

# Uloga ciklooksigenaze u mehanizmima vaskularne reaktivnosti mikrocirkulacije kože kod mladih zdravih ispitanika

---

Kaprel, Rebeka

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:926691>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO**  
**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Rebeka Kaprel**

**ULOGA CIKLOOKSIGENAZE U**  
**MEHANIZMIMA VASKULARNE**  
**REAKTIVNOSTI MIKROCIRKULACIJE**  
**KOŽE KOD MLADIH ZDRAVIH**  
**ISPITANIKA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2021.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO**  
**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Rebeka Kaprel**

**ULOGA CIKLOOKSIGENAZE U**  
**MEHANIZMIMA VASKULARNE**  
**REAKTIVNOSTI MIKROCIRKULACIJE**  
**KOŽE KOD MLADIH ZDRAVIH**  
**ISPITANIKA**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2021.**

Rad je ostvaren na Zavodu i katedri za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek, u Laboratoriju za fiziologiju sporta i mikrocirkulaciju.

Mentor rada: prof. dr. sc. Ines Drenjančević, dr. med.

Neposredni voditelj rada: Petar Šušnjara, univ. mag. med. lab. diagn.

Rad ima 32 lista, 4 tablice i 5 slika.

*Veliko hvala mojoj mentorici prof. dr. sc. Ines Drenjančević, dr. med. na stručnoj pomoći i uloženom vremenu tijekom izrade ovoga rada.*

*Hvala i kolegi Petru Šušnjari, mag. med. lab. diagn. na pomoći i usmjeravanju prilikom provedbe istraživanja i izrade ovoga rada te svim prijateljskim i stručnim savjetima. Osim toga, hvala i svim kolegama Medicinskog fakulteta Osijek koji su svojim sudjelovanjem u istraživanju pridonijeli izradi ovoga rada.*

*Izuzetno sam zahvalna svojim roditeljima, sestri i ostatku obitelji na bezuvjetnoj podršci i ljubavi koju su mi pružali tijekom pohađanja studija te omogućili pohađanje istog. Hvala Vam na svakom osmijehu, zagrljaju, ohrabrivanju tijekom ispita i drugih pothvata moga studiranja.*

*Želim posebno zahvaliti i Ani, Karlu, Ivani i Marini na svim lijepim trenucima provedenim na fakultetu, ali i izvan njega, čak i tijekom pandemije. Bilo mi je izuzetno drago studirati s Vama!*

*Hvala i svima Vama koji ste tijekom moga studija na bilo koji način bili dio moga života te tako doprinijeli završetku moga studija.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Endotelna funkcija .....	1
1.2. Funkcionalna hrana.....	3
1.3. n-3 polinezasićene masne kiseline.....	4
1.4. Lutein.....	6
1.5. Vitamin E.....	7
1.6. Selen .....	7
2. HIPOTEZA .....	9
3. CILJEVI.....	10
4. ISPITANICI I METODE .....	11
4.1. Ustroj studije.....	11
4.2. Ispitanici .....	11
4.3. Metode .....	12
4.3.1. Sastojci „quatro“ obogaćenih jaja .....	12
4.3.2. Antropološka i hemodinamska mjerenja.....	13
4.3.3. Procjena endotelne mikrocirkulacije kože laser Doppler flowmetrijom (LDF)	14
4.4. Statističke metode.....	15
5. REZULTATI.....	16
5.1. Učinak „quatro“ obogaćenih jaja i običnih (kontrolnih) jaja na antropometrijske i hemodinamske parametre .....	16
5.2. Postokluzivna reaktivna hiperemija.....	17
5.3. Acetilkinom potaknuta vazodilatacija .....	18
6. RASPRAVA .....	19
7. ZAKLJUČCI.....	23
8. SAŽETAK .....	24
9. SUMMARY.....	25
10. LITERATURA .....	26

11. ŽIVOTOPIS.....	31
--------------------	----

## POPIS KRATICA

AA – arahidonska kiselina

ACh – acetilkolin

ALA – alfa-linoleinska kiselina

ATP – adenzin trifosfat

AUC – površina ispod krivulje (engl. *area under the curve*)

BMI – indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*)

cAMP – ciklički adenzin monofosfat

COX – ciklooksigenaza

CRP – C-reaktivni protein

DBP – dijastolički krvni tlak

DGAT – diacil-glicerol acetil-transferaza (engl. *diacylglycerol acyltransferase*)

DHA – dokozaheksaenska kiselina

ED – endotelna disfunkcija

EDCF – endotelni čimbenici kontrakcije (engl. *endothelium-derived constricting factors*)

EDRF – endotelni čimbenici relaksacije (engl. *endothelium-derived relaxing factors*)

EFA – esencijalne masne kiseline (engl. *essential fatty acids*)

eNOS – endotelna dušikov oksid sintetaza (engl. *endothelial nitric oxide synthase*)

EPA – eikozapentaenska kiselina

ET – endotelin

GPx – glutation peroksidaza

HR – puls (engl. *heart rate*)

IDL – lipoproteini srednje gustoće (engl. *intermediate density lipoprotein*)

IL – interleukin

JAK-STAT – janus kinaza / porodica transkripcijskih čimbenika (engl. *Janus kinases - signal transducer and activator of transcription proteins*)

KVB – kardiovaskularne bolesti

LA – linoleinska kiselina

LDF – laser Doppler flowmetrija (engl. *laser Doppler flowmetry*)

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

LOX – lipooksigenaza

MAP – srednji arterijski tlak



MK – masne kiseline  
MUFA – mononezasićene masne kiseline (engl. *monounsaturated fatty acids*)  
NADH – nikotinamid adenin dinukleotid  
NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat  
NF- $\kappa$ B – pojačivač nuklearnog faktora-lakog lanca aktiviranih B stanica (engl. *nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells*)  
NO – dušikov (II) oksid  
NRF2 – (engl. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*)  
PA – fosfatidil fosfohidrolaza (engl. *phosphatidic acid phosphatase*)  
PGI<sub>2</sub> – prostaciklin  
PORH – postokluzivna reaktivna hiperemija  
PPAR- $\alpha$  – receptori za aktivaciju proliferacije peroksisoma alfa (engl. *peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$* )  
PU – perfuzijske jedinice (engl. *perfusion units*)  
PUFA – polinezasićene masne kiseline (engl. *polyunsaturated fatty acids*)  
ROS – slobodni radikali kisika (engl. *reactive oxygen species*)  
SBP – sistolički krvni tlak  
SFA – zasićene masne kiseline (engl. *saturated fatty acids*)  
SNP – natrijev nitroprusid (engl. *sodium nitroprusside*)  
SOD – superoksid dismutaza  
TG – trigliceridi  
TNF – faktor tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor*)  
TrxR – tioredoksin reduktaza  
TXA<sub>2</sub> – tromboksan  
VLDL – lipoproteini izuzetno niske gustoće (engl. *very low density lipoprotein*)  
VSMC – stanice vaskularnog glatkog mišićja (engl. *vascular smooth muscle cells*)  
WHR – omjer struka i bokova (engl. *waist to hip ratio*)

## 1. UVOD

Kardiovaskularne bolesti (KVB) vodeći su uzrok smrtnosti u svijetu, a obuhvaćaju poremećaje srca i krvnih žila kao što su koronarna bolest srca, reumatske srčane bolesti, duboka venska tromboza i slično. Procjenjuje se da uzrokuju oko 17 milijuna smrti svake godine, mnogo više nego bilo koja druga skupina bolesti (1). U Republici Hrvatskoj 2016. godine je od KVB umrlo nešto više od 23 tisuće osoba, odnosno 45 % ukupno umrlih, a s obzirom na stopu smrtnosti, Hrvatska spada među europske zemlje sa srednje visokom stopom smrtnosti od KVB (2). Najznačajniji faktori rizika za nastanak bolesti srca i krvnih žila, kao što su manjak fizičke aktivnosti, pušenje, konzumacija alkohola i nepravilna prehrana, mogu se kontrolirati i na taj način preventivno djelovati na razvoj i nastanak komplikacija KVB. Svjetska zdravstvena organizacija ističe dvije vrste intervencija koje bi se mogle poduzeti u svrhu smanjenja KVB na svjetskoj razini: 1) na razini populacije kao što su oporezivanje hrane bogate mastima, razvoj strategija za smanjenje zlouporabe alkohola, izgradnja biciklističkih i pješačkih staza u svrhu poticanja fizičke aktivnosti i dr., te 2) individualna koja treba biti usmjerena na osobe s visokim rizikom za razvoj KVB. *Globalni plan akcije za prevenciju i kontrolu nezaraznih bolesti 2013. – 2020.*, u koji je uključeno 194 zemlje, uključuje i smanjenje globalne prevalencije povišenog krvnog tlaka za 25 % kao vodećeg rizika za razvoj KVB implementirajući politike za smanjenje rizičnih ponašanja i to: zlouporabe alkohola, fizičke neaktivnosti, prekomjerne tjelesne mase, pretilosti i visokog unosa soli (1). Iako je zadnjih petnaestak godina u Hrvatskoj prisutan pozitivan trend smanjenja smrtnosti od KVB (2), one su i dalje vodeći uzrok smrti kako u svijetu, tako i u Hrvatskoj.

### 1.1. Endotelna funkcija

Endotel je građen od monosloja epitelnih stanica koje imaju niz važnih funkcija, a uključuju prepoznavanje humoralnih, mehaničkih i hemodinamičkih događaja te prilagođavanje akutnim i kroničnim promjenama (3, 4). Najznačajnije njegove funkcije su: inhibicija agregacije trombocita, kontrola vaskularnog tonusa, moduliranje propusnosti vaskularne stijenke, regulacija proliferacije glatkih mišićnih stanica i modulacija migracije leukocita (4). Jedno od glavnih svojstava endotela je sposobnost izazivanja vazodilatacije u odgovoru na naglu promjenu protoka (3).

Izraz „endotelna funkcija“ upotrebljava se za opisivanje sposobnosti endotela da otpušta vazoaktivne tvari i na taj način regulira krvni protok. Vazoaktivne tvari koje otpušta endotel dijele se na endotelne čimbenike relaksacije (engl. *endothelium-derived relaxing factors*,

EDRF) i endotelne čimbenike kontrakcije (engl. *endothelium-derived constricting factors*, EDCF) (3). EDRF se otpuštaju iz endotelnih stanica u odgovoru na žilni stres i djelovanje različitih spojeva pri čemu sprječavaju adheziju i agregaciju trombocita te leukocita. Najvažniji od njih su dušikov (II) oksid (NO) te prostaciklin (PGI<sub>2</sub>). Prilikom otpuštanja NO dolazi do relaksacije vaskularnih glatkih mišićnih stanica, a osim toga NO inhibira agregaciju i adheziju trombocita te usporava razvoj ateroskleroze, dijabetesa i hipertenzije (5, 6). Sintetizira se pomoću endotelne dušikov oksid sintetaze (engl. *endothelial nitric oxide synthase*, eNOS), a smanjena dostupnost NO može doprinijeti nastanku aterosklerotskih lezija. PGI<sub>2</sub>, kojeg sintetizira ciklooksigenaza-1 (COX-1), djeluje tako da povišuje koncentraciju cAMP-a u glatkim mišićnim stanicama i u trombocitima. Na luminalnoj strani krvnih žila prevenira agregaciju trombocita i drugih krvnih stanica na endotel, dok na abluminalnoj strani uzrokuje relaksaciju glatkih mišićnih stanica, odnosno sudjeluje u regulaciji vaskulanog tonusa (7). Najvažniji EDCF su endotelin-1 (ET-1), koji povišuje krvni tlak te dovodi do vaskularne i miokardijalne hipertrofije, te tromboksan (TXA<sub>2</sub>), kojeg sintetiziraju COX-1 i tromboksan sintetaza u metabolizmu arahidonske kiseline, a koji dovodi do vazokonstrikcije i agregacije trombocita što povećava rizik od kardiovaskularnih incidenata (3, 8).

Razni patofiziološki čimbenici dovode do nastanka endotelne disfunkcije (ED) odnosno neprikladne aktivacije endotela zbog gubitka kontrole nad vlastitim funkcijama. Poremećaj endotela obuhvaća niz patofizioloških stanja, od početne lokalizirane mehaničke ozljede vaskularne stijenke do neprimjerene, ustrajne, globalne ED, pri čemu ED predstavlja izravnu sponu između kardiovaskularnih rizičnih čimbenika i razvoja i tijeka većine KVB (4 – 6). ED je promjena koju karakterizira proupalni, protrombotski te vazokonstriksijski fenotip (3), a s obzirom da je glavni mehanizam djelovanja NO inhibicija navedenih stanja, smanjena bioraspoloživost NO jedan je od glavnih patofizioloških čimbenika za razvoj ED. Upravo je ta spona razlog sve većeg interesa za procjenom endotelne funkcije u rutinskom kliničkom radu pri čemu se najčešće koriste postupci usmjereni na definiranje vaskularne motorike i analizu vrijednosti cirkulirajućih endotelnih biljega (3).

S obzirom da se smatra da funkcija mikrocirkulacije kože odražava stanje mikrocirkulacije drugih vaskularnih bazena, procjena njezine funkcije može se koristiti kao model za dijagnozu oštećenja mikrocirkulacije u brojnim patološkim stanjima (9). Jedna od najčešće korištenih metoda procjene funkcije mikrocirkulacije kože je laser Doppler flowmetrija (engl. *laser Doppler flowmetry*, LDF). Važne prednosti navedene metode su: 1) neinvazivnost i ne izazivanje neugode u ispitanika te 2) osjetljivost na otkrivanje i

kvantificiranje relativnih promjena perifernog protoka krvi u koži u odgovoru na dani podražaj (vaskularnu okluziju, promjenu temperature, davanje farmakoloških pripravaka, itd.) (9 – 11). Osim toga, važno je odrediti endotel-ovisnu i endotel-neovisnu vazodilataciju kako bi se, u slučaju smanjenog vazodilatacijskog odgovora na dani stimulans, razlikovala disfunkcija endotela od disfunkcije vaskularnog glatkog mišićja (3). LDF omogućuje mjerenje promjene protoka i endotelne funkcije u mikrocirkulaciji podlaktice tijekom infuzije različitih vazoaktivnih agenata kao što su indometacin i acetilkolin (ACh) (3). Indometacin je neselektivni inhibitor COX, tj. inhibira sintezu PGI<sub>2</sub> i TXA<sub>2</sub> pri čemu se smanjuje agregacija trombocita te pospješuje oporavak protoka krvi nakon reaktivne hiperemije (12, 13). U prethodno provedenim istraživanjima, dokazano je da primjena indometacina dovodi do oporavka smanjenog hiperemičnog protoka krvi nakon jednogminutne okluzije u usporedbi s hiperemičnim protokom krvi nakon jednogminutne okluzije prije administracije indometacina (3, 12). ACh, koji se administrira iontoforezom, uzrokuje endotel-ovisnu vazodilataciju krvne žile za razliku od natrijeva nitroprusida (SNP) koji uzrokuje endotel-neovisnu vazodilataciju (10, 14, 15). Osim primjene aktivnih agenasa, LDF omogućuje otkrivanje promjena u perifernom protoku u odgovoru na postokluzivnu reaktivnu hiperemiju (PORH). Reaktivna hiperemija iznenadan je porast u protoku krvi mjeren nakon otpuštanja kratkotrajne arterijske okluzije te je indikator mikrovaskularne strukture i funkcije. Posredovana je većinom endotel-ovisnim faktorima (9, 10, 12, 14). Danas se smatra da se periodičnim mjerenjem PORH-a LDF-om tijekom razvoja nekog patološkog stanja ili primjene određenog tretmana dobiva uvid u stanje mikrocirkulacije kao i u prognozu razvoja bolesti ili djelovanja liječenja (10, 15, 16).

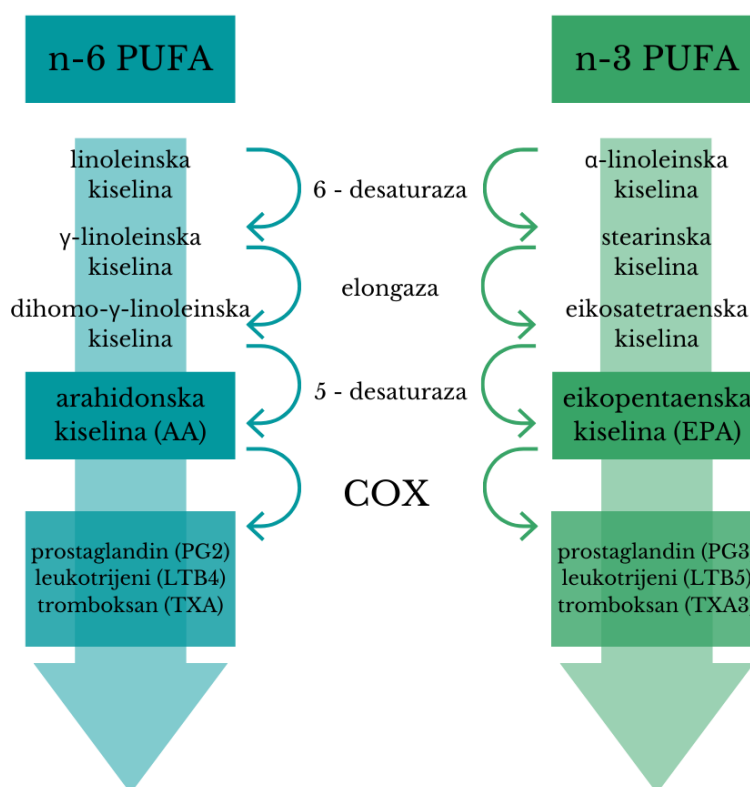
## 1.2. Funkcionalna hrana

Koncept funkcionalne hrane tek je nedavno predstavljen, a odnosi se na hranu prirodnog porijekla koja sadrži mikroelemente i makroelemente potrebne za poboljšanje i održavanje zdravlja. Hrana se smatra funkcionalnom ukoliko uz nutritivne učinke pokazuje i druge korisne učinke na jednu ili više tjelesnih funkcija u cilju poboljšanja zdravlja ili smanjenja rizika za obolijevanje od određenih bolesti unosom u preporučenim dnevnim količinama (17). Najčešće spominjana funkcionalna hrana su kokošja jaja obogaćena n-3 polinezasićenim masnim kiselinama (engl. *n-3 polyunsaturated fatty acids*, n-3 PUFA), selenom, vitaminom E i luteinom. S obzirom na to da su mnoga istraživanja potvrdila pozitivan učinak navedenih elemenata na smanjenje rizika za razvoj KVB i poboljšanja kardiovaskularnog zdravlja (18 – 21), njihov unos funkcionalnom hranom mogao bi postati temeljni pristup za smanjenje incidencije KVB na globalnoj razini.

### 1.3. n-3 polinezasićene masne kiseline

N-3 polinezasićene masne kiseline (engl. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA), kao što su eikozapentaenska kiselina (EPA) i dokozaheksaenska kiselina (DHA) koje se nalaze dominantno u ribi i ribljem ulju (22) te  $\alpha$ -linoleinska kiselina (ALA) koja se dominantno nalazi u biljkama (17), zajedno se s n-6 PUFA, linolenskom (LA) i arahidonskom kiselinom (AA), nazivaju esencijalnim masnim kiselinama (engl. *essential fatty acids*, EFA) jer ih ljudski organizam ne može sintetizirati (17). Dokazano je da n-3 PUFA poboljšavaju endotelnu funkciju na nekoliko načina: povećanjem dostupnosti NO, smanjenjem razine oksidativnog stresa, smanjujući upalu, snižavanjem razine triglicerida (TG) u krvi itd. (18, 23 – 25). EFA se pomoću enzima COX, lipooksigenaze (LOX) i citokroma P450 metaboliziraju u eikozanoide proupalnog ili protuupalnog učinka (slika 1.)(26). Metabolizmom n-3 PUFA nastaju eikozanoidi protuupalnog učinka: prostaglandini treće serije, leukotrijeni pete serije i rezolvini E-serije metabolizmom EPA te neuroprotektin D1, marezini, rezolvini D-serije i protektini metabolizmom DHA. Metabolizmom n-6 PUFA nastaju eikozanoidi proupalnog učinka: prostaglandini druge serije, tromboksani, leukotrijeni četvrte serije, ali i lipoksini koji imaju protuupalno djelovanje (11). S obzirom da se n-6 i n-3 PUFA metaboliziraju istim enzimatskim putevima i natječu se međusobno za supstrat na COX i LOX, povećana konzumacija n-3 PUFA dovest će do povećane proizvodnje metabolita sa protuupalnim i vazodilatatornim učinkom (11, 24 – 26). Osim toga, protuupalni učinak n-3 PUFA uključuje i smanjenje ekspresije adhezijskih molekula, interakcija između endotela i leukocita te povećano stvaranje metabolita rezolvina, marezina i protektina (11). n-3 PUFA iznimno su važne za zdravlje srca i krvnih žila upravo zbog svojeg protuupalnog djelovanja, ali i zbog hipolipidemijskih svojstava čime usporavaju proces razvoja ateroskleroze i KVB, te smanjuju rizik za razvoj istih (18, 22, 23) zbog čega se preporuča povećan dnevni unos n-3 PUFA kod osoba s povećanim rizikom za razvoj KVB i osoba koje boluju od KVB.

Nakon apsorpcije u tankom crijevu i transporta u krvotok, n-3 i n-6 PUFA preraspodjeljuju se u sva tkiva u tijelu gdje se iskorištavaju na različite načine: 1) u beta-oksidaciji za stvaranje ATP-a, 2) esterificiraju se u stanične lipide i 3) skladište se u obliku TG. I n-3 i n-6 PUFA u obliku fosfolipida izuzetno su važni, jer održavaju strukturni integritet i funkciju staničnih membrana (11). Poznato je da n-3 MK djeluju putem inkorporacije u stanične fosfolipide, što rezultira pratećim sniženjem n-6 PUFA upućujući na važnost određenog omjera n-3 i n-6 MK u poboljšanju endotelne funkcije (8, 17). U zapadnjačkoj prehrani taj omjer (n-6 PUFA : n-3



Slika 1. Sinteza proupalnih i protuupalnih produkata posredovanih ciklooksigenazama iz PUFA. Izvor: pribavljeno i prerađeno iz (26).

PUFA) varira od 10 : 1 do 30 : 1, dok bi on u konačnici trebao biti od 1 : 1 do 1 : 4, odnosno pojedinci trebaju unositi više n-3 PUFA (17). Razlog tome je važnost održavanja ravnoteže u sintezi proupalnih i protuupalnih eikozanoida: ukoliko pojedinac unosi veću koncentraciju n-6 PUFA, bit će povećana sinteza proupalnih, vazokonstriktornih i proagregatornih eikozanoida što će rezultirati razvojem hipertenzije i ateroskleroze. S druge strane, prevelik unos n-3 PUFA i povećana sinteza protuupalnih, vazodilatatornih i protuagregatornih eikozanoida rezultirat će smanjenjem krvnog tlaka, poremećenom hemostazom i sl. Kao i drugi antioksidansi, n-3 PUFA štite endotelne stanice od oštećenja slobodnim kisikovim radikalima (engl. *reactive oxygen species*, ROS), a time i od stanične smrti. S obzirom da membrane mitohondrija sadrže veće količine DHA, to upućuje na to da je DHA jedna od ključnih PUFA potrebnih za sintezu ATP-a procesom oksidativne fosforilacije čime se smanjuje oksidativni stres i aktivnost citokrom C oksidaze, a povećava aktivnost superoksid dismutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GPx), enzima odgovornih za uklanjanje slobodnih radikala i vodikovog peroksida iz organizma (27). Na povećanje dostupnosti NO, n-3 PUFA djeluju stimulacijom genske i proteinske ekspresije eNOS što rezultira povećanom sintezom NO (11, 17). Nekoliko je potencijalnih mehanizama

kojima n-3 PUFA djeluju na smanjenje razine TG: inhibicija sinteze triacilglicerola, stimulacija oksidacije MK te klirens posredovan LDL-om. Izravnom inhibicijom diacil-glicerol acetil-transferaze (DGAT) i fosfatidil fosfohidrolaze (PA), dva vrlo važna enzima uključena u sintezu TG u jetri, smanjuje se produkcija TG i jetrena sekrecija VLDL-a. Također, aktivacijom PPAR- $\alpha$  stimulira se  $\beta$ -oksidacija MK čime će dostupnost MK kiselina za sintezu TG biti smanjena, a posljedično doći do smanjenja razine TG u plazmi (28).

Brojna istraživanja potvrdila su koristan učinak n-3 polinezasićenih masnih kiselina na protokom posredovanu dilataciju, smanjenje oksidativnoga stresa i poboljšanje lipidnoga profila u zdravih pojedinaca (28, 29), utišavajući tako rizične čimbenike za razvoj kardiovaskularnih bolesti u budućnosti. Također, određen broj istraživanja pokazala su da iako su n-3 PUFA poboljšale lipidni profil, nisu poboljšale vaskularnu funkciju u zdravih pojedinaca kao što je bilo vidljivo i konzistentno kod ispitanika s kroničnim bolestima (30, 31).

#### 1.4. Lutein

Lutein se, kao esencijalni element, u organizam unosi hranom (npr. špinatom, keljom, žumanjkom, ...), ali u nedovoljnim količinama kako bi imao utjecaja na smanjenje incidencije kroničnih bolesti. Iako se kao dobrobit uzimanja luteina kao nadomjeska prehrani češće spominje utjecaj na poboljšanje vida, prvenstveno sprječavanja bolesti, dokazano je da lutein ima pozitivan učinak i u drugim kliničkim stanjima kao što je poboljšanje kognitivnih funkcija, smanjenje rizika od raka, KVB i sl. (33). Brojnim istraživanjima dokazana je zaštitna uloga luteina u napredovanju rane ateroskleroze i to u vidu smanjena aterosklerotskih lezija, smanjenju rizika za razvoj metaboličkog sindroma te KVB (19). Njegovo kardioprotektivno djelovanje pripisuje se antioksidativnom i protuupalnom djelovanju te uključenosti u metaboličke puteve metabolizma lipida, homeostaze glukoze, inzulinske rezistencije i dr. (19). Lutein ima izuzetno snažno antioksidativno djelovanje zbog svojih konjugiranih dvostrukih veza i polarnosti zbog čega može prolaziti kroz stanične membrane i stupiti u kontakt sa oksidirajućim lipidima štiteći na taj način staničnu membranu od oksidativnih oštećenja. Osim toga, povećava aktivnost antioksidativnih enzima (SOD, GPx, NRF2) i regulira sirtuin-1 NAD<sup>+</sup>-ovisnu deacetilazu koja je uključena u smanjenje oksidativnog stresa te inhibira NADH/NADPH oksidazu koja je ključni enzim u proizvodnji ROS (19, 32). Također, smanjenje krvnog tlaka zbog povećane proizvodnje NO i smanjenog otpuštanja ET-1, smanjenje aterosklerotskih lezija, inhibicija migracije monocita i stanica vaskularnog glatkog mišićja (engl. *vascular smooth muscle cells*, VSMC) te smanjenje kemotaksije monocita neki

su od povoljnih učinaka luteina na vaskularnu i endotelnu funkciju (19). Učinak luteina na upalne procese povezuje se sa inhibicijom NF- $\kappa$ B što rezultira značajnim smanjenjem sinteze COX-2 i proupalnih citokina TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1B i PGE2 (19). Nekoliko istraživanja pokazala su poboljšanje lipidnog profila nakon primjene nadomjeska luteina i to u vidu smanjenja koncentracije VLDL-a i IDL-a u plazmi te smanjenja koncentracije LDL-C i TG u serumu (19).

### 1.5. Vitamin E

Vitamin E najzastupljeniji je antioksidans topljiv u mastima koji ima povoljan učinak na prevenciju kroničnih bolesti kao što su hipertenzija, diabetes mellitus, bolest masne jetre, itd. Pojavljuje se u osam izoformi, od kojih su u tkivima najzastupljeniji  $\alpha$ - i  $\gamma$ -tokoferol. Hranom se  $\gamma$ -tokoferol unosi putem ulja i orašastih plodova kao što su orasi, pistacije i sjemenke sezama, dok se  $\alpha$ -tokoferol najvećim udjelom unosi kikirikijem, bademima i sjemenkama suncokreta (34). Dokazan je značajan utjecaj vitamina E na smanjenje koncentracije CRP-a i IL-6 u intervencijskim istraživanjima u trajanju dužem od osam tjedana s primjenom 500 mg vitamina E na dan (35). Smatra se da njegov povoljni učinak proizlazi iz njegovog inhibitornog djelovanja na proupalnu ekspresiju citokina inhibirajući aktivaciju ključnog nuklearnog transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B te JAK-STAT6 ili JAK-STAT3 signalnih puteva u različitim tipovima stanica (33, 34). Osim toga, zbog svog antioksidativnog djelovanja često se prepisuje pacijentima nakon transplantacije srca, kako bi se ograničio oksidativni stres te time spriječilo odbacivanje transplantata. Istraživanje u kojima su stanice izložene hipoksiji bile tretirane vitaminom E pokazalo je njegov kardioprotektivan učinak smanjenjem ROS-a i apoptoze stanica (20, 35). Antioksidativni učinak svih oblika vitamina E proizlazi iz njihove sposobnosti uklanjanja radikala lipidnih peroksila donirajući vodik iz fenolne skupine na kromanolnom prstenu, odnosno oblici vitamina E sa nesupstituiranim mjestom na petom C atomu mogu vezati elektrofile kao što su NO ili peroksinitrit koji su povišeni tijekom upale (34). Također, zbog izuzetne solubilnosti koriste ga pacijenti s kroničnim bolestima jetre, jer mogu utjecati na srčanu funkciju i predisponirati razvoju kardiomiopatija (20).

### 1.6. Selen

Udio selena u hrani ovisi o sastavu tla na kojem se ista uzgaja, a u organizam se unosi putem mliječnih proizvoda, povrća, mesa, ribe i orašastih plodova (21) u obliku selenometionina, selenocisteina, selenita i selenata (37). Povoljni učinci selena na organizam proizlaze iz njegove uloge u metabolizmu tiroidnih hormona, imunosti, antioksidativnoj obrani, kinaznoj regulaciji i ekspresiji gena (37). Različite skupine selenoproteina sudjeluju u važnim regulacijskim



funkcijama kardiovaskularnog sustava, primarno promjenama u redoks-statusu, čime doprinose antioksidativnom obrambenom sustavu. Selenoproteini su sastavni dio GPx, enzima koji eliminira vodikov peroksid iz mnogih tkiva, te na taj način smanjuju štetne učinke ROS na tkiva, tioredoksin reduktaza (TrxR) te jodotironin deionidaza, koje sudjeluju u aktivaciji i deaktivaciji hormona štitnjače (21). GPx, TrxR i selenoprotein W izravno su uključeni u regulaciju oksidativnog stresa: GPx i selenoprotein W su hidroperoksidaze uključene u uklanjanje vodikovog peroksida koristeći se glutationom kao kofaktorom (21), dok TrxR kataliziraju o NADPH-ovisnu redukciju tioredoksina u ditiol koji je uključen u regulaciju važnih staničnih procesa kao što su proliferacija i apoptoza (37). Nadalje, selenoprotein H djeluje kao transkripcijski faktor te na taj način regulira ekspresiju glutationa i GPx-e, a za selenoproteine S i K smatra se da sudjeluju u regulaciji upale (21). Selen, između ostalog, može stupiti u interakciju sa teškim metalima, kao što su živa i arsen, te na taj način tvoriti inertne komplekse ili modificirati kinetiku i metabolizam teških metala (21).

## 2. HIPOTEZA

Konzumacija jaja obogaćenih omega-3 masnim kiselinama, selenom, vitaminom E i luteinom poboljšat će endotelnu funkciju. Poboljšanje je dijelom posredovano i metabolitima ciklooksigenaznog puta razgradnje n-3 PUFA.

### 3. CILJEVI

Ciljevi ovog istraživanja bili su:

- a) odrediti ulogu enzima ciklooksigenaze u fiziološkom mikrocirkulacijskom odgovoru na kratkotrajni prekid protoka (postokluzivna reaktivna hiperemija; PORH) kod mladih zdravih ispitanika koji konzumiraju funkcionalna kokošja jaja („quatro jaja“) obogaćena omega-3 masnim kiselinama, vitaminom E, luteinom i selenom,
- b) utvrditi utjecaj mikronutrijenata (omega-3 masnih kiselina, vitamina E, luteina i selena) na endotelnu funkciju mladih zdravih ispitanika koji konzumiraju funkcionalna kokošja jaja („quatro jaja“),
- c) utvrditi utjecaj metabolita ciklooksigenaznog puta razgradnje n-3 polinezasićenih masnih kiselina na endotelnu funkciju mladih zdravih ispitanika.

## 4. ISPITANICI I METODE

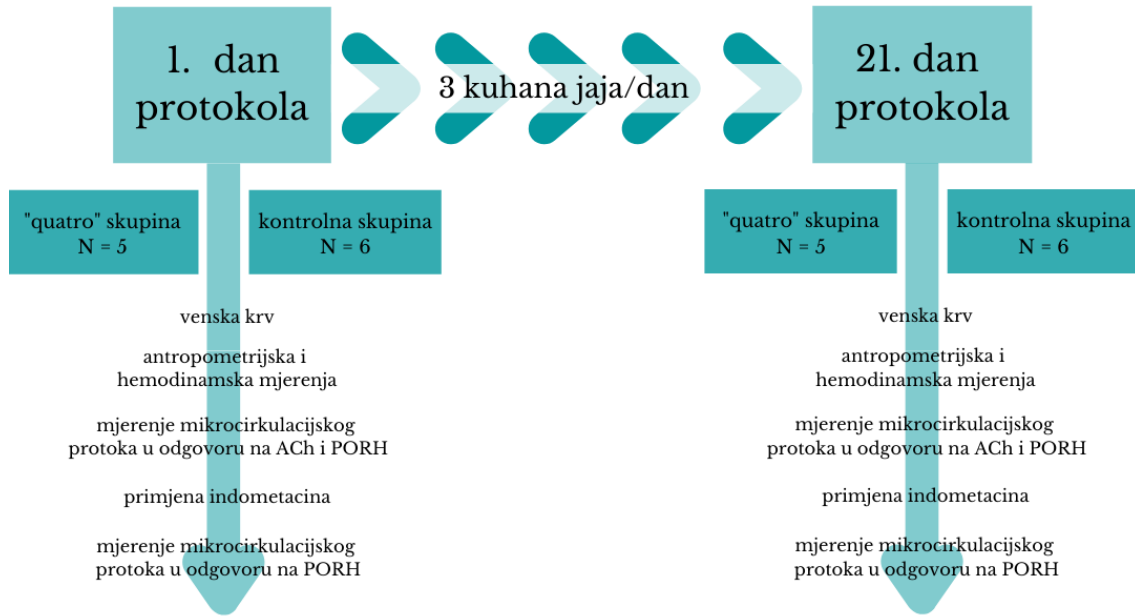
### 4.1. Ustroj studije

Istraživanje je ustrojeno kao randomizirano, dvostruko slijepo te placebo kontrolirano. Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine: kontrolna skupina, koja je konzumirala obična jaja, i eksperimentalna skupina, koja je konzumirala „quatro“ obogaćena jaja. Ni istraživač ni ispitanici nisu znali u kojoj je skupini ispitanik, odnosno je li ispitanik konzumirao obična ili „quatro“ obogaćena jaja, sve do kraja protokola.

Protokol (slika 2.) je trajao tri tjedna tijekom kojih su ispitanici konzumirali tri kokošja jaja dnevno: kontrolna skupina konzumirala je obična kokošja jaja, a eksperimentalna mikronutrijentima obogaćena kokošja jaja („quatro jaja“). Jaja su proizvedena na peradarskoj farmi Marijačanka d. o. o. Marijanci te su bila iste veličine (L komercijalna veličina) kako se ne bi uočila razlika. Svaki ispitanik dobio je dnevnik prehrane u kojem je vodio evidenciju konzumirane hrane tijekom dana. Uzorak venske krvi, u svrhu dobivanja seruma, plazme i pune krvi, uzorkovan je prvog te sljedećeg dana po završetku protokola. Zatim su ispitanici pristupili antropološkim i biokemijskim mjerenjima te mjerenju mikrocirkulacijskog protoka prije protokola i sljedeći dan po završetku protokola. Svi ispitanici su, nakon inicijalnog mjerenja, uzimali 100 mg indometacina (neselektivni inhibitor ciklooksigenaze) te je nakon 90 minuta mjerenje mikrocirkulacijskog protoka ponovljeno. Protokol i postupak istraživanja zadovoljava standarde najnovijega izdanja Helsinške deklaracije, a istraživanje je odobreno od strane Etičkoga povjerenstva Medicinskog fakulteta u Osijeku (KLASA: 602-04/20-08/07; URBROJ:2158-61-07-20-184). Osim toga, istraživanje je dio projektnih aktivnosti Znanstvenog centra izvrsnosti za personaliziranu brigu o zdravlju i prijavljeno je kao klinički pokus (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04564690).

### 4.2. Ispitanici

U istraživanje je bilo uključeno 11 zdravih mladih ispitanika u dobi od 18 do 28 godina, od čega 5 žena te 6 muškaraca, koji u svojoj anamnezi nemaju hipertenziju, bolesti srca, hiperlipidemiju, bolesti bubrega i perifernih krvnih žila. Osim toga, isključni kriteriji su bili uzimanje lijekova koji mogu utjecati na vaskularnu reaktivnost prije ili za vrijeme trajanja istraživanja. Ispitanici su dobili dokument s informacijama o istraživanju te potpisali dokument o dobrovoljnom pristupanju u istraživanje. Svi podaci prikupljeni istraživanjem su tajni i dostupni samo istraživaču te se ni na koji način neće otkriti identitet ispitanika.



Slika 2. Protokol istraživanja. Izvor: izradila autorica rada.

### 4.3. Metode

#### 4.3.1. Sastojci „quatro“ obogaćenih jaja

U tablici 1. prikazani su sastojci „quatro“ obogaćenih i običnih jaja L razreda prosječne mase 68 g koja imaju cca 60 g jestivog dijela (25). „Quatro“ obogaćena jaja za razliku od običnih jaja imaju veću količinu svih određivanih nutrijenata, a najznačajnija razlika je u količini vitamina E, luteina i ukupnih n-3 PUFA, odnosno ALA, EPA i DHA (25, 37).

Tablica 1. Sastojci „quatro“ obogaćenih i običnih jaja

	obična jaja (kontrola)	„quatro“ obogaćena jaja
	mg / 60 g (jestivi dio jajeta)	
<b>vitamin E</b>	0,595	1,098
<b>lutein</b>	0,11	0,616
<b>selen</b>	0,0183	0,0191
	aritmetička sredina (standardna devijacija)	
<b>masne kiseline</b>		
$\Sigma$ SFA *	1566 (346)	1442 (185)
$\Sigma$ MUFA †	1976 (189)	2419 (139)
$\Sigma$ n-6 PUFA ‡	1263 (148)	747 (46)
LA §	1165 (140)	702 (43)
AA	89 (9)	44 (4)
$\Sigma$ n-3 PUFA	146 (20)	342 (25)
ALA ¶	71 (11)	189 (16)
EPA **	n. d. ††	19 (2)
DHA ††	75 (11)	135 (11)
$\Sigma$ n-6 PUFA/ $\Sigma$ n-3 PUFA	8,71	2,18

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina i standardna devijacija.

\* zasićene masne kiseline; † mononezasićene masne kiseline; ‡ polinezasićene masne kiseline; § linoleinska kiselina; || arahidonska kiselina; ¶ alfa-linoleinska kiselina; \*\* eikopentaenska kiselina; †† dokozaheksaenska kiselina; †† nije detektirano.

#### 4.3.2. Antropološka i hemodinamska mjerenja

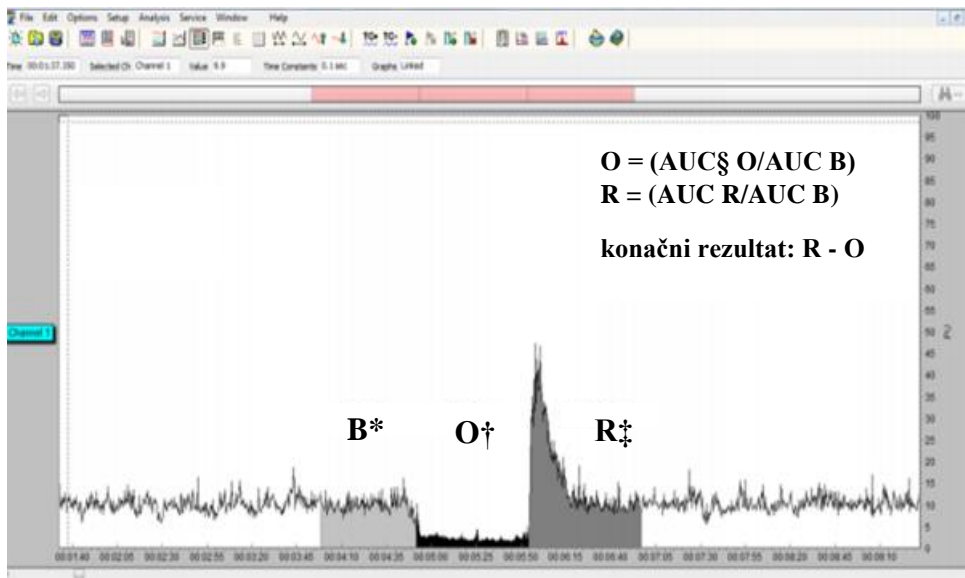
Ispitanicima se mjerio krvni tlak automatskim oscilometrom (OMRON, Osaka, Japan) u sjedećem položaju nakon 15 minuta mirovanja, prije početka te sljedeći dan po završetku protokola. Konačne vrijednosti krvnog tlaka označene su kao srednja vrijednost tri ponovljena mjerenja, dok se prosječni arterijski tlak (engl. *mean arterial pressure*, MAP) računao koristeći vrijednosti sistoličkog (engl. *systolic blood pressure*, SBP) i dijastoličkog krvnog tlaka (engl. *diastolic blood pressure*, DBP):  $MAP = [SBP + 2(DBP)]/3$ .

Prilikom svakog posjeta, ispitanicima su izmjereni tjelesna masa i tjelesna visina u svrhu određivanja indeksa tjelesne mase (engl. *body mass index*, BMI) te omjera struka i bokova (engl. *waist to hip ratio*, WHR). BMI se izračunavao iz omjera tjelesne mase u kilogramima i tjelesne visine u metrima na kvadrat, a WHR iz omjera opsega struka i bokova u centimetrima.

### 4.3.3. Procjena endotelne mikrocirkulacije kože laser Doppler flowmetrijom (LDF)

Endotelna funkcija mikrocirkulacije određivala se neinvazivnom metodom LDF koja koristi fizikalne metode izazivanja reaktivne hiperemije kao poticaj za lučenje endogenih vazodilatatora prije te sljedeći dan po završetku protokola. Mjerenje mikrovaskularnog protoka kože pomoću LDF-a kao odgovor na iontoforezu acetilkolinom (endotel-ovisna vazodilatacija) i natrijevim nitro-prusidom (endotel-neovisna vazodilatacija) provedeno je na svakom ispitaniku prema utvrđenim smjernicama i prethodno opisanim protokolima Laboratorija za fiziologiju sporta i mikrocirkulaciju (14 – 16, 23, 35). Mjerenje tkivnog protoka LDF-om vršilo se u bazalnim uvjetima te tijekom reaktivne hiperemije uz okluziju krvne žile u trajanju od jedne minute. Ispitanici su bili u ležećem položaju i udobno smješten kako bi se izbjegli artefakti uzrokovani pomicanjem. Mjerenje je započinjalo nakon 15 – 20 minuta aklimatizacije ispitanika u tihoj prostoriji temperature 23,5 °C ( $\pm 0,5$  °C) kako bi se reducirao simpatički vazokonstriktorni tonus. Ispitanik je ležao mirno, s rukama ispruženim uz tijelo, postavljenim u razini srca i dlanovima okrenutim prema gore. Protok krvi na koži podlaktice bilježio se jednokanalnim LD instrumentom (moorVMS-LDF, Axminster, UK), a za skupljanje podataka koristila se VP2b sonda. Sonda se postavljala na volarnu stranu lijeve podlaktice, 13 – 15 cm od zapešća pričvršćena držačem dobivenim od proizvođača. Nakon pet minuta bazalnog mjerenja protoka krvi, izazivala se jednominutna okluzija krvne žile napuhavanjem pneumatske manžete koja je bila postavljena oko nadlaktice dominantne ruke. Okluzija se izazivala tlakom koji je bio 30 – 50 mmHg veći od sistoličkog tlaka ispitanika. Mjerenje protoka krvi vršilo se prije (bazalno mjerenje), tijekom te nakon otpuštanja okluzije, a promjene u protoku izražene su u arbitrarnim perfuzijskim jedinicama (engl. *perfusion units*, PU). Za određivanje relativne promjene krvnoga protoka tijekom reaktivne hiperemije uzrokovane okluzijom, podatci su izraženi kao površina ispod krivulje (engl. *area under the curve*, AUC) tijekom bazalnog protoka, okluzije i reperfuzije (slika 3.). Rezultati su prikazani kao razlika postotaka promjene protoka tijekom reperfuzije i okluzije u odnosu na bazalne vrijednosti. Osim toga, nakon petominutnog bazalnog mjerenja primijenjen je pozitivno nabijeni vazodilatacijski acetilkolin (ACh) (1 %). Mikrocirkulacijski protok krvi izražen je arbitrarnim PU i opisan kao AUC za vrijeme početnog protoka krvi nakon primjene ACh te se konačni rezultat izražava povećanjem protoka krvi nakon primjene vazodilatatora u odnosu na početni mikrocirkulacijski protok. Rezultati su izraženi kao postotak promjene između razdoblja okluzije i bazalnog protoka te između reaktivne hiperemije i bazalnog protoka. Mjerenje protoka krvi izvršena su u identičnim

uvjetima, u isto doba dana, a laserska je sonda pričvršćena na približno isto mjesto prije te sljedeći dan po završetku protokola.



\* bazalni protok (engl. *baseline*, B); †okluzija (engl. *occlusion*, O); ‡reperfuzija (engl. *reperfusion*, R); §površina ispod krivulje (engl. *area under the curve*, AUC)

*Slika 3. Mjerenje protoka u mikrocirkulaciji kože metodom laser Doppler flowmetrijom. Izvor: izradila autorica rada.*

#### 4.4. Statističke metode

Veličina uzorka određena je pomoću SigmaPlot (inačica 11.2, Systat Software, Inc, Chicago, SAD) statističkog programa. Uz snagu testa od 0,80, P vrijednost manju od 0,05 te minimalnu očekivanu razliku od 0,25, veličina uzorka iznosi 6 ispitanika po grupi.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina i standardna devijacija. Normalnost distribucije varijabli ispitana je Shapiro-Wilk testom normalnosti distribucije. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između dviju nezavisnih skupina testirane su Studentovim t-testom, a u slučaju odstupanja od normalne raspodjele Mann-Whitneyevim U-testom. Za usporedbu među spolovima koristio se t-test za zavisne uzorke (engl. *paired t-test*). Za usporedbu rezultata genskog izražaja upotrijebljen je test za jednosmjernu analizu varijanci za nezavisne uzorke (engl. *One-way ANOVA*) ili u slučaju neravnomjerne distribucije dobivenih podataka Holm-Sidak ili Kruskal-Wallisov test. Razina statističke značajnosti određena je sa  $P < 0,05$ . Za statističku analizu koristio se statistički program SigmaPlot (inačica 11.2, Systat Software, Inc, Chicago, SAD).



## 5. REZULTATI

### 5.1. Učinak „quatro“ obogaćenih jaja i običnih (kontrolnih) jaja na antropometrijske i hemodinamske parametre

Ukupno 11 ispitanika bilo je podijeljeno u dvije skupine: njih 5 u eksperimentalnu te njih 6 u kontrolnu skupinu (tablica 2.) od čega je 6 muškaraca i 5 žena s prosječnom dobi od 22, odnosno 20 godina.

Tablica 2. Spolna i dobna struktura eksperimentalne i kontrolne skupine.

	kontrolna skupina	eksperimentalna „quatro“ skupina
	broj ispitanika	
<b>spol (M/Ž)</b>	(3 / 3)	(3 / 2)
<b>ukupno</b>	6	5
aritmetička sredina (standardna devijacija)		
<b>dob</b>	22,00 (1,79)	20,17 (1,83)

U tablici 3. i tablici 4. prikazan je učinak „quatro“ i kontrolnih jaja na antropometrijske i hemodinamske parametre. Značajne razlike u antropometrijskim parametrima prije i nakon konzumacije jaja u obje skupine nisu pronađene, za razliku od hemodinamskih parametara gdje je u kontrolnoj skupini nakon konzumacije jaja uočena značajna razlika u vrijednostima sistoličkog krvnog tlaka i pulsa s obzirom na vrijednosti prije konzumacije jaja.

Tablica 3. Učinak „quatro“ i kontrolnih jaja na antropometrijske parametre.

parametri (mjerna jedinica)	aritmetička sredina (standardna devijacija)			
	kontrolna skupina		eksperimentalna „quatro“ skupina	
	prije konzumacije jaja	poslije konzumacije jaja	prije konzumacije jaja	poslije konzumacije jaja
<b>BMI * (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,23 (5,70)	25,27 (5,68)	24,35 (2,85)	24,81 (2,83)
<b>WHR †</b>	0,83 (0,09)	0,83 (0,09)	0,77 (0,05)	0,77 (0,04)

\* indeks tjelesne mase; † omjer struka i bokova

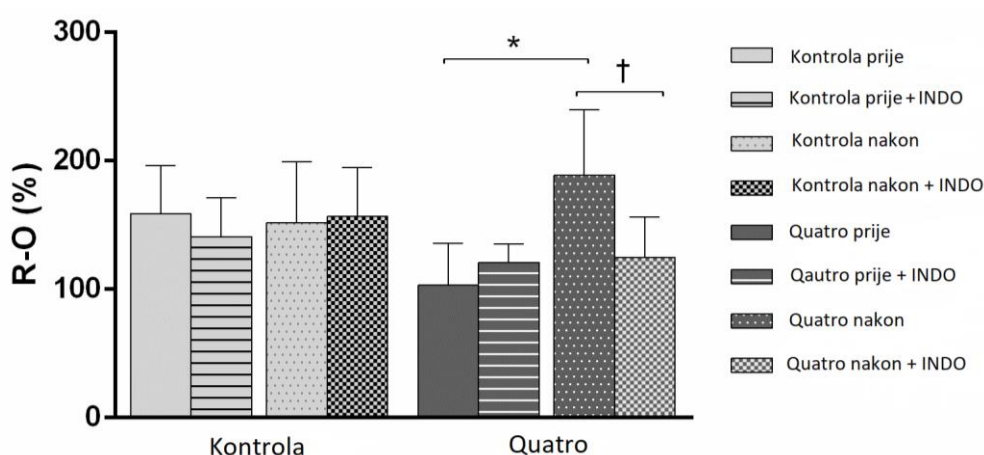
Tablica 4. Učinak „quatro“ i kontrolnih jaja na hemodinamske parametre.

parametar (mjerna jedinica)	aritmetička sredina (standardna devijacija)			
	kontrolna skupina		eksperimentalna „quatro“ skupina	
	prije konzumacije jaja	poslije konzumacije jaja	prije konzumacije jaja	poslije konzumacije jaja
<b>SBP * (mmHg)</b>	112,78 (9,21)	106,17 (4,15)	116,89 (14,79)	117,83 (7,91)
<b>DBP † (mmHg)</b>	71,39 (6,71)	72,22 (5,07)	71,00 (6,08)	71,63 (6,36)
<b>MAP ‡ (mmHg)</b>	85,19 (4,63)	83,54 (3,54)	86,03 (7,15)	87,03 (3,55)
<b>HR § (otkucaja/minuti)</b>	78,44 (10,26)	82,00 (8,87)	82,44 (7,70)	80,78 (12,12)

\* sistolički krvni tlak; † dijastolički krvni tlak; ‡ prosječni arterijski tlak; § puls; ||  $p < 0,05$  prije i poslije unutar grupe

## 5.2. Postokluzivna reaktivna hiperemija

Nakon konzumacije „quatro“ obogaćenih jaja, uočava se pojačani odgovor na PORH u odnosu na mjerenja učinjena prije konzumacije jaja što nije vidljivo u kontrolnoj skupini. Osim toga, nakon primjene indometacina kod eksperimentalne skupine po završetku protokola značajno se smanjuje odgovor na PORH što ukazuje na ulogu metabolita n-3 PUFA iz metaboličkog puta COX u pojačanom odgovoru na PORH čime se hipoteza potvrđuje (slika 4.).

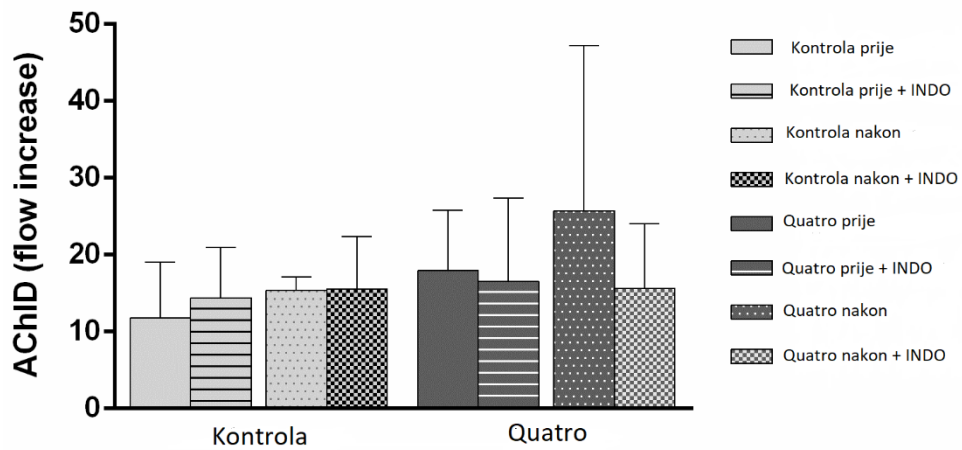


\*  $p < 0,05$  prije i poslije unutar grupe; †  $p < 0,05$  razlika unutar skupine

Slika 4. Mehanizam vazodilatacije kod postokluzivne reaktivne hiperemije.

### 5.3. Acetilkinom potaknuta vazodilatacija

Nije uočena značajna razlika u acetilkinom potaknutoj dilataciji između eksperimentalne i kontrolne skupine prije i nakon konzumacije jaja, ali ni značajna promjena nakon primjene indometacina (slika 5.).



Slika 5. Mehanizam vazodilatacije potaknute acetilkinom.

## 6. RASPRAVA

Istraživanju je pristupilo 11 ispitanika od kojih je njih 6 bilo dio kontrolne skupine koja je konzumirala obična jaja, a njih 5 dio eksperimentalne skupine koja je konzumirala „quatro“ obogaćena jaja. Prosječna dob kontrolne skupine bila je 22 godine, dok je prosječna dob eksperimentalne skupine bila 20 godina.

Svi ispitanici su prije početka protokola istraživanja bili normotenzivni te normalnog BMI-a. Nisu pronađene značajne razlike u antropometrijskim parametrima između ni unutar skupina, no u kontrolnoj skupini nakon konzumacije jaja uočena je značajna razlika u vrijednostima sistoličkog krvnog tlaka i pulsa s obzirom na vrijednosti prije konzumacije jaja. Za razliku od istraživanja u kojemu su ispitanici konzumirali jaja obogaćena samo omega-3 PUFA (23), u ovom istraživanju nije došlo do značajnog smanjenja SBP, DBP i MAP u eksperimentalnoj skupini nakon konzumacije jaja iako su ispitanici konzumirali približno istu količinu n-3 PUFA tijekom oba istraživanja.

Učinak n-3 PUFA i njihovih metabolita te selena, luteina i vitamina E na mikrocirkulaciju ispitanika vidljiv je u eksperimentalnoj skupini. Utvrđena je značajna razlika u odgovoru na PORH između prvog i drugog mjerenja, odnosno prije i nakon konzumacije „quatro“ obogaćenih jaja. Spajanje antioksidativnog, protuupalnog i kardioprotektivnog djelovanje vitamina E, selena i luteina zajedno s antioksidativnim, protuupalnim, vazodilatacijskim te hipolipidemijskim djelovanjem n-3 PUFA moglo bi biti formulacija uspjeha u poboljšanju vaskularne reaktivnosti mikrocirkulacije, ali i endotelne funkcije općenito. Iako je u većini slučajeva poboljšanje endotelne funkcije nakon sličnih intervencijskih studija uočeno kod bolesnika kod kojih već postoji određeni stupanj endotelne disfunkcije (18, 27), rezultati su u skladu s nekolicinom istraživanja provedenih na zdravim ispitanicima kod kojih je, također, uočeno poboljšanje endotelne funkcije (23, 25, 28, 29). Osim toga, rezultati ovog istraživanja su u skladu s istraživanjem koje su proveli Stupin i suradnici (23) u kojemu su mladi ispitanici konzumirali tri jajeta obogaćena omega-3 PUFA tijekom tri tjedna pri čemu su ispitanici bili podvrgnuti procjeni vaskularne reaktivnosti mikrocirkulacije te protoka krvi prije i nakon završetka protokola. PORH nakon perioda okluzije bio je značajno povišen u eksperimentalnoj skupini nakon konzumacije obogaćenih jaja, dok u kontrolnoj skupini nije bilo promjene. Također, povoljan utjecaj konzumacije n-3 PUFA iz prirodnih izvora na smanjenje nekih biomarkera upale i endotelne aktivacije pokazao se značajnim i u Multietničkom istraživanju o aterosklerozi (24). Nadalje, Walser i suradnici (29) su osim EPA i DHA u eksperimentalnoj

skupini kao stabilizator koristili vitamin E koji također može poboljšati endotelnu funkciju, ali s obzirom da je u istoj količini (10 mg) bio stabilizator i u kontrolnoj skupini, u kojoj za razliku od eksperimentalne nije došlo do promjene u krvnom protoku, utjecaj vitamina E na endotelnu funkciju nisu smatrali značajnim. Barić i suradnici (36) istraživali su utjecaj primjene vitamina E i C na endotelnu funkciju mikrocirkulacije kože kod ispitanika koji su bili izloženi dijeti s visokim udjelom soli. S obzirom da je dijeta s visokim udjelom soli značajno pogoršala endotelnu funkciju, pokazali su da primjenom vitamina E (800 UI/dan) i C (1000 mg/dan) dolazi do oporavka oksidativnog statusa i prevencije oštećenja funkcije mikrocirkulacije. U ovom istraživanju, ispitanici su konzumirali oko 3 mg vitamina E dnevno, što je manje nego u prethodno spomenutom istraživanju, stoga se postavlja pitanje koliki je učinak malih količina vitamina E na poboljšanje endotelne funkcije.

Antioksidativno djelovanje, uz protuupalno i antiaterosklerotsko djelovanje, n-3 PUFA te vitamina E, luteina i selenata smatra jednim od glavnih čimbenika u poboljšanju endotelne funkcije (20, 35, 38 – 40). Oh i suradnici (40) su pokazali da je za protuupalno djelovanje luteina važno upravo njegovo snažno antioksidativno djelovanje, dok su Pucheu i suradnici (41) pokazali da suplementacijom mikroelemenata koji su glavni kofaktori antioksidativnim enzimima (cink, bakar i mangan za SOD te selen za GPx) mogu povećati aktivnost antioksidativnih enzima, odnosno ista će se smanjiti ukoliko dođe do deficita mikroelemenata. U konačnici, djelovanjem na smanjenje oksidativnog stresa, odnosno uklanjanjem ROS, sprječava se oštećenje i apoptoza endotelnih stanica čime se može prevenirati nastanak ili smanjiti opsežnost endotelne disfunkcije.

Dok jedna istraživanja potvrđuju blagotvoran učinak n-3 PUFA na vaskularnu reaktivnost mikrocirkulacije i endotelnu funkciju kod zdravih ispitanika, druga opovrgavaju tu tezu. U istraživanju koje su proveli Sanders i suradnici (31), ispitan je učinak tri različite doze EPA i DHA (1,8 g, 0,9 g i 0,45 g) u odnosu na placebo na endotelnu funkciju kod ispitanika u dobi između 45 i 70 godina. Endotelna funkcija ispitana je ultrazvučnim testom protokom posredovane dilatacije perifernih arterija (engl. *Flow Mediated Dilation*, FMD) te određivanjem elastičnosti krvnih žila (engl. *arterial stiffness*) kojima nije utvrđena značajna razlika u vrijednostima prije i nakon protokola, odnosno zaključeno je da konzumacija n-3 PUFA u količinama manjima od 1,8 g/dan ne poboljšava endotelnu funkciju kod zdravih ispitanika. Osim toga, istraživanje provedeno na zdravim mladim ispitanicima u dobi između 18 i 37 godina koji su konzumirali DHA (1,6 g/dan) tijekom četiri mjeseca, također nije utvrdilo

značajno poboljšanje endotelne funkcije iako snižene vrijednosti triglicerida mogu ukazivati na djelomično blagotvoran učinak konzumiranja DHA u vidu prevencije razvoja KVB (32).

S obzirom da se n-3 PUFA primarno metaboliziraju putem COX u metabolite koji potiču vazodilataciju te koji djeluju antiaterosklerotski, protuupalno i antioksidativno, primjenom indometacina, neselektivnog inhibitora COX, ispitana je vaskularna reaktivnost mikrocirkulacije blokiranjem metabolizma n-3 PUFA. Uočena je značajna razlika u odgovoru na PORH u eksperimentalnoj skupini nakon konzumacije „quatro“ obogaćenih jaja s obzirom na rezultate prije i nakon administracije indometacina. Kako je došlo do značajnog smanjenja odgovora na PORH nakon administracije indometacina, može se zaključiti kako metaboliti n-3 PUFA iz metaboličkog puta COX imaju veliku ulogu u održavanju endotelne funkcije i poboljšanju vaskularne reaktivnosti mikrocirkulacije kože kod zdravih mladih ispitanika. Utjecaj neselektivnog inhibitora COX na PORH u mikrocirkulaciji kože ispitan je i u istraživanju u kojem su ispitanici bili podvrgnuti dijeti s visokim udjelom soli, a pokazalo je da administracijom indometacina, kao neselektivnog inhibitora COX, dolazi do oporavka pogoršanog hiperemičnog protoka krvi (42). Također, u istraživanju u kojem je korišten ketorolac kao neselektivni inhibitor COX, istraživači su došli do zaključka kako, osim što dolazi do povećanja odgovora na PORH, COX inhibiraju NOS i otkrivaju ovisnost odgovora na PORH o NO (43). Nadalje, neka istraživanja naglašavaju kako inhibitori COX, koji se učestalo koriste za tretiranje bolnih i upalnih stanja, mogu dovesti do povećanog rizika za nastanak KVB upravo iz tog razloga što dovode do inhibicije sinteze metabolita PUFA koji, između ostalog, sudjeluju u agregaciji trombocita i regulaciji dilatacije krvnih žila (12, 13). Uzimajući u obzir sve navedeno te rezultate dobivene ovim istraživanjem, može se zaključiti kako COX enzimi imaju vrlo važnu ulogu u razvoju endotelne disfunkcije.

U slučaju ACh potaknute dilatacije, nisu uočene značajne razlike između kontrolne i eksperimentalne skupine prije ni nakon konzumacije jaja, ali isto tako nije uočena razlika u rezultatima prije i nakon primjene indometacina. Značajna razlika u ACh potaknutoj dilataciji nije pronađena ni u istraživanju koje su proveli Armah i suradnici (30). S druge strane, u prethodno provedenom istraživanju u sklopu Zdravstvenog centra izvrsnosti (25) uočeno je poboljšanje u o endotelu-ovisnoj vazodilataciji (ACh potaknuta dilatacija) kod ispitanika koji su konzumirali jaja obogaćena n-3 PUFA.

Prednosti ovog istraživanja su: 1) ustrojeno je kao randomizirano dvostruko slijepo placebo kontrolirano istraživanje, 2) korišten je jeftin, lako dostupan i prirodan izvor n-3 PUFA i mikroelemenata, te 3) ne postojanje razlika u oblikovanju kontrolne i eksperimentalne skupine.

Postoji i nekoliko ograničenja ovog istraživanja. Prvo je mali broj ispitanika uključen u istraživanje, zbog čega bi se u budućim istraživanjima trebalo razmatrati provođenje istraživanje na većem uzorku čime bi se dobili reprezentativniji rezultati, a time i bolji uvid u djelovanje n-3 PUFA i esencijalnih elemenata kako na vaskularnu reaktivnost mikrocirkulacije, tako i na endotelnu funkciju. Drugo ograničenje je to što su u istraživanje bili uključeni zdravi mladi ispitanici prvenstveno sa područja Slavonije, pa bi za generalizaciju rezultata isto istraživanje trebalo provesti uključivanjem ispitanika iz cijele Republike Hrvatske. Na kraju, ograničenjem istraživanja može se smatrati i činjenica da je u istraživanje bilo uključeno najviše ispitanika u dobi između 20 i 22 godine starosti te bi se u tu svrhu trebalo uključiti ispitanike svih dobnih skupina (18 – 30 godina).

## 7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Preliminarni rezultati funkcionalnih ispitivanja upućuju na pozitivan učinak konzumacije „quatro“ obogaćenih kokošnjih jaja na mikrovaskularnu reaktivnost kože kod zdravih mladih ispitanika;
2. Konzumacija jaja obogaćenih n-3 PUFA, selenom, vitaminom E i luteinom djelomično je poboljšala endotelnu funkciju kod zdravih mladih ispitanika;
3. Poboljšanje endotelne funkcije konzumacijom „quatro“ obogaćenih jaja djelomično je posredovano i metabolitima COX puta razgradnje n-3 PUFA.



## 8. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi ulogu enzima ciklooksigenaze u fiziološkom mikrocirkulacijskom odgovoru na kratkotrajni prekid protoka te utjecaj n-3 PUFA i njihovih metabolita, selen, luteina te vitamina E na endotelnu funkciju zdravih mladih ispitanika koji su konzumirali „quatro“ obogaćena kokošja jaja.

**Ustroj studije:** Istraživanje je ustrojeno kao randomizzirano, dvostruko slijepo i placebo kontrolirano.

**Ispitanici i metode:** Ispitanici su bili podijeljeni u kontrolnu skupinu, koja je konzumirala obična kokošja jaja, i eksperimentalnu skupinu, koja je konzumirala jaja obogaćena n-3 PUFA, selenom, vitaminom E i luteinom. Protokol je trajao tri tjedna tijekom kojih su ispitanici konzumirali tri kuhana jaja dnevno, a prije te po završetku protokola su izvršena antropološka i hemodinamska mjerenja te procjena endotelne mikrocirkulacije laser Doppler flowmetrijom sa iontoforezom acetilkolinom te postokluzivna hiperemija prije i nakon oralne primjene neselektivnog inhibitora ciklooksigenaze (indometacin).

**Rezultati:** Nisu pronađene značajne razlike u antropološkim mjerenjima prije i nakon protokola u obje grupe, dok je utvrđena značajna razlika u vrijednostima sistoličkog krvnog tlaka i pulsa u kontrolnoj grupi nakon protokola. Nije utvrđena značajna razlika u acetilkolinom potaknutoj dilataciji prije i nakon protokola u eksperimentalnoj i kontrolnoj skupini. Utvrđeno je značajno poboljšanje u odgovoru na PORH u eksperimentalnoj skupini nakon protokola. Nakon primjene indometacina u eksperimentalnoj skupini nakon protokola došlo je do značajnog smanjenja odgovora na PORH.

**Zaključak:** Rezultati upućuju na pozitivan učinak konzumacije jaja obogaćenih n-3 PUFA, selenom, luteinom i vitaminom E na mikrovaskularnu reaktivnost zdravih mladih ispitanika. Pozitivan učinak djelomično je posredovan i metabolitima ciklooksigenaznog puta razgradnje n-3 PUFA.

**Ključne riječi:** ciklooksigenaza; endotelna funkcija; lutein; masne kiseline, omega-3; selen; vitamin E; vaskularna reaktivnost

## 9. SUMMARY

The role of cyclooxygenase in the mechanisms of vascular reactivity in the skin microcirculation of young healthy individuals

**Study aim:** The aim of this study was to determine the role of cyclooxygenase enzyme in the physiological microcirculatory response to short-term flow disruption and the effect of n-3 PUFA and their metabolites, selenium, lutein and vitamin E on endothelial function of healthy young individuals who were consuming quatro-enriched chicken eggs.

**Structure of the study:** The study was organized as randomized, double-blind, and placebo-controlled.

**Participants and methods:** Subjects were divided into a control group, which consumed plain chicken eggs, and an experimental group, which consumed eggs enriched with n-3 PUFA, selenium, vitamin E, and lutein. The protocol lasted three weeks during which subjects consumed three boiled eggs per day. Before and after the protocol anthropological and hemodynamic measurements were performed alongside endothelial microcirculation assessment by laser Doppler flowmetry with acetylcholine iontophoresis and reactive hyperemia before and after oral administration of the nonselective cyclooxygenase inhibitor (indomethacin).

**Results:** No significant differences were found in anthropological measurements before and after the protocol in both groups, while a significant difference was found in the values of systolic blood pressure and pulse in the control group after the protocol. No significant difference was found in acetylcholine-induced dilatation before and after the protocol in the experimental and control groups. A significant improvement in response to reactive hyperemia was found in the experimental group after the protocol. After administration of indomethacin in the experimental group after the protocol, there was a significant reduction in the response to reactive hyperemia.

**Conclusion:** The results suggest a positive effect of consumption of eggs enriched with n-3 PUFA, selenium, lutein and vitamin E on the microvascular reactivity of healthy young subjects. The positive effect was also partially mediated by metabolites of the cyclooxygenase degradation pathway of n-3 PUFA.

**Key words:** cyclooxygenase; endothelial function; fatty acids, omega-3; lutein; selenium; vitamin E; vascular reactivity

**10. LITERATURA**

1. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. 2017 [citirano 15. ožujak 2021.]. Dostupno na: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
2. Odjel za srčano-žilne bolesti | Hrvatski zavod za javno zdravstvo [Internet]. 2019 [citirano 15. ožujak 2021.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/sluzba-epidemiologija-prevenција-nezaraznih-bolesti/odjel-za-srcano-zilne-bolesti/>
3. Čavka A, Tadžić R, Grizelj I, Unfirer S, Mihaljević Z, Mihalj M, i ostali. Endotelna funkcija - funkcionalni pokazatelj. *Med Vjesn.* 2012.;44(1–4):135–46.
4. Ružić A, Miletić B, Nola AI, Peršić V, Radas MR, Včev A. Endotelna disfunkcija u „enigmatskoj slagalici“. *Med Glas.* 2009.;6(1):2–15.
5. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of Endothelial Function for the Clinical Cardiologist. *Circulation.* 05. veljača 2002.;105(5):546–9.
6. Poredoš P. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002.;32:274–7.
7. Vane JR, Änggard EE, Botting RM. Regulatory Functions of the Vascular Endothelium. *N Engl J Med.* 05. srpanj 1990.;323(1):27–36.
8. Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease1–3. *Am J Clin Nutr.* 2001.;73:673–86.
9. Cracowski J-L, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci.* rujanj 2006.;27(9):503–8.
10. Farkas K, Kolossváry E, Járαι Z, Nemesik J, Farsang C. Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis.* ožujak 2004.;173(1):97–102.
11. Stupin M, Kibel A, Stupin A, Selthofer-Relatić K, Matic A, Mihalj M, i ostali. The Physiological Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (n-3 PUFAs) Intake and Exercise on Hemorheology, Microvascular Function, and Physical Performance in Health and Cardiovascular Diseases; Is There an Interaction of Exercise and Dietary n-3 PUFA Intake? *Front Physiol.* 30. kolovoz 2019.;10:1129.
12. Taylor JL, Hines CN, Nicholson WT, Joyner MJ, Barnes JN. The effect of ageing and indomethacin on forearm reactive hyperaemia in healthy adults: Ageing and resistance vessel function. *Exp Physiol.* 01. lipanj 2014.;99(6):859–67.

13. Rane A, Oelz O, Frolich JC, Seyberth HW, Sweetman BJ, Watson JT, i ostali. Relation between plasma concentration of indomethacin and its effect on prostaglandin synthesis and platelet aggregation in man. *Clin Pharmacol Ther.* lipanj 1978.;23(6):658–68.
14. Stupin M. Acute exhaustive rowing exercise reduces skin microvascular dilator function in young adult rowing athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2018.;118:461–74.
15. Barić L, Drenjančević I, Matić A, Stupin M, Kolar L, Mihaljević Z, i ostali. Seven-Day Salt Loading Impairs Microvascular Endothelium-Dependent Vasodilation without Changes in Blood Pressure, Body Composition and Fluid Status in Healthy Young Humans. *Kidney Blood Press Res.* 2019.;44:835–47.
16. Rašić L, Čavka A, Bari F, Drenjančević I. Reproducibility of post-occlusion reactive hyperaemia. *Period Biol.* 2014.;116(1):77–82.
17. Drenjančević I, Kralik G, Kralik Z, Mihalj M, Stupin A, Novak S, i ostali. Polyunsaturated Fatty Acids on Cardiovascular Health: Revealing Potentials of Functional Food. U: Shiomi N, Waisundara V, urednici. *Superfood and Functional Food - The Development of Superfoods and Their Roles as Medicine* [Internet]. InTech; 2017 [citirano 15. ožujak 2021.]. Dostupno na: <http://www.intechopen.com/books/superfood-and-functional-food-the-development-of-superfoods-and-their-roles-as-medicine/polyunsaturated-fatty-acids-on-cardiovascular-health-revealing-potentials-of-functional-food>
18. Tousoulis D. Omega-3 PUFAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel antiinflammatory effect in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2014.;232:10–6.
19. Hajizadeh-Sharafabad F, Ghoreishi Z, Maleki V, Tarighat-Esfanjani A. Mechanistic insights into the effect of lutein on atherosclerosis, vascular dysfunction, and related risk factors: A systematic review of in vivo, ex vivo and in vitro studies. *Pharmacol Res. studeni 2019.*;149:104477.
20. Leme Goto P, Cinato M, Merachli F, Vons B, Jimenez T, Marsal D, i ostali. In vitro and in vivo cardioprotective and metabolic efficacy of vitamin E TPGS/Apelin. *J Mol Cell Cardiol.* siječanj 2020.;138:165–74.
21. Tanguy S, Grauzam S, de Leiris J, Boucher F. Impact of dietary selenium intake on cardiac health: Experimental approaches and human studies. *Mol Nutr Food Res.* srpanj 2012.;56(7):1106–21.
22. Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, i ostali. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not  $\alpha$ -linolenic acid, benefit

- cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review<sup>1–3</sup>. *Am J Clin Nutr.* 2006.;84:5–17.
23. Stupin A, Rasic L, Matic A, Stupin M, Kralik Z, Kralik G, i ostali. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Enriched Hen Eggs 1 Consumption Enhances 2 Microvascular Reactivity in Young Healthy Individuals. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2018.;43(10):988–95.
  24. He K, Liu K, Daviglius ML, Jenny NS, Mayer-Davis E, Jiang R, i ostali. Associations of Dietary Long-Chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Fish With Biomarkers of Inflammation and Endothelial Activation (from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [MESA]). *Am J Cardiol.* svibanj 2009.;103(9):1238–43.
  25. Stupin A, Mihalj M, Kolobarić N, Šušnjara P, Kolar L, Mihaljević Z, i ostali. Anti-Inflammatory Potential of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Enriched Hen Eggs Consumption in Improving Microvascular Endothelial Function of Healthy Individuals—Clinical Trial. *Int J Mol Sci.* 10. lipanj 2020.;21(11):4149.
  26. Laye S, Madore C, St-Amour I, Delpech J-C, Joffre C, Nadjar A, i ostali. N-3 polyunsaturated fatty acid and neuroinflammation in aging and Alzheimer's disease. (3):16.
  27. Oppedisano F, Macrì R, Gliozzi M, Musolino V, Carresi C, Maiuolo J, i ostali. The Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of n-3 PUFAs: Their Role in Cardiovascular Protection. *Biomedicines.* 25. kolovoz 2020.;8(9):306.
  28. Jacobson TA. Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 01. lipanj 2008.;87(6):1981S-1990S.
  29. Walser B, Giordano RM, Stebbins CL. Supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids augments brachial artery dilation and blood flow during forearm contraction. *Eur J Appl Physiol.* 2006.;97:347–54.
  30. Armah CK, Jackson KG, Doman I, James L, Cheghani F, Minihane AM. Fish oil fatty acids improve postprandial vascular reactivity in healthy men. *Clin Sci.* 01. lipanj 2008.;114(11):679–86.
  31. Sanders TA, Hall WL, Maniou Z, Lewis F, Seed PT, Chowienczyk PJ. Effect of low doses of long-chain n-3 PUFAs on endothelial function and arterial stiffness: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 01. listopad 2011.;94(4):973–80.
  32. Singhal A, Lanigan J, Storry C, Low S, Birbara T, Lucas A, i ostali. Docosahexaenoic Acid Supplementation, Vascular Function and Risk Factors for Cardiovascular Disease: A Randomized Controlled Trial in Young Adults. *J Am Heart Assoc [Internet].* 22.

- kolovoz 2013. [citirano 15. ožujak 2021.];2(4). Dostupno na: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.113.000283>
33. Buscemi S, Corleo D, Di Pace F, Petroni M, Satriano A, Marchesini G. The Effect of Lutein on Eye and Extra-Eye Health. *Nutrients*. 18. rujan 2018.;10(9):1321.
  34. Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med*. srpanj 2014.;72:76–90.
  35. Asbaghi O, Sadeghian M, Nazarian B, Sarreshtedari M, Mozaffari-Khosravi H, Maleki V, i ostali. The effect of vitamin E supplementation on selected inflammatory biomarkers in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Sci Rep*. prosinac 2020.;10(1):17234.
  36. Barić L, Drenjančević I, Mihalj M, Matić A, Stupin M, Kolar L, i ostali. Enhanced Antioxidative Defense by Vitamins C and E Consumption Prevents 7-Day High-Salt Diet-Induced Microvascular Endothelial Function Impairment in Young Healthy Individuals. *J Clin Med*. 20. ožujak 2020.;9(3):843.
  37. Kang D. The role of selenium metabolism and selenoproteins in cartilage homeostasis and arthropathies. *Exp Mol Med*. 2020.;52:1198–208.
  38. Galović O, Nikolić ME, Dornjak L, Marunica M, Kralik Z. Samle preparation and analysis of nutricines content in table eggs. U Vukovar, Hrvatska; 2020. str. 1.
  39. Mihalj M, Stupin A, Kolobarić N, Tartaro Bujak I, Matić A, Kralik Z, i ostali. Leukocyte Activation and Antioxidative Defense Are Interrelated and Moderately Modified by n-3 Polyunsaturated Fatty Acid-Enriched Eggs Consumption—Double-Blind Controlled Randomized Clinical Study. *Nutrients*. 13. listopad 2020.;12(10):3122.
  40. Oh J, Kim JH, Park JG, Yi Y-S, Park KW, Rho HS, i ostali. Radical Scavenging Activity-Based and AP-1-Targeted Anti-Inflammatory Effects of Lutein in Macrophage-Like and Skin Keratinocytic Cells. *Mediators Inflamm*. 2013.;2013:1–8.
  41. Pucheu S, Coudray C, Tresallet N, Favier A, de Leiris J. Effect of Dietary Antioxidant Trace Element Supply on Cardiac Tolerance to Ischemia-Reperfusion in the Rat. *J Mol Cell Cardiol*. 1995.;27:2303–14.
  42. Čavka A. Utjecaj dijete s visokim udjelom soli na mikrovaskularnu reaktivnost u populaciji zdravih mladih žena [Disertacija] [Internet] [Disertacija]. [Medicinski fakultet Osijek]: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; 2013 [citirano 25. listopad 2020.]. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:920105>

43. Medow MS, Taneja I, Stewart JM. Cyclooxygenase and nitric oxide synthase dependence of cutaneous reactive hyperemia in humans. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* srpanj 2007.;293(1):H425–32.

## 11. ŽIVOTOPIS

### Osobni podaci:

Ime i prezime: Rebeka Kaprel

Datum rođenja: 12. siječnja 1998.

Adresa stanovanja: Vukovarska 110, Eminovci, 34308 Jakšić

Kontakt: +385991945284

E-mail: beka.kaprel@gmail.com

### Obrazovanje:

2012. – 2016.:

Gimnazija u Požegi

Smjer: opća gimnazija

2016. – 2019.:

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek

Smjer: preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika

2019. – 2021.

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek

Smjer: diplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika



**Osobne vještine i kompetencije:**

Materinji jezik: hrvatski jezik

Strani jezici: engleski jezik

Vozačka dozvola: AM, B

Poznavanje računalnih/informatičkih programa: Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint), Microsoft Teams, Canva

**Tehničke vještine i kompetencije:**

Funkcionalne eksperimentalne metode:

- mjerenje sastava tijela i statusa tjelesne tekućine (Maltron Bioscan 920-II, Maltron International Ltd., Rayleigh, Essex, UK)

**Članstva**

2009. –

Dobrovoljno vatrogasno društvo Jakšić

2018. –

Hrvatska udruga studenata medicinsko laboratorijske dijagnostike (CMLDSA)

**Znanstvene publikacije**

Sažetci sa skupova (sažetci u zbornicima i časopisima)

1. Lagator M, **Kaprel Rebeka**, Šušnjara P, Mišir M, Drenjančević I. Stroke as a consequence of hypertension. U: Svjetski dan hipertenzije. Osijek, 2021.