala između zdravih ispitanika i ispitanika kontrolne skupine te je frekvencija mutiranog alela A bila u skladu s literaturnim podacima za bijelce. Premda je 3% zdravih ispitanika imalo homozigotni mutirani oblik polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5, a 2% zdravih ispitanika je bilo nositelj homozigotnog mutiranog oblika polimorfizma -250G/A, niti jedan zdravi ispitanik nije bio homozigot za oba polimorfizma. U kontrolnoj skupini 2%

ispitanika je bilo nositelj homozigotnog mutiranog oblika polimorfizma -250G/A, a niti jedan ispitanik nije imao homozigotni mutirani oblik polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 niti je bio homozigot za oba polimorfizma.

Između naših zdravih ispitanika s različitim genotipom za polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 te između podskupine zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa i podskupine zdravih ispitanika koji su nositelji C alela nije pronađena razlika u koncentraciji rizičnih čimbenika za kardiovaskularne bolesti niti natašte niti postprandijalno. Slične rezultate opisali su i drugi autori (99).

Međutim, premda se pojedini genotip polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 ne može dovesti u vezu s fenotipom zdravih ispitanika u našem istraživanju bilo natašte ili nakon obroka znakovito je da su zdravi ispitanici nositelji C alela u heterozigotnom ili homozigotnom obliku imali veći porast postprandijalne hipertrigliceridemije, prosječno 89%, u odnosu na zdrave ispitanike s genotipom divljeg tipa u kojih je koncentracija triglicerida postprandijalno bila 71% veća od koncentracije triglicerida natašte. Izraženija postprandijalna hipertrigliceridemija mogla bi biti posljedica smanjene ekspresije gena za APOA5 zbog polimorfizma u promotorskoj regiji gena. Sličan postprandijalni odgovor odnosno povećanje koncentracije triglicerida, prosječno oko 58%, u odnosu na koncentraciju triglicerida natašte zabilježeno je kod zdravih muških ispitanika iz Koreje tri sata nakon opterećenja kaloričnim obrokom (68). Jang i suradnici su potvrdili povezanost polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 s povećanom koncentracijom triglicerida natašte i postprandijalno kod zdravih muškaraca iz Koreje (100). Osim koncentracije triglicerida rezultati njihovog istraživanja su pokazali i značajno povećanje koncentracije CRP-a i 8-epi-prostaglandina-F2 $\alpha$  postprandijalno tri sata nakon konzumiranja kaloričnog obroka. Značajan postprandijalni hipertrigliceridemični odgovor kod bijelaca koji su nositelji APOA5\*2 haplotipa i APOA5\*3 haplotipa u genu za APOA5 dokazali su Moreno-Luna i suradnici (52). Nekoliko istraživanja je pokazalo da su ispitanici nositelji oba polimorfna C alela imali prosječno 69% veću koncentraciju triglicerida nego ispitanici s genotipom divljeg tipa za polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 (101,102).

Koncentracije biljega oksidacijskog statusa, upale i endotelne disfunkcije nisu bile različite niti natašte niti postprandijalno između naših zdravih ispitanika s različitim genotipom polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu, odnosno između podskupine zdravih ispitanika nositelja A alela i zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa. Međutim, zdravi ispitanici nositelji A alela imali su natašte prosječno 15% manju koncentraciju triglicerida u

odnosu na zdrave ispitanike s genotipom divljeg tipa. Premda se u literaturi prisutnost mutiranog A alela u polimorfizmu -250G/A u genu za jetrenu lipazu povezuje sa smanjenom aktivnosti jetrene lipaze i povećanom koncentracijom triglicerida postprandijalno kod muških bijelaca (54), rezultati našeg istraživanja upućuju na zaštitnu ulogu A alela u regulaciji koncentracije triglicerida natašte. Istraživanje koje su proveli Zhao i suradnici na 230 Kineza oba spola u dobi od 25 do 89 godina pokazalo je da zdravi ispitanici nositelji A alela kao i bolesnici s koronarnom srčanom bolesti nositelji A alela nisu imali povećanu koncentraciju triglicerida u odnosu na nositelje genotipa divljeg tipa (103). Međutim, koncentracija triglicerida je bila čak prosječno 20% veća u skupini zdravih ispitanika s genotipom divljeg tipa što je slično kao u našem istraživanju. Rezultati našeg i istraživanja Zhao i suradnika upućuju na zaštitnu ulogu A alela u polimorfizmu -250G/A u genu za jetrenu lipazu koja je neovisna o rasi ispitanika.

Rezultati do sada objavljenih istraživanja koja su proučavala povezanost genske osnove s postprandijalnim odgovorom su proturječni kao i rezultati istraživanja učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na biljege oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije. Moguće objašnjenje za razlike u pojedinim istraživanjima su broj ispitanika i obilježja ispitivanih skupina. Primjerice, poznato je kako su genski polimorfizmi prisutni s različitom učestalosti u različitim etničkim skupinama. Posebno su velike razlike između populacije Azije i Europe. Stoga je nemoguće uspoređivati rezultate dobivene istraživanjima na različitim populacijama. Također, poznato je da su fenotipska obilježja brojnih stanja i bolesti posljedica genski određenih svojstava, ali i djelovanja čitavog niza okolišnih čimbenika kojima se može umanjiti ili pojačati genski čimbenik.

Već dugi niz godina istraživači pokušavaju razlučiti učinak kaloričnog masnog obroka i razlike u postprandijalnom odgovoru kod ljudi. Teškoće u postizanju ovog cilja mogu biti posljedica kompleksnosti više različitih čimbenika koji obuhvaćaju cijeli niz genskih i ne-genskih čimbenika.

Ovaj rad je obuhvatio ispitivanja niza mogućih čimbenika za koje se smatra da mogu dovesti do razlika u postprandijalnom odgovoru. Međutim, dobiveni rezultati su samo djelomice uspjeli odgovoriti na pitanje kakav učinak ima kalorični masni obrok na koncentraciju biokemijskih parametara, biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije te postoji li genetska osnova koja se dovodi u vezu s različitim odgovorom kod ljudi.

Valja istaknuti da su koncentracije ispitivanih parametara određene tri sata nakon što su ispitanici konzumirali kalorični masni obrok. Moguće je da se pozitivan postprandijalni odgovor javlja kasnije od tri sata nakon konzumiranja obroka. Shodno tome, na vrijeme javljanja postprandijalnog odgovora može utjecati i sastav kaloričnog masnog obroka. Kako je već bilo riječi u prethodno prikazanim istraživanjima, konzumirani obroci su se razlikovali u kalorijskoj vrijednosti i sadržaju masnoće za svaki pojedinačni obrok i to može biti jedan od razloga za dobivene razlike u postprandijalnom odgovoru ili za mogući izostanak postprandijalnog odgovora.

Nadalje, različiti modificirajući čimbenici također mogu utjecati na razlike u postprandijalnom odgovoru ili na mogući izostanak postprandijalnog odgovora kod ljudi kao što su prehrambene navike, konzumiranje antioksidansa, tjelovježba, razlike u koncentraciji hormona ovisno o dobi i spolu, stres i drugi. Kao što je već navedeno, pretpostavljamo da i etničke razlike mogu biti uzrokom nedovoljno konzistentnih rezultata prethodno provedenih istraživanja i rezultata dobivenih u našem istraživanju.

Međutim, važno je napomenuti da su u našem istraživanju sudjelovali samo muški ispitanici životne dobi od 52 do 68 godina. Stoga rezultate ovog istraživanja nije moguće poopćiti na cijelu populaciju. Ne možemo isključiti mogućnost da postoji razlika u postprandijalnom odgovoru kod ispitanika ženskog spola i druge životne dobi.

Naše istraživanje pruža čvrste dokaze za nedostatak povezanosti između biljega oksidacijskog stresa, upale i endotelne disfunkcije s postprandijalnom hipertrigliceridemijom kod zdravih sredovječnih muškaraca tri sata nakon konzumiranja standardiziranog kaloričnog masnog obroka. Vjerujemo da ovo istraživanje daje jasan i pouzdan doprinos razumijevanju biokemijskih promjena nakon masnog i kaloričnog obroka. Ono što svakako treba dodatno ispitati je pitanje što se događa kasnije od tri sata te postoji li razlika između muškaraca i žena u postprandijalnom odgovoru. Prema našim saznanjima, naše je istraživanje obuhvatilo najveću skupinu ispitanika, čime smo nastojali smanjiti vjerojatnost pogreške tipa 1 ( $\alpha$ -pogreška) na minimum (104). Moguće je da biokemijske promjene nisu opažene zbog analitičkih ograničenja naših metoda i zbog kompleksnih metaboličkih interakcija koje se događaju neposredno nakon obroka. Svakako bi potpuniju sliku o tim zbivanjima pružio uvid u promjene ekspresije na genskoj razini. To je svakako jedan od mogućih smjerova nekih budućih istraživanja.

## 7 ZAKLJUČCI

Rezultati istraživanja pokazali su sljedeće:

- Postprandijalna hipertrigliceridemija ne dovodi do promjene u koncentraciji biokemijskih biljega (glukoza, urati, ukupni kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol), TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 tri sata nakon kaloričnog masnog obroka, u standardiziranim uvjetima u skupini zdravih muškaraca.
- Nema razlike u raspodjeli genotipova niti u raspodjeli alela polimorfizma -1131T/C u genu za APOA5 i polimorfizma -250G/A u genu za jetrenu lipazu između skupine zdravih muškaraca i skupine bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2.
- Polimorfizam -1131T/C u genu za APOA5 i polimorfizam -250G/A u genu za jetrenu lipazu nisu povezani s različitom koncentracijom TAS-a, hsCRP-a i ICAM-1 nakon kaloričnog masnog obroka.
- Nositelji polimornog C alela u polimorfizmu -1131T/C u genu za APOA5 imaju jači postprandijalni hipertrigliceridemični odgovor u odnosu na ispitanike s genotipom divljeg tipa.
- Nositelji polimornog A alela u polimorfizmu -250G/A u genu za jetrenu lipazu imaju prosječno manju koncentraciju triglicerida natašte u odnosu na ispitanike s genotipom divljeg tipa.
- Učinak postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa (glukoza, urati, ukupni kolesterol, trigliceridi, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, TAS, hsCRP i ICAM-1) nije povezan s demografskim i antropometrijskim značajkama, dok se obiteljska anamneza za hipertenziju i akutni infarkt miokarda dovode u vezu sa značajno povećanom koncentracijom triglicerida određenih postprandijalno.
- Nema razlike u koncentraciji TAS-a i ICAM-1 među podskupinama ispitanika u odnosu na preporučenu vrijednost triglicerida te u odnosu na ITM.

## 8 LITERATURA

---

1 Goldberg IJ, Eckel RH, McPherson R. Triglycerides and heart disease, still a hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31(8):1716-25.

2 Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med* 1999;246:341-55.

3 Perret B, Mabile L, Martinez L, Tercé F, Barbaras R, Collet X. Hepatic lipase: structure/function relationship, synthesis, and regulation. *J Lipid Res* 2002;43:1163-9.

4 Adult Treatment Panel III. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421.

5 Breuer HW. Hypertriglyceridemia: a review of clinical relevance and treatment options: focus on cerivastatin. *Curr Med Res Opin* 2001;17(1):60-73.

6 Chapman JM, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, et al. For the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 2011;32:1345-61.

7 Fruchart JC, Sacks FM, Hermans MP, Assmann G, Brown WV, Ceska R, et al. The Residual Risk Reduction Initiative: a call to action to reduce residual vascular risk in dyslipidaemic patient. *Diab Vasc Dis Res* 2008;5(4):319-35.

8 Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 2005;135(5):969-72.

9 Esposito K, Giugliano D. Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2006;27(1):15-20.



- 
- 10 Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:473-85.
- 11 Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr* 2005;135(5):969-72.
- 12 Esposito K, Giugliano D. Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2006;27(1):15-20.
- 13 Reiner Ž, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J* 2011;32:1769-1818.
- 14 Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. *Atherosclerosis* 2007;194(1):1-45.
- 15 Tushuizen ME, Diamant M, Heine RJ. Postprandial dysmetabolism and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Postgrad Med J* 2005;81:1-6.
- 16 Eberly LE, Stamler J, Neaton JD, for the Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Relation of triglyceride levels, fasting and nonfasting, to fatal and nonfatal coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2003;163(9):1077-83.
- 17 Langsted A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Fasting and nonfasting lipid levels: influence of normal food intake on lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and cardiovascular risk prediction. *Circulation* 2008;118(20):2047-56.
- 18 Ridker PM. Fasting versus nonfasting triglycerides and the prediction of cardiovascular risk: do we need to revisit the oral triglyceride tolerance test? *Clin Chem* 2008;54(1):11-3.
- 19 Warnick GR, Nakajima K. Fasting versus nonfasting triglycerides: implications for laboratory measurements. *Clin Chem* 2008;54(1):14-6.

---

20 Čepelak I. Slobodni radikali i antioksidansi. u: Medicinska biokemija. ur: Štraus B. 3. izdanje Zagreb: Medicinska naklada; 2009. p: 638-48.

21 Sezen Y, Bas M, Polat M, Yildiz A, Buyukhatipoglu H, Kucukdurmaz Z, et al. The relationship between oxidative stress and coronary artery ectasia. *Cardiol J* 2010;17(5):488-94.

22 Nojiri S, Daida H, Mokuno H, Iwama Y, Mae K, Ushio F, et al. Association of serum antioxidant capacity with coronary artery disease in middle-aged men. *Jpn Heart J* 2001;42(6):677-90.

23 Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J* 2009;73(3):411-8.

24 Rizzo M, Berneis K. Lipid triad or atherogenic lipoprotein phenotype: a role in cardiovascular prevention? *J Atheroscler Thromb* 2005;12(5):237-9.

25 Holvoet P. Oxidized LDL and coronary heart disease. *Acta Cardiol* 2004;59(5):479-84.

26 Stephens JW, Gable DR, Hurel SJ, Miller GJ, Cooper JA, Humphries SE. Increased plasma markers of oxidative stress are associated with coronary heart disease in males with diabetes mellitus and with 10-year risk in a prospective sample of males. *Clin Chem* 2006;52(3):446-52.

27 Masaki T, Sawamura T. Endothelin and endothelial dysfunction. *Proc Jpn Acad* 2006;82:17-24.

28 Surekha RH, Srikanth BBMV, Jharna P, Ramachandra RV, Dayasagar RV, Jyothy A. Oxidative stress and total anti oxidant status in myocardial infarction. *Singapore Med J* 2007;48(2):137-42.

---

29 Esposito K, Nappo F, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Giugliano D. Effect of dietary antioxidants on postprandial endothelial dysfunction induced by a high-fat meal in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2003;77(1):139-43.

30 Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso G, et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: Role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol* 2002;39(7):1145-50.

31 Wallace JP, Johnson B, Padilla J, Mather K. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *Int J Clin Pract* 2010;64(3):389-403.

32 Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-11.

33 Demirbağ R, Rabuş B, Sezen Y, Taşkın A, Kalaycı S, Balkanay M. The plasma and tissue oxidative status in patients with coronary artery disease: oxidative stress and coronary artery disease. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg* 2010;18(2):79-82.

34 Nojiri S, Daida H, Mokuno H, Iwama Y, Mae K, Ushio F, et al. Association of serum antioxidant capacity with coronary artery disease in middle-aged men. *Jpn Heart J* 2001;42(6):677-90.

35 Čolak E, Dimitrijević-Srećković V, Djordjević PB, Stanković S, Glišić B, Srećković B, et al. Biomarkers of enzymatic and non-enzymatic antioxidative defense in type 2 diabetes mellitus – comparative analysis. *Biochem Med* 2008;18(2):42-51.

36 Di Napoli M, Elkind MS, Godoy DA, Singh P, Papa F, Popa-Wagner A. Role of C-reactive protein in cerebrovascular disease: a critical review. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2011;9(12):1565-84.

37 Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165-8.

---

38 Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002;347(20):1557-65.

39 Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO III, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107(3):499-511.

40 Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, et al. An update on the of markers of inflammation in atherosclerosis. *J AtherosclerThromb* 2010;17(1):1-11.

41 Calan M, Calan O, Gonen MS, Bilgir F, Kebapcilar L, Kulac E, et al. Examination of adhesion molecules, homocysteine and hs-CRP in patients with polygenic hypercholesterolemia and isolated hypertriglyceridemia. *Intern Med* 2011;50:1529-35.

42 Pearson TA, Mensah GA, Hong Y, Smith SC Jr; CDC; AHA. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: overview. *Circulation* 2004;110(25):e543-4.

43 Jaffrey SR. Dušikov oksid. u: Temeljna i klinička farmakologija. ur: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. 11. izdanje Zagreb: Medicinska naklada; 2009. p: 331-7.

44 Ružić A, Miletić B, Iskra Nola A, Peršić V, Ražov Radas M, Včev A. Endotelna disfunkcija u "enigmatskoj slagalici" kardiovaskularnih bolesti. *Med Glas* 2009;6(1):2-15.

45 Simundic AM. Struktura i funkcija adhezijskih molekula. Uloga adhezijskih molekula u aterogenezi. *Biochem Med* 2001;1-2:1-12.

46 Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(23 Suppl 1):III27-32.

---

47 Kukolja Taradi S, Andreis I. Ateroskleroza. u: Medicinska fiziologija. ur: Guyton AC, Hall JE. 11. izdanje Zagreb: Medicinska naklada; 2006. p: 848-51.

48 Lee KW, Lip GYH, Tayebjee M, Foster W, Blann AD. Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6 and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Blood* 2005;105:526-32.

49 Simundic AM, Basic V, Topic E, Demarin V, Vrkic N, Kunovic B, et al. Soluble adhesion molecules in acute ischemic stroke. *Clin Invest Med.* 2004;27(2):86-92.

50 O'Malley T, Ludlam CA, Riemersma RA, Fox KA. Early increase in levels of soluble inter-cellular adhesion molecule-1 (sICAM-1); potential risk factor for the acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2001 Jul;22(14):1226-34.

51 Ceriello A, Quagliari L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, et al. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes* 2004;53:701-10.

52 Moreno-Luna R, Perez-Jimenez F, Marin C, Perez-Martinez P, Gomez P, Jimenez-Gomez Y, et al. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes modulate postprandial lipoprotein metabolism in a healthy Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2280-5.

53 Maasz A, Kisfali P, Jaromi L, Horvatovich K, Szolnoki Z, Csongei V, et al. Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke. *Circ J* 2008;72:1065-70.

54 Jiménez-Gómez Y, Pérez-Jiménez F, Marín C, Gómez P, Moreno R, Delgado J, et al. The -250G/A polymorphism in the hepatic lipase gene promoter influences the postprandial lipemic response in healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:173-81.

55 Valdivielso P, Ariza MJ, De La Vega-Román C, González-Alegre T, Rioja J, Ulzurrun E, et al. Association of the -250G/A promoter polymorphism of the hepatic lipase gene with the

---

risk of peripheral arterial disease in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complicat* 2008;22:273-7.

56 Charlton-Menys V, Durrington PN. Apolipoprotein A5 and hypertriglyceridemia. *Clin Chem* 2005;51(2):295-7.

57 Shanker J, Perumal G, Rao VS, Khadrinarasimhiah NB, John S, Hebbagodi S, et al. Genetic studies on the APOA1-C3-A5 gene cluster in Asian Indians with premature coronary artery disease. *Lipids in Health and Disease* 2008;7:33. Dostupno na: <http://www.lipidworld.com/content/7/1/33>.

58 van der Vliet HN, Sammels MG, Leegwater AC, Levels JH, Reitsma PH, Boers W, et al. Apolipoprotein A-V: a novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration. *J Biol Chem* 2001;276(48):44512-20.

59 Prieur X, Coste H, Rodriguez JC. The human apolipoprotein AV gene is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and contains a novel farnesoid X-activated receptor response element. *J Biol Chem* 2003;278(28):25468-80.

60 Shu X, Ryan RO, Forte TM. Intracellular lipid droplet targeting by apolipoprotein A-V requires the carboxyl-terminal segment. *J. Lipid Res* 2008;49:1670-6.

61 Prieur X, Coste H, Rodriguez JC. The human apolipoprotein AV gene is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and contains a novel farnesoid X-activated receptor response element. *J Biol Chem* 2003;278(28):25468-80

62 Weinberg RB, Cook VR, Beckstead JA, Martin DDO, Gallagher JW, Shelness GS, et al. Structure and interfacial properties of human apolipoprotein A-V. *J Biol Chem* 2003;278(36):34438-44.

63 Shu X, Chan J, Ryan RO, Trudy M, Forte Apolipoprotein A-V association with intracellular lipid droplets. *J Lipid Res* 2007;48:1445-50.

---

64 Hamon SC, Kardina SLR, Boerwinkle E, Liu K, Klos KLE, Clark AG, et al. Sing. Evidence for consistent intragenic and intergenic interactions between SNP effects in the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster. *Hum Hered* 2006;61(2):87-96.

65 Pennacchio LA, Rubin EM. Apolipoprotein A5, a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:529-34.

66 Moreno-Luna R, Perez-Jimenez F, Marin C, Perez-Martinez P, Gomez P, Jimenez-Gomez Y, et al. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes modulate postprandial lipoprotein metabolism in a healthy Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2280-5.

67 Mar R, Pajukanta P, Allayee H, Groenendijk M, Dallinga-Thie G, Krauss RM, et al. Association of the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride levels and LDL particle size in familial combined hyperlipidemia. *Circ Res* 2004;94:993-9.

68 Kim JY, Kim OY, Koh SJ, Jang Y, Yun SS, Ordovas JM, et al. Comparison of low-fat meal and high-fat meal on postprandial lipemic response in non-obese men according to the -1131T>C polymorphism of the apolipoprotein A5 (APOA5) gene (randomized cross-over design). *J Am Coll of Nutr* 2006;25(4):340-7.

69 van't Hooft FM, Lundahl B, Ragona F, Karpe F, Olivecrona G, Hamsten A. Functional characterization of 4 polymorphisms in promoter region of hepatic lipase gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1335-9.

70 Perret B, Mabile L, Martinez L, Tercé F, Barbaras R, Collet X. Hepatic lipase: structure/function relationship, synthesis, and regulation. *J Lipid Res* 2002;43:1163-9.

71 Connelly PW. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism. *Clinica Chimica Acta* 1999;286:243-55.

72 Deeb SS, Zambon A, Carr MC, Ayyobi AF, Brunzell JD. Hepatic lipase and dyslipidemia: interactions among genetic variants, obesity, gender, and diet. *J Lipid Res* 2003;44:1279-86.

---

73 Santamarina-Fojo S, González-Navarro H, Freeman L, Wagner E, Nong Z. Hepatic lipase, lipoprotein metabolism, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1750-4.

74 Jiménez-Gómez Y, Pérez-Jiménez F, Marín C, Gómez P, Moreno R, Delgado J, et al. The -250G/A polymorphism in the hepatic lipase gene promoter influences the postprandial lipemic response in healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;18:173-81.

75 Pihlajamäki J, Karjalainen L, Karhapää P, Vauhkonen I, Taskinen MR, Deeb SS, et al. G-250A substitution in promoter of hepatic lipase gene is associated with dyslipidemia and insulin resistance in healthy control subjects and in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1789-95.

76 Zacharova J, Todorova BR, Chiasson JL, Laakso M, for the STOP-NIDDM Study Group. The G-250A substitution in the promoter region of the hepatic lipase gene is associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP-NIDDM trial. *J Intern Med* 2005;257:185-93.

77 Liu L, Zhao SP, Wen T, Zhou HN, Hu M, Li JX: Postprandial hypertriglyceridemia associated with inflammatory response and procoagulant state after a high-fat meal in hypertensive patients. *Coron Artery Dis* 2008;19:145-51.

78 Waist Circumference and Waist–Hip Ratio: Report of a WHO Expert Consultation, Geneva, 8-11 December 2008.

79 Simundic AM. Practical recommendations for statistical analysis and data presentation in *Biochemia Medica* journal. *Biochem Med* 2012;22(1):15-23.

80 Colton T. Correlation. u: *Statistics in Medicine*, ur: Colton T. Boston, MA: Little, Brown, 1974, p. 207-17.

81 Tsai WC, Li YH, Lin CC, Chao TH, Chen JH. Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. *Clin Sci* 2004;106:315-9.



---

82 Kackov S, Simundic AM, Nikolac N, Bilusic M. The association of uric acid with glucose and lipids in general population: Croatian cross-sectional study. *Coll Antropol* 2011;35(4):1055-9.

83 Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske: Akcijski plan za prevenciju i smanjenje prekomjerne tjelesne težine za razdoblje od 2010. do 2012. godine, Zagreb, 2010.

84 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, *in press*

85 Atar İA, Atar İ, Aydınalp A, Ertan Ç, Bozbaş H, Özin B, et al. Is there any relationship between coronary artery disease and postprandial triglyceride levels? *Anadolu Kardiyol Derg* 2011;11:201-6.

86 Colak E, Majkic-Singh N, Zoric L, Radosavljevic A, Kosanovic-Jakovic N. The role of CRP and inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Biochem Med* 2012;22(1):39-48.

87 Myers GL, Rifai N, Tracy RP, Roberts WL, Alexander RW, Biasucci LM, et al; CDC; AHA. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: report from the laboratory science discussion group. *Circulation*. 2004;110(25):e545-9.

88 Dixon NC, Hurst TL, Talbot DC, Tyrrell RM, Thompson D. Active middle-aged men have lower fasting inflammatory markers but the postprandial inflammatory response is minimal and unaffected by physical activity status. *J Appl Physiol* 2009;107(1):63-8.

89 Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein concentrations: an analysis of published data. *BMJ* 1989;298(6676):784-8.

---

90 Gartside PS, Wang P, Glueck CJ. Prospective assessment of coronary heart disease risk factors: the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study (NHEFS) 16-year follow-up. *J Am Coll Nutr* 1998;17(3):263-9.

91 Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 2004;43(10):1731-7.

92 Ezzati M, Henley SJ, Thun MJ, Lopez AD. Role of smoking in global and regional cardiovascular mortality. *Circulation* 2005;112(4):489-97.

93 World Health Organization. Tobacco or Health: A global status report. WHO, Geneva 1997.

94 World Health Organization. Prevention of Cardiovascular Disease Pocket Guidelines for Assessment and Management of Cardiovascular Risk. WHO, Geneva 2007.

95 Ferreira AC, Peter AA, Mendez AJ, Jimenez JJ, Mauro LM, Chirinos JA, et al. Postprandial hypertriglyceridemia increases circulating levels of endothelial cell microparticles. *Circulation* 2004;110:3599-603.

96 Pears AD, Rankin JW, Lee YW. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J* 2011;10:122. Dostupno na: <http://www.nutritionj.com/content/10/1/122>.

97 Rubin D, Claas S, Pfeuffer M, Nothnagel M, Foelsch UR, Schrezenmeir J. s-ICAM-1 and s-VCAM-1 in healthy men are strongly associated with traits of the metabolic syndrome, becoming evident in the postprandial response to a lipid-rich meal. *Lipids Health Dis* 2008;7:32. Dostupno na: <http://www.lipidworld.com/content/7/1/32>.

98 Denniss SG, Haffner TD, Kroetsch JT, Davidson SR, Rush JWE, Hughson RL. Effect of short-term lycopene supplementation and postprandial dyslipidemia on plasma antioxidants and biomarkers of endothelial health in young, healthy individuals. *Vasc Health Risk Manag* 2008;4(1):213-22.

---

99 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; 32(10):589-93.

100 Jang Y, Kim JY, Kim OY, Lee JE, Cho H, Ordovas JM, et al: The -1131T→C polymorphism in the apolipoprotein A5 gene is associated with postprandial hypertriacylglycerolemia; elevated small, dense LDL concentrations; and oxidative stress in nonobese Korean men. *Am J Clin Nutr* 2004;80:832-40.

101 Lee KW, Ayyobi AF, Frohlich JJ, Hill JS. APOA5 gene polymorphism modulates levels of triglyceride, HDL Cholesterol and FERHDL but is not a risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2004;176:165-72.

102 Klos K, Hamon S, Clark AG, Boerwinkle E, Liu K, Sing CF. APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study. *J Lipid Res* 2005;46:564-70.

103 Zhao S, Xie X, Nie S. The -250G→A polymorphism in the human hepatic lipase gene promoter affects blood lipids in Chinese. *Clin Chim Acta* 2006;365:149-52.

104 Simundic AM: Bias in research. *Biochem Med* 2013;23(1):12-5.

## 9 POPIS KRATICA

Kratika	Značenje
A	adenin
AHA	Američko udruženje za bolesti srca, engl. <i>American Heart Association</i>
APOA5	apolipoprotein A5, engl. <i>apolipoprotein A5</i>
ATP	engl. <i>Adult Treatment Panel</i>
ITM	indeks tjelesne mase, engl. <i>body mass index</i>
C	citozin
CDC	Centar za kontrolu i prevenciju bolesti, engl. <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CI	interval pouzdanosti, engl. <i>confidence interval</i>
CRP	C-reaktivni protein, engl. <i>C-reactive protein</i>
DNA	deoksiribonukleinska kiselina, engl. <i>deoxyribonucleic acid</i>
EDCFs	endotelni kontraktilni čimbenici ovisni o ciklooksigenazi, engl. <i>endothelium-derived cyclooxygenase-dependent contracting factors</i>
EDHF	endotelni hiperpolarizirajući čimbenik, engl. <i>endothelium derived hyperpolarizing factor</i>
ELISA	enzimimunokemijska metoda, engl. <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ET-1	endotelin-1, engl. <i>endothelin-1</i>
FXR	farnesoid X-aktivirani receptor, engl. <i>farnesoid X-activated receptor</i>
FRET	fluorescentno-rezonantna energija, engl. <i>fluorescence resonance energy transfer</i>
Fw	nizvodna početnica, engl. <i>forward primer</i>
G	gvanin
HDL	lipoprotein velike gustoće, engl. <i>high-density lipoprotein</i>
HL	jetrena lipaza, engl. <i>hepatic lipase</i>
HRP	engl. <i>horseradish peroxidase</i>
hsCRP	visoko osjetljivi CRP, engl. <i>high sensitivity CRP</i>
ICAM-1	intercelularna adhezijska molekula tipa 1, engl. <i>intercellular adhesion molecule-1</i>
IDL	lipoprotein srednje gustoće, engl. <i>intermediate-density lipoprotein</i>

<b>Kratica</b>	<b>Značenje</b>
K <sub>3</sub> EDTA	K <sub>3</sub> etilendiamin tetraacetat, engl. <i>K<sub>3</sub> ethylene diamine tetra acetic acid</i>
LDL	lipoprotein niske gustoće, engl. <i>low-density lipoprotein</i>
NCEP	engl. <i>National Cholesterol Education Program</i>
NF-κB	nuklearni čimbenik kappa B, engl. <i>nuclear factor kappa B</i>
NO	dušikov oksid, engl. <i>nitric oxide</i>
OR	omjer izgleda, engl. <i>odds ratio</i>
PAF	faktor aktivacije trombocita, engl. <i>platelet activating factor</i>
PCR	lančana reakcija polimerazom, engl. <i>polymerase chain reaction</i>
PPARα	peroksisomski proliferator-aktivirani receptor α, engl. <i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>
r	koeficijent korelacije
RFLP	polimorfizam duljine restrikcijskih odsječaka, engl. <i>restriction fragment length polymorphism</i>
RNS	reaktivni dušikovi spojevi, engl. <i>reactive nitrogen species</i>
ROS	reaktivni kisikov spojevi, engl. <i>reactive oxigen species</i>
RT-PCR	PCR u stvarnom vremenu, engl. <i>real time PCR</i>
Rv	uzvodna početnica, engl. <i>reverse primer</i>
SD	standardna devijacija, engl. <i>standard deviation</i>
T	timin
TAS	ukupni antioksidacijski status, engl. <i>total antioxidant status</i>
TAE	tris-acetat-EDTA
Tm	temperatura taljenja, engl. <i>melting temperature</i>
TNF-α	tumor nekrotizirajući čimbenik α, engl. <i>tumor necrosis factor-α</i>
VCAM-1	vaskularna stanična adhezijska molekula tipa 1, engl. <i>vascular cell adhesion molecule-1</i>
VLDL	lipoprotein vrlo niske gustoće, engl. <i>very low-density lipoprotein</i>
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija, engl. <i>World Health Organization</i>
w/h ratio	omjer struk/bokovi, engl. <i>waste to hip ratio</i>

## 10 SAŽETAK

Kardiovaskularne bolesti su danas vodeći uzročnik pobola i smrti kako u razvijenim zemljama svijeta tako i u Hrvatskoj. Jedan od potencijalnih čimbenika rizika je postprandijalna hipertrigliceridemija. Novija istraživanja ukazuju da bi postprandijalna hipertrigliceridemija mogla biti povezana s oksidacijskim stresom, sistemskom upalom i endotelnom disfunkcijom.

Ciljevi ovog istraživanja su bili ispitati: učinak kaloričnog obroka na biokemijske parametre, biljege upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije u skupini zdravih muškaraca; učestalost -1131T/C polimorfizma APOA5 gena i -250G/A promotorskog polimorfizma gena za jetrenu lipazu u skupini zdravih muškaraca i bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2; povezanost učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa s ispitivanim polimorfizmima; i povezanost učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa s demografskim i antropometrijskim značajkama te anamnestičkim podacima ispitanika.

U istraživanje su uključena 102 zdrava muška dobrovoljca. Svi ispitanici su konzumirali kalorični obrok (823 kcal, 55,5 g masnoće, 34,7 g proteina, 63,9 g ugljikohidrata). Koncentracije glukoze, ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, urata, hsCRP-a, TAS-a i ICAM-1 su određene natašte i postprandijalno, dok je koncentracija HbA1c određena natašte. U uzorcima krvi koji su prikupljeni natašte su određeni i polimorfizmi ispitivanih gena. U kontrolnu skupinu je uključeno 50 bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 koji nisu konzumirali kalorični obrok i krv im se uzorkovala jedanput za određivanje ispitivanih polimorfizama.

Koncentracija triglicerida određenih postrandijalno je bila značajno povećana (2,4 (1,9 - 3,3) vs. 1,4 (1,1 - 2,1) mmol/L,  $P < 0,001$ ) u skupini ispitanika. Prosječno povećanje koncentracije triglicerida određenih postprandijalno bilo je  $1,0 \pm 0,7$  mmol/L (65%). Pronađena je značajna razlika u koncentraciji glukoze ( $P = 0,017$ ) te u koncentraciji urata, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, TAS-a i ICAM-1 ( $P < 0,001$ ) određenih natašte i postprandijalno u skupini ispitanika. Međutim, ove razlike su bile unutar granica analitičke nepreciznosti. Pozitivna obiteljska anamneza za hipertenziju i akutni infarkt miokarda su bile značajno povezane s razlikama u koncentraciji triglicerida određenih postprandijalno. Koncentracije drugih biljega nisu bile značajno promijenjene tri sata nakon obroka. S obzirom na prisutnost ispitivanih

polimorfizama APOA5 gena i gena za jetrenu lipazu, nije pronađena razlika u koncentraciji triglicerida određenih postprandijalno.

Postprandijalna hipertrigliceridemija ne dovodi do promjene u koncentraciji biokemijskih biljega, biljega upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije. Nadalje, nema razlike u raspodjeli genotipova niti u raspodjeli alela ispitivanih polimorfizama između skupine zdravih muškaraca i bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2. Ispitivani polimorfizmi nisu povezani s različitom koncentracijom triglicerida, biljega upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije nakon kaloričnog masnog obroka. Međutim, obiteljska anamneza za hipertenziju i akutni infarkt miokarda se dovode u vezu sa značajno povećanom koncentracijom triglicerida određenih postprandijalno.

**Ključne riječi:** apolipoprotein A5, jetrena lipaza, postprandijalna hipertrigliceridemija, oksidacijski stres, upala, endotelna disfunkcija

## 11 SUMMARY

Cardiovascular disease is now the leading cause of morbidity and mortality both in developed countries of the world and in Croatia. One of the potential risk factors is postprandial hypertriglyceridemia. Recent studies suggest that postprandial hypertriglyceridemia may be associated with oxidative stress, systemic inflammation and endothelial dysfunction.

Our aims were to investigate: the effect of high-calorie meal on blood biochemical parameters, markers of oxidative stress and endothelial dysfunction in healthy male subjects; the frequency of APOA5 -1131T/C and -250G/A hepatic lipase polymorphisms in healthy subjects and patients with type 2 diabetes mellitus; the association of the effect postprandial hypertriglyceridemia on markers of interest with investigated polymorphisms; and the association of the effect postprandial hypertriglyceridemia on markers of interest with demographic and anthropometric characteristics and family history.

This study included 102 healthy male volunteers. All participants consumed a high-calorie meal (823 calories, 55,5 g fat, 34,7 g protein, 63,9 g carbohydrates). Glucose, total cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, uric acid, hsCRP, TAS and ICAM-1 were measured at fasting state and postprandially, while HbA1c was measured at fasting state. APOA5 -1131T/C and -250G/A HL polymorphisms were also determined. Homogenous group of fifty participants with type 2 diabetes mellitus were recruited into the study. They did not consume a standardized meal and blood samples were drawn only once for the purpose of determining of genetic polymorphisms.

Postprandial triglycerides were significantly increased (2,4 (1,9 - 3,3) vs. 1,4 (1,1 - 2,1) mmol/L,  $P < 0,001$ ) in study subjects. Average triglyceride increase was  $1,0 \pm 0,7$  mmol/L (65%). Concentration of glucose ( $P = 0,017$ ), uric acid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, TAS and ICAM-1 differed significantly between the fasting state and postprandial measurements ( $P < 0,001$ ). However, those differences were within the limits of analytical imprecision. Family history of hypertension and acute myocardial infarction were associated with higher postprandial triglyceride concentrations. Other parameters did not change 3 hours after the meal. Triglycerides response did not differ respective to the APOA5 and HL polymorphisms.

Postprandial hypertriglyceridemia is not associated with increased concentrations of biochemical parameters, markers of inflammation, oxidative stress and endothelial



dysfunction. Moreover, there are no differences in the genotypes frequency and the allelic frequency of investigated polymorphisms between healthy male subjects and patients with type 2 diabetes mellitus. Investigated polymorphisms are not associated with differences in concentration of triglycerides, markers of inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction after a high-calorie meal. However, family history of hypertension and acute myocardial infraction are associated with markedly higher postprandial triglycerides.

**Keywords:** apolipoprotein A5, hepatic lipase, postprandial hypertriglyceridemia, oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction

## 12 ŽIVOTOPIS

Sanja Kačkov je rođena 13. studenog 1978. godine u Banja Luci. Studij medicinske biokemije na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 1998. godine. Diplomski rad pod naslovom "Usporedba dviju metoda za kvantitativno određivanje D-dimera s koncentracijama ukupnih razgradnih produkata fibrina i fibrinogena" i pod mentorstvom prof. dr. sc. Renate Zadro, brani 09.09.2004. godine i stječe zvanje diplomiranog inženjera medicinske biokemije.

U razdoblju od studenog 2004. do ožujka 2007. godine zaposlena je u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb. Državni ispit pri Ministarstvu zdravstva i socijalne skrbi položila je u prosincu 2005. godine i stekla dozvolu za samostalan rad.

Od ožujka 2007. godine do danas zaposlena je u Medicinsko-biokemijskom laboratoriju Poliklinike Bonifarm.

U prosincu 2007. godine upisuje poslijediplomski doktorski studij na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, modul Medicinsko-biokemijske znanosti, pod mentorstvom prof. dr. sc. Ana-Marie Šimundić.

Specijalistički staž iz Analitičke toksikologije započinje u travnju 2010. godine pod mentorstvom dipl. ing. Ksenije Samoščanec, specijaliste analitičke toksikologije u Kliničkom zavodu za kemiju Kliničkog bolničkog centra "Sestre milosrdnice" u Zagrebu.

Članica je Povjerenstva za informiranje i odnose s javnošću pri Hrvatskom društvu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu.

Funkciju predsjednice Povjerenstva za etiku i deontologiju pri Hrvatskom društvu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu obnaša od 2012. godine.

Funkciju predsjednice Povjerenstva za medicinsku etiku i deontologiju pri Hrvatskoj komori medicinskih biokemičara obnaša od 2012. godine.

Članica je Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Hrvatskog toksikološkog društva i Hrvatske komore medicinskih biokemičara.

## **POPIS OBJAVLJENIH RADOVA**

### **Radovi zastupljeni u Current Contents-u:**

1. Kackov S, Simundic AM, Nikolac N, Bilusic M. The association of uric acid with glucose and lipids in general population: Croatian cross-sectional study. Coll Antropol 2011;35(4):1055-9.
2. 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;62:643-52.
3. 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;32(10):589-93.

### **Ostali radovi:**

1. Kackov S, Simundic AM, Gatti-Drnic A. Are patients well informed about the fasting requirements for laboratory blood testing? Biochem Med 2013;23(3):326-31.

### **Kongresna priopćenja (sažeci):**

1. Kačkov S, Rogić D, Fressl G, Kralik S, Fuček M. Usporedba triju potpuno automatiziranih imunokemijskih metoda za mjerenje ukupnog HCG u serumu. Biochem Med 2006;16(Suppl1):S155. 5. hrvatski kongres medicinskih biokemičara s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska 2006.
2. Vlašić Tanasković J, Kačkov S, Mitrović Z, Žagar M, Sertić J. Jednostavan i brz protokol za molekularno dokazivanje normalnih i produljenih alela miotonične distrofije tipa 2. Biochem Med 2006;16(Suppl1):S174-5. 5. hrvatski kongres medicinskih biokemičara s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska 2006.

3. Miloš M, Coen Herak D, Kačkov S, Zadro R. Rutinske koagulacijske analize na koagulacijskom analizatoru ACL TOP. *Biochem Med* 2006;16(Suppl1):S253-4. 5. hrvatski kongres medicinskih biokemičara s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska 2006.
4. Fressl G, Rogić D, Kačkov S, Fuček M. Spektrofotometrijsko određivanje karboksihemoglobina – usporedba vrijednosti dobivenih na analizatoru NOVA CO-oksimer i spektrofotometrijskom metodom po Bruckneru. *Biochem Med* 2006;16(Suppl1):S200-1. 5. hrvatski kongres medicinskih biokemičara s međunarodnim sudjelovanjem, Poreč, Hrvatska 2006.
5. Kačkov S, Šimundić AM, Nikolac N, Bilušić M. Povezanost metaboličkih poremećaja (hiperglikemije, dislipidemije) s hiperurikemijom u općoj populaciji. *Biochemia Medica* 2009;19(Suppl1):S113-4. 6. hrvatski kongres medicinskih biokemičara s međunarodnim sudjelovanjem, Supetar, Brač, Hrvatska 2009.
6. Kackov S, Simundic AM, Nikolac N, Celap I, Dukic L, Bilusic M. The association of postprandial triglycerides with hsCRP, TAS, ICAM-1 and APOA5 and HL gene variants. *Biochem Med* 2012;22(3):A153-4. 2nd European Joint Congress of EFLM and UEMS and 7th Congress of the Croatian Society for Medical Biochemistry and Laboratory medicine (CSMBLM): Laboratory Medicine at the Clinical Interface, Dubrovnik, Croatia 2012.
7. Miler M, Segulja D, Nikolac N, Celap I, Kackov S, Simundic AM. Markers of the obesity and inflammation in patients with metabolic syndrome and on dialysis. *Biochem Med* 2012;22(3):A189. 2nd European Joint Congress of EFLM and UEMS and 7th Congress of the Croatian Society for Medical Biochemistry and Laboratory medicine (CSMBLM): Laboratory Medicine at the Clinical Interface, Dubrovnik, Croatia 2012.
8. Kačkov S, Šimundić AM, Gatti-Drnić Ani. Znaju li korisnici laboratorijskih usluga kako se pripremiti za laboratorijske pretrage? Simpozij LOKUS, Vodice, Hrvatska 2013.
9. Grdic Rajkovic M, Butorac D, Celap I, Kackov S, Zanic Grubisic T. Paraoxonase 1 activity in patients with premalignant lesion of the cervix. 38th Federation of European Biochemical Societies Congress: Mechanisms in Biology, St. Petersburg, Russia 2013.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Doktorski rad

## POLIMORFIZAM GENA ZA APOLIPOPROTEIN A5 I JETRENU LIPAZU I BILJEZI OKSIDACIJSKOG STRESA I ENDOTELNE DISFUNKCIJE

Sanja Kačkov

Medicinsko-biokemijski laboratorij, Poliklinika Bonifarm, Zagreb

Kardiovaskularne bolesti su danas vodeći uzročnik pobola i smrti kako u razvijenim zemljama svijeta tako i u Hrvatskoj. Jedan od potencijalnih čimbenika rizika je postprandijalna hipertrigliceridemija. Novija istraživanja ukazuju da bi postprandijalna hipertrigliceridemija mogla biti povezana s oksidacijskim stresom, sistemskom upalom i endotelnom disfunkcijom. Ciljevi ovog istraživanja su bili ispitati: učinak kaloričnog obroka na biokemijske parametre, biljege upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije u skupini zdravih muškaraca; učestalost -1131T/C polimorfizma APOA5 gena i -250G/A promotorskog polimorfizma gena za jetrenu lipazu u skupini zdravih muškaraca i bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2; povezanost učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa s ispitivanim polimorfizmima; i povezanost učinka postprandijalne hipertrigliceridemije na koncentraciju biljega od interesa s demografskim i antropometrijskim značajkama te anamnestičkim podacima ispitanika.

U istraživanje su uključena 102 zdrava muška dobrovoljca. Svi ispitanici su konzumirali kalorični obrok (823 kcal, 55,5 g masnoće, 34,7 g proteina, 63,9 g ugljikohidrata). Koncentracije glukoze, ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, urata, hsCRP-a, TAS-a i ICAM-1 su određene natašte i postprandijalno, dok je koncentracija HbA1c određena natašte. U uzorcima krvi koji su prikupljeni natašte su određeni i polimorfizmi ispitivanih gena. U kontrolnu skupinu je uključeno 50 bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 koji nisu konzumirali kalorični obrok i krv im se uzorkovala jedanput za određivanje ispitivanih polimorfizama.

Koncentracija triglicerida određenih postrandijalno je bila značajno povećana (2,4 (1,9 - 3,3) vs. 1,4 (1,1 - 2,1) mmol/L,  $P < 0,001$ ) u skupini ispitanika. Prosječno povećanje koncentracije triglicerida određenih postprandijalno bilo je  $1,0 \pm 0,7$  mmol/L (65%). Pronađena je značajna razlika u koncentraciji glukoze ( $P = 0,017$ ) te u koncentraciji urata, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, TAS-a i ICAM-1 ( $P < 0,001$ ) određenih natašte i postprandijalno u skupini ispitanika. Međutim, ove razlike su bile unutar granica analitičke nepreciznosti. Pozitivna obiteljska anamneza za hipertenziju i akutni infarkt miokarda su bile značajno povezane s razlikama u koncentraciji triglicerida određenih postprandijalno. Koncentracije drugih biljega nisu bile značajno promijenjene tri sata nakon obroka. S obzirom na prisutnost ispitivanih polimorfizama APOA5 gena i gena za jetrenu lipazu, nije pronađena razlika u koncentraciji triglicerida određenih postprandijalno.

Postprandijalna hipertrigliceridemija ne dovodi do promjene u koncentraciji biokemijskih biljega, biljega upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije. Nadalje, nema razlike u raspodjeli genotipova niti u raspodjeli alela ispitivanih polimorfizama između skupine zdravih muškaraca i bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2. Ispitivani polimorfizmi nisu povezani s različitom koncentracijom triglicerida, biljega upale, oksidacijskog stresa i endotelne disfunkcije nakon kaloričnog masnog obroka. Međutim, obiteljska anamneza za hipertenziju i akutni infarkt miokarda se dovode u vezu sa značajno povećanom koncentracijom triglicerida određenih postprandijalno.

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

Rad sadrži: 116 stranica, 19 slika, 49 tablica i 104 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: apolipoprotein A5, jetrena lipaza, postprandijalna hipertrigliceridemija, oksidacijski stres, upala, endotelna disfunkcija

Mentor: **Dr. sc. Ana-Maria Šimundić**, *izvanredna profesorica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Nada Vrkić**, *izvanredna profesorica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

**Dr. sc. József Petrik**, *profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

**Dr. sc. Renata Zrinski Topić**, *znanstvena savjetnica, Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb*

Datum prihvatanja rada: 19. ožujka 2014.

# BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral Thesis

## POLYMORPHISMS OF THE APOLIPOPROTEIN A5 AND HEPATIC LIPASE GENES AND MARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

Sanja Kačkov

Medical biochemistry laboratory, Policlinic Bonifarm, Zagreb

Cardiovascular disease is now the leading cause of morbidity and mortality both in developed countries of the world and in Croatia. One of the potential risk factors is postprandial hypertriglyceridemia. Recent studies suggest that postprandial hypertriglyceridemia may be associated with oxidative stress, systemic inflammation and endothelial dysfunction. Our aims were to investigate: the effect of high-calorie meal on blood biochemical parameters, markers of oxidative stress and endothelial dysfunction in healthy male subjects; the frequency of APOA5 -1131T/C and -250G/A hepatic lipase polymorphisms in healthy subjects and patients with type 2 diabetes mellitus; the association of the effect postprandial hypertriglyceridemia on markers of interest with investigated polymorphisms; and the association of the effect postprandial hypertriglyceridemia on markers of interest with demographic and anthropometric characteristics and family history.

This study included 102 healthy male volunteers. All participants consumed a high-calorie meal (823 calories, 55,5 g fat, 34,7 g protein, 63,9 g carbohydrates). Glucose, total cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, uric acid, hsCRP, TAS and ICAM-1 were measured at fasting state and postprandially, while HbA1c was measured at fasting state. APOA5 -1131T/C and -250G/A HL polymorphisms were also determined. Homogenous group of fifty participants with type 2 diabetes mellitus were recruited into the study. They did not consume a standardized meal and blood samples were drawn only once for the purpose of determining of genetic polymorphisms.

Postprandial triglycerides were significantly increased (2,4 (1,9 - 3,3) vs. 1,4 (1,1 - 2,1) mmol/L,  $P < 0,001$ ) in study subjects. Average triglyceride increase was  $1,0 \pm 0,7$  mmol/L (65%). Concentration of glucose ( $P = 0,017$ ), uric acid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, TAS and ICAM-1 differed significantly between the fasting state and postprandial measurements ( $P < 0,001$ ). However, those differences were within the limits of analytical imprecision. Family history of hypertension and acute myocardial infarction were associated with higher postprandial triglyceride concentrations. Other parameters did not change 3 hours after the meal. Triglycerides response did not differ respective to the APOA5 and HL polymorphisms.

Postprandial hypertriglyceridemia is not associated with increased concentrations of biochemical parameters, markers of inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction. Moreover, there are no differences in the genotypes frequency and the allelic frequency of investigated polymorphisms between healthy male subjects and patients with type 2 diabetes mellitus. Investigated polymorphisms are not associated with differences in concentration of triglycerides, markers of inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction after a high-calorie meal. However, family history of hypertension and acute myocardial infarction are associated with markedly higher postprandial triglycerides.

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

Thesis includes: 116 pages, 19 figures, 49 tables and 104 references. Original is in Croatian language.

Key words: apolipoprotein A5, hepatic lipase, postprandial hypertriglyceridemia, oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction

Supervisor: **Ana-Maria Šimundić, Ph.D.**, Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Nada Vrkić, Ph.D.**, Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**József Petrik, Ph.D.**, Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Renata Zrinski Topić, Ph.D.**, Scientific Adviser, Children's Hospital Srebrnjak, Zagreb

The thesis accepted: 19<sup>th</sup> March 2014