

# Lipoprotein (a) kao pretkazatelj progresije debljine intime-medije karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti

---

**Boras, Jozo**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2005**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:414468>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-30**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





### **Središnja medicinska knjižnica**

Boras, Jozo (2005) *Lipoprotein (a) kao pretkazatelj progresije debljine intime-medije karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/190>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Jozo Boras**

**LIPOPROTEIN(a) KAO PRETKAZATELJ  
PROGRESIJE DEBLJINE INTIME-MEDIJE  
KAROTIDNIH ARTERIJA U OSOBA S TIPOM  
2 ŠEĆERNE BOLESTI**

**DOKTORSKI RAD**

**Zagreb, 2005.**

Rad je izrađen u Sveučilišnoj klinici za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac

Voditelj rada:

prof. dr. sc. Nikica Car

## ZAHVALA

Zahvaljujem svome mentoru prof. dr. sc. Nikici Caru što je uložio mnogo vremena i nesebičnog rada te za brojne savjete i stručnu pomoć pri izradi ovog rada.

Prof. dr. sc. Željku Metelku zahvaljujem na razumijevanju i podršci.

Za izradu laboratorijskog dijela moje disertacije zahvalan sam dr. sc. inž. Marijani Vučić-Lovrenčić, te svim laboratorijskim tehničarima koji su mi pomogli u prikupljanju i izradi uzoraka.

Prof. dr. sc. Mladenu Petrovečkom zahvaljujem na pomoći kod statističke obrade podataka.

Posebno zahvaljujem višoj med. sestri Mariji Vilček.

Na kraju ovaj rad posvećujem mojoj obitelji, Zagorki, Zrinki i Dragi. Hvala im za veliko razumijevanje, beskrajno strpljenje, podršku i odricanje.

<b>SADRŽAJ</b>	<b>Stranica</b>
Popis oznaka i kratica	1
<b>1. UVOD</b>	<b>3</b>
1.1 Ateroskleroza	3
1.1.2 Epidemiologija kardiovaskularnih bolesti	5
1.1.3 Ateroskleroza i čimbenici rizika	6
1.2 Lipoprotein(a)	10
1.2.1 Fizikalno kemijska svojstva lipoproteina(a)	10
1.2.2 Struktura lipoproteina(a)	12
1.2.3 Sinteza i metabolizam lipoproteina(a)	16
1.2.4 Genetska kontrola lipoproteina(a)	18
1.2.5 Stečeni čimbenici koji utječu na razinu lipoproteina(a)	21
1.2.6 Razina lipoproteina(a) u osoba sa šećernom bolesti	22
1.2.7. Fiziološka uloga lipoproteina(a)	24
1.2.8 Lipoprotein(a) i aterotrombogeneza	25
1.2.8.1 Lipoprotein(a) i aterogeneza	25
1.2.8.2 Lipoprotein(a) i fibrinoliza	28
1.2.9 Veličina izoformi apo(a) i kardiovaskularni rizik	30
1.2.10 Indikacije za određivanje lipoproteina(a)	31
1.2.11 Mjere za snižavanje lipoproteina(a) u serumu	33
1.2.12. Lipoprotein(a) i karotidna ateroskleroza	35
<b>2. CILJEVI I HIPOTEZA RADA</b>	<b>37</b>
2.1 Plan istraživanja	38
<b>3. ISPITANICI I METODE</b>	<b>40</b>
3.1. Ispitanici	40
3.2 Metode	40
3.2.1. Debljina intime-medije i broj plakova karotidnih arterija	40
3.2.2. Koncentracija lipoproteina(a) u serumu	43
3.2.3. Mjerenje lipida u serumu	43
3.2.4. Određivanje hemoglobina A1c	44
3.2.4. Mjerenje albumina u 24-satnom urinu	44
3.2.5. Mjerenje krvnog tlaka	44
3.2.6. Indeks tjelesne mase	45

3.2.7. Omjer opsega struka i bokova	45
3.2.8. Podaci o pobolu i smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti	45
3.2.9. Statistička analiza podataka	46
<b>4. REZULTATI</b>	<b>47</b>
4.1. Spolna struktura ispitivanih skupina bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti	47
4.2. Dobna struktura ispitivane skupine bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti	47
4.3. Osnovne kliničke oznake ispitivanih skupina bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti	48
4.4. Krivulja raspodjele lipoproteina(a) u ispitivanoj skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti	50
4.5. Porast debljine intime-medije u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u periodu praćenja od četiri godine	51
4.6. Multivarijatna analiza ponavljanih mjerenja debljine intime-medije u ovisnosti o varijablama koje se značajno razlikuju u ispitivanim skupinama prikazane generalnim linearnim modelom analize varijance za ponavljana mjerenja	52
4.7. Porast broja plakova u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u periodu praćenja od četiri godine	53
4.8. Multivarijatna analiza ponavljanih mjerenja broja plakova u ovisnosti o varijablama koje se značajno razlikuju u ispitivanim skupinama prikazane generalnim linearnim modelom analize varijance za ponavljana mjerenja	56
4.10. Kardiovaskularni pobol i smrtnost u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u periodu praćenja od četiri godine	57
<b>5. RASPRAVA</b>	<b>60</b>
<b>6. ZAKLJUČAK</b>	<b>76</b>
<b>7. SAŽETAK</b>	<b>78</b>
<b>8. SUMMARY</b>	<b>80</b>
<b>9. LITERATURA</b>	<b>82</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS</b>	<b>111</b>





## Popis oznaka i kratica:

Lp(a)	lipoprotein(a)
apo(a)	apoprotein(a)
apo B	apolipoprotein B
apo A1	apoprotein A1
apo E	apoproteine E
apo I	apoprotein I
LDL	lipoprotein male gustoće (low density lipoprotein)
HDL	lipoprotein velike gustoće (high density lipoprotein)
IDL	lipoprotein srednje gustoće (intermediate density lipoprotein)
VLDL	lipoprotein vrlo male gustoće (very low density lipoprotein)
NO	dušični oksid (nitric oxide)
RAGE	receptori za uznapredovale produkte glukozilacije (receptors for advanced glycosylation end products)
CRP	C-reaktivni protein
N	dušik
O	kisik
kDa	kilodalton
Å	angstrom
K	petlja (cringle)
t-PA	tkivni aktivator plazminogena (tissue plasminogen activator)
	3-HMG-CoA 3-hidroksi-metilglutaril-koenzim A
TGF- $\beta$	transformirajući faktor rasta $\beta$ (transforming growth factor $\beta$ )
TNF- $\alpha$	faktor nekroze tumora $\alpha$ (tumor necrosis factor $\alpha$ )
DANCE	epidermalni faktor rasta razvoja arterija i neuralne osnove (developmental arteries and neural crest epidermal growth factor)
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina (messenger ribonucleic acid)
ICAM-1	intercelularne adhezijska molekula-1 (intercellular adhesion molecule-1)
PDGF	faktor rasta trombocita (platelet-derive growth factor)

MPC-1	monocitno kemoatraktantni protein-1 (monocyte chemoattractant protein-1)
PAI-1	inhibitor aktivatora plazminogena-1 (plasminogen activator inhibitor-1)
IMT	debljina intime medije (intima-media thickness)
HbA1c	hemoglobin A1c
BMI	indeks tjelesne mase (body mass index)
WHR	omjer opsega struka i bokova (waist to hip ratio)

## 1. UVOD

### 1.1. Ateroskleroza

Ateroskleroza je najčešće oštećenje arterija obilježeno lokalnim zadebljanjem intime koje se sastoji od umnoženih i izmijenjenih glatkih mišićnih stanica, makrofaga, lipida iz serumskih lipoproteina nakupljenih u stanicama i izvan njih te umnoženog veziva (kolagen, elastin, mukopolisaharidi). Riječ ateroskleroza potječe od grčkih riječi „athera“ što znači kaša (odnosi se na kašasto omekšanu strukturu središnjih dijelova aterosklerotičnih nakupina na stijenkama krvnih žila) i riječi „scleros“ što znači otvrdnuo (odnosi na otvrdnuće aterosklerotičnih žila) (1).

Jedan od najvažnijih izazova suvremene medicine je proučavanje etiopatogeneze ateroskleroze. Njezine su posljedice danas glavni uzrok smrtnosti stanovnika razvijenih zemalja svijeta. Započinje već u djetinjstvu, sporo napreduje, a njezine kliničke manifestacije obično se pojavljuju u srednjoj ili kasnijoj životnoj dobi. Danas je dokazan mogući utjecaj brojnih čimbenika rizika na razvoj ateroskleroze. Slično ostalim kompleksnim multifaktorskim i poligenetskim poremećajima, veliki je problem razgraničenje između genetske osnove i sekundarne komponente bolesti. Zbog toga je potrebno naglasti da je ateroskleroza složen poremećaj, određen interreakcijom brojnih gena s egzogenim čimbenicima rizika (2).

Razvoj molekularne genetike pokazao nam je da različiti geni direktno ili indirektno utječu na čimbenike rizika važne za razvoj ateroskleroze. Mutacije gena mogu biti odgovorne za sintezu polimorfnih proteina koji na razne načine djeluju na razvoj ateroskleroze. Polimorfizam gena nije značajan rizik, ali u kombinaciji s raznim drugim utjecajima može potaknuti ekspresiju rizičnog fenotipa. Ono što se u normalnim okolnostima odnosi samo na moguću nasljednu osobinu vezanu za polimorfizam jednoga gena, u drugim okolnostima može uzrokovati promjene koje su funkcionalno značajne. Patofiziologija ateroskleroze odnosno njezinih manifestacija obilježena je mješavinom akutnih događaja, kao što su ruptura plaka, tromboza i

vazokonstrukcija, koji pak djeluju na čimbenike u sklopu kroničnog procesa, kao što su dislipidemija, hipertenzija, endotelna disfunkcija, šećerna bolest, te srčana i žilna hipertrofija. Svaki od tih akutnih i kroničnih procesa ima svoje vlastite genetske i okolišne odrednice. Stotine, ako ne i tisuće molekula doprinose ovim složenim patofiziološkim procesima i može se očekivati široki raspon odgovora, koji održavaju promjenjivu ekspresiju ili funkciju ovih molekula. Bolje razumijevanje doprinosa genetike uobičajenim kardiovaskularnim bolestima snažno ovisi o preciznoj fenotipskoj procjeni (3).

Za mnoga mjerljiva svojstva (fenotipove) postoji jasna potvrda za relativno jaki doprinos genetike u definiranju razina, na kojima se obično procjenjuje nasljednost. Za apoproteine i vrijednosti lipida nasljedna uvjetovanost koleba između 40-60%, što znači da genetski čimbenici određuju oko polovice interindividualnih razlika, a za ostatak su odgovorni okolišni čimbenici (3). Jedina je iznimka od ovog plazmatski lipoprotein(a) [Lp(a)], čimbenik čija je razina iznimno stabilna u osoba tijekom vremena, a nasljeđe ga određuje u mjeri većoj od 90% (4). Zanimljivo, varijabilnost lokusa za kodiranje samoga gena za apoprotein(a) [apo(a)] odgovoran je gotovo za sveukupnu kolebljivost plazmatskog Lp(a) u normalnim populacijama (5).

Općenito, razine rizičnih čimbenika koronarne bolesti ovisne su kako o okolišnim tako i o genetskim čimbenicima, a u većine jedinki genetske inačice imaju malen ili srednji utjecaj. Tako npr. pojedinac s visokim kolesterolom u plazmi može imati nekoliko naslijeđenih alela koji povišuju kolesterol i djeluju u kombinaciji, ili može imati malo takvih alela, ali se hrani dijetom koja pogoduje povišenju kolesterola, no najčešće riječ je o kombinaciji obaju utjecaja. Teoretski, otkrivanje cjelovite liste genetskih varijanti koje je pojedinac naslijedio, može imati dijagnostičku ili prognostičku vrijednost, ali budući da ima mnogo funkcijskih mjesta u svakom genu, te da neki od njih mogu povećavati rizik, drugi smanjivati rizik, a vrlo veliki broj gena uključen je u gotovo svako obilježje rizika, nejasno je hoće li otkrivanje nekolicine ili nekoliko stotina funkcijskih mjesta unutar gena biti od bitne vrijednosti (6). Neke studije ukazale su da određeni genotipovi mogu biti predisponirajući za povećanu pojavnost koronarne bolesti samo u određenom okolišu, pa se čini da će razumijevanje ovih interakcija imati veliku važnost u istraživanjima u budućnosti, budući da one rasvjetljavaju patofiziološke procese (7).

Koji će biti doprinos molekulske genetike u budućnosti u liječenju kardiovaskularnih bolesti teško je predvidjeti. Dugoročno, razumijevanje etiologije bolesti u okolnostima genetičkih odrednica može biti korisno u otkrivanju visokorizičnih pojedinaca i prilagodbi terapijskih postupaka pojedinačnome genskom kontekstu.

### **1.1.2. Epidemiologija kardiovaskularnih bolesti**

Ateroskleroza i njezine komplikacije vodeći su uzrok smrtnosti u razvijenim zemljama svijeta (8). Nema točnih podataka o učestalosti ateroskleroze. Uglavnom se epidemiološki podaci odnose na kliničko očitovanje ateroskleroze tj. njezine najvažnije posljedice: koronarnu bolest srca, cerebrovaskularnu bolest i perifernu vaskularnu bolest. Epidemiologija bolesti srca i krvnih žila u suvremenom svijetu postala je jednim od najbitnijih područja epidemioloških istraživanja zbog ključnog udjela tih bolesti u sveukupnom pobolu i smrtnosti. Početkom 20. stoljeća od srčanožilnih bolesti umiralo je manje od 10% pučanstva, a danas od ovih bolesti u razvijenim zemljama svijeta umire svaki drugi čovjek. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok smrti u svijetu. Godišnje u svijetu od tih bolesti umire 16,5 milijuna ljudi, a od toga pet milijuna u Europi. Vodeće mjesto zauzima ishemička bolest srca s udjelom od 43,3% na razini svijeta i 48,1% u Europi te cerebrovaskularne bolesti s udjelom od 32,9% na razini svijeta i 29,4% u Europi (8,9). Svjetska zdravstvena organizacija procjenjuje na osnovi praćenja demografskih trendova, trendova mortaliteta i morbiditeta daljnji porast kardiovaskularnih bolesti, posebice u zemljama u razvoju. U okviru studije globalnog opterećenja bolestima među 15 vodećih uzroka bolesti i ozljeda u svijetu 1990. godine ishemična bolest srca nalazila se na petom mjestu, a cerebrovaskularna bolest na šestom mjestu. U procjenama za 2020. godinu predviđa se međutim da će na razini svijeta ishemična bolest srca nalaziti na prvom mjestu, a cerebrovaskularna bolest na četvrtom mjestu (10). U Hrvatskoj su kardiovaskularne bolesti također vodeći uzrok smrti. U 2001. udio kardiovaskularnih bolesti u ukupnom mortalitetu iznosio je 53,6% (11). To

praktično znači da je kod svakog drugog umrlog u Hrvatskoj uzrok smrti bila jedna od bolesti cirkulacijskog sustava.

### **1.1.3. Ateroskleroza i čimbenici rizika**

U zadnjih nekoliko desetljeća mnogi su istraživači nastojali objasniti patogenezu ateroskleroze. Pretpostavljeno je više teorija i hipoteza od kojih nijedna u potpunosti ne može objasniti složeni patogenetski proces nastanka ateroskleroze. Danas se smatra da je ateroskleroza specifični oblik kronične upale koja nastaje međudjelovanjem plazmatskih lipida, staničnih komponenti (monocita/makrofagka, T limfocita, endotelnih stanica i glatkih mišićnih stanica) i ekstracelularnog matriksa stanične stijenke (12). Dosadašnja epidemiološka istraživanja pokazuju da postoje brojni čimbenici rizika za nastanak ateroskleroze. Uglavnom se specifične značajke osoba i njihovih životnih navika povezuje s nastankom ateroskleroze.

Hiperlipoproteinemija je sigurno najbolje istražen čimbenik rizika. U mnogim je istraživanjima dokazana povezanost povećane razine ukupnoga kolesterola, poglavito lipoproteina male gustoće (engl. Low Density Lipoprotein, LDL), te smanjenje razine lipoproteina velike gustoće (engl. High Density Lipoprotein, HDL) s povećanom učestalosti ateroskleroze. S druge strane lipoprotein srednje gustoće (engl. Intermediate Density Lipoprotein, IDL), LDL i lipoprotein vrlo male gustoće (engl. Very Low Density Lipoprotein, VLDL) dovoljno su mali da mogu ulaziti u stijenku arterije. Nakon što se procesom oksidacije kemijski promjene, ostaju zarobljeni u stijenci arterije i tako doprinose procesu aterosklerozi (1).

Hipertrigliceridemija je važna u procesu aterogeneze poglavito zbog toga što je redovito povezana s LDL-om i HDL-om na način da potiču aterosklerozi. Mali gusti LDL, koji je iznimno aterogen, pojavljuje se u plazmi kada razina triglicerida dosegne iznad 1,4 mmol/l. S druge strane visoka razina triglicerida praćena je niskom razinom HDL-a (1). Apoprotein B (apo B) je glavna komponenta LDL-a, IDL-a, VLDL-a i hilomikrona. Koncentracija apo B izravna je mjera koncentracije aterogenih lipoproteina u plazmi. Taj je parametar osobito koristan u bolesnika s hipertrigliceridemijom ili u onih s normalnim LDL-om. Apoproteina A1 (apo A1) je glavna sastavnica HDL-a.

Niske vrijednosti apo A1, kao i niski HDL, povezani su s povećanim rizikom nastanka ateroskleroze(13).

Hipertenzija i pušenje su uz hiperlipoproteinemiju najvažniji čimbenik rizika za nastanka ateroskleroze. U svijetu 15-37% odraslog stanovništva ima hipertenziju, a prevalencija hipertenzije u osoba starosti od 60 i više godina raste i iznosi oko 50% (1). Procijenjena prevalencija pušenja je 30-40% (1).

Prekomjerna tjelesna težina, poglavito abdominalni tip pretilosti, udružena s drugim kardiovaskularnim čimbenicima rizika kao što su povišeni krvni tlak, hiperinzulinemija i inzulinska rezistencija, poremećena tolerancija glukoze, povišena razina triglicerida, snižena razina HDL-kolesterola čine metabolički sindrom. Glavna je važnost metaboličkog sindroma njegova udruženost s povišenim rizikom nastanka kardiovaskularnih bolesti i tipa 2 šećerne bolesti (14).

Pozitivna obiteljska anamneza, muški spol, prijevremena menopauza i uzimanje oralnih kontraceptiva, psihološki profil i način ponašanja, te nedostatak tjelesne aktivnosti su prihvaćeni kao čimbenici rizika za nastanak ateroskleroze (1).

Šećerna bolest značajno povećava rizik nastanka kardiovaskularnih bolesti. Kardiovaskularne bolesti, poglavito koronarna bolest srca, su glavni uzrok pobola i smrti u osoba sa šećernom bolesti. Oko 80% osoba sa šećernom bolesti umire od aterosklerotskih promjena krvnih žila (15). Patofiziologija aterosklerotskih promjena u osoba sa šećernom bolešću uključuje poremećaje endotela, trombocita i glatkih mišićnih stanica. Metabolički poremećaji karakteristični za šećernu bolest poput hiperglikemije, povećane razine slobodnih masnih kiselina i inzulinske rezistencije, izazivaju određene stanične poremećaje koji pridonose oštećenju funkcije krvne žile. Dalje, ti poremećaji dovode do smanjenja biorasploživosti dušičnog oksidida (engl. nitric oxide, NO), povećanja oksidativnog stresa, poremećaja prenosa staničnih signala i poremećaja aktivacije receptora za uznapredovale produkte glukozilacije (engl. receptors for advanced glycosylation end products, RAGE). S druge strane, oštećena funkcija trombocita dovodi do povećanja različitih protrombotskih čimbenika. Svi ti stanični poremećaji imaju za posljedicu

ubrzani razvoj ateroskleroze i njezinih komplikacija u osoba sa šećernom bolesti (16).

Porast prevalencije kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta do kojeg je u zadnjih sto godina došlo u razvijenim zemljama zapada, privlači u zadnje vrijeme posebnu pozornost. Brojne epidemiološke, eksperimentalne i intervencijske studije osvijetlile su mnoge, ali ne i sve nepoznanice. Mutacija gena koji bi bili odgovorni za tu promjenu, može se gotovo sigurno kao mogući uzrok isključiti jer je do značajnih promjena došlo u, za evoluciju, kratkom periodu. Životne navike poput neadekvatne prehrane, nedovoljne tjelesne aktivnosti, pušenje i stres su većim dijelom odgovorne za povećanu kardiovaskularnu smrtnost. Istraživanja su pokazala da utječući na te vanjske čimbenike rizika znatno možemo smanjiti kardiovaskularni morbiditet i mortalitet (17). No, unatoč jednakoj izloženosti tim vanjskim čimbenicima rizika nisu svi pripadnici pojedinih populacija izloženi jednakom kardiovaskularnom riziku. Čini se da je ipak genetska struktura očito predisponirajući čimbenik da osoba oboli od nekog oblika kardiovaskularnih bolesti uz nazočnost spomenutih vanjskih čimbenika. U prilog tome govore rezultati da je rizik od razvoja infarkta miokarda sedam puta veći u osoba čiji su roditelji imali infarkt (18).

Novije studije pokazuje da se ukupni kardiovaskularni rizik ne može objasniti samo tzv. tradicionalnim čimbenicima rizika kao što su kolesterol, trigliceridi, povišen krvni tlak, pušenje i adipozitet (19) Tako je u zadnjih nekoliko godina posebna pozornost usmjerena na tzv. male, nove čimbenike rizika kao što su C-reaktivni protein (CRP), homocistein, fibrinogen i Lp(a). Prilikom proučavanja tih tzv. malih ili novih čimbenika rizika potrebno je vidjeti postoji li povezanost tih čimbenika rizika s ukupnim kardiovaskularnim rizikom. Dalje je važno razlučiti je li ta povezanost uzročna, je li riječ o biljegu poremećaja ili samo o registriranom epifenomenu. Od praktične je važnosti može li se promatrani čimbenik mijenjati i rezultira li njegova promjena sa smanjenjem kardiovaskularnog rizika.

Upalni procesi mogu igrati značajnu ulogu u patogenezi ateroskleroze i kliničke manifestacije aterosklerotskih bolesti. CRP cirkulirajući je reaktant akutne faze upale koji se povećava nekoliko puta tijekom upale ili ozljede tkiva. CRP se primarno sintetizira u jetri, a njegovo oslobađanje je potaknuto



interleukinom 6 i drugim proinflamatornim citokinima. Ovaj je protein, kao mogući pretkazatelj aterosklerotskih bolesti u zadnjih nekoliko godina, predmet intenzivnog istraživanja (20). Neke su prospektivne epidemiološke studije pokazale da CRP može biti bolji pretkazatelj rizika prvoga kardiovaskularnog događaja nego vrijednosti LDL-kolesterola (21). CRP je značajno povišen u aterotrombotskom plaku krvne žile. Na tim mjestima dolazi do pojačane fagocitoze LDL-kolesterola od strane makrofaga što je ključni proces u nastanku ateroskleroze (22). Nakon toga dolazi do pojačane ekspresije intercelularnih adhezijskih molekula na endotelu krvnih žila i time pojačanog nakupljanje cirkulirajućih monocita u aterosklerotskom plaku (23).

Postoji hipoteza o mogućoj ulozi kronične upale u patogenezi ateroskleroze. Mogući uzročnici takve upale su mikroorganizmi poput *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* i *citomegalovirus*. Dokazi povezanosti mikroorganizama *Chlamydia pneumoniae* i koronarne bolesti nešto su čvršći nego za *Helicobacter pylori* i *citomegalovirus*. Čestice *Chlamydia pneumoniae* nađene su u uzorcima koronarne arterektomije ali ne i u normalnim srčanim krvnim žilama. Način na koji infekcije navedenim mikroorganizmima utječe na razvoj aterosklerotskih promjena i dalje ostaje nejasan (24).

Fibrinogen, slično kao i CRP, je reaktant akutne faze upale koji se značajno povećeva tijekom infekcije ili ozljede tkiva. Fibrinogen osim značajne uloge u procesu koagulacije djeluje na regulaciju kemotaksije, adheziju i proliferaciju stanica, vazokonstrikciju na mjestu oštećenja žilne stijenke, potiče agregaciju trombocita i utječe na viskoznost krvi. Sve to značajno pridonosi razvoju aterosklerotskog procesa (25,26). Epidemiološke studije i metanalize pokazale su značajnu povezanost između povišene razine fibrinogena i kardiovaskularnog pobola i smrtnosti (26,27).

Povišena vrijednost homocisteina povezana je sa češćim nastupom kardiovaskularnih bolesti. Procjene rizika u tih bolesnika bolja je u križnim (*cross sectional*) i retrospektivnim studijama prema prospektivnim kontroliranim studijama (28). Glavni uzrok povišenja razine homocisteina u plazmi je nedostatak kofaktora vitamina B u prehrani. Genetski čimbenici također utječu na razinu ukupnog plazmatskog homocisteina. Najčešće razlog za to je mutacija gena za enzim metilenetetrahidrofolatnu reduktazu (29). Primjena

folne kiseline kod ovog genetskog nedostatka učinkovito reducira ukupni homocistein, ali nije poznato smanjuje li ovo rizik od koronarne bolesti (30). To pitanje postavljeno je u nekoliko randomiziranih, kontroliranih studija koje su u tijeku.

Jedan od najzanimljivijih nedovoljno istraženih, tzv. novih, malih čimbenika rizika je Lp(a). Unatoč brojnim studijama *in vitro*, animalnim pokusima te velikim epidemiološkim studijama koje sve konkretnije upućuju na njegovo mjesto u procesu aterotrombogeneze, ostaju brojna pitanja od kojih je najvažnije njegovo kliničko značenje i da li ga uopće treba određivati. S druge strane otvoreno je pitanje može li se na njega terapijski utjecati. Je li ga uopće i potrebno snižavati ako je samo biološki biljeg poremećaja?

## **1.2. LIPOPROTEIN(a)**

Kare Berg je 1963. godine otkrio poseban antigenski sastojak u LDL-u i nazvao ga Lp(a) (31). Brojna epidemiološka i klinička ispitivanja učinjena 70-ih i 80-ih godina pokazala su da je Lp(a) poseban genetski određen lipoprotein, te da postoji pozitivna povezanost između koncentracije Lp(a) u plazmi s koronarnom bolesti i aterosklerozom (32). Lp(a) se ubraja u podrazred LDL lipoproteina s kojim dijeli zajedničku građu što se tiče sastava kolesterola, fosfolipida i apo B. Molekulska je masa 350-900 kilodaltona (kDa), a za razliku od LDL, Lp(a) u svojoj građi sadrži molekulu apo(a). Otkriće velike podudarnosti apo(a) s plazminogenom potakla je intenzivna istraživanja o genetici i metabolizmu Lp(a), te njegovoj ulozi u aterotrombotskim bolestima. Unatoč brojnim literaturnim podacima koji su akumulirani unatrag četiri desetljeća, točna fiziološka uloga Lp(a) nije ustanovljena, kao što nije potpuno razjašnjen njegov utjecaj na aterosklerotski proces.

### **1.2.1. Fizikalno-kemijska svojstva lipoproteina(a)**

Lp(a) prilično nalikuje LDL-u. Slični mu po svom lipidnom sastavu, međutim omjer razine ukupnih lipida i proteina u njih se razlikuje (1:2,2 ; 1:3,5). Proteinski dio Lp(a) čine samo dva proteina: apo B-100, s istim

obilježjem kao što ih ima apo-B u LDL-u i apo(a), koji je karakterističan samo za ovu vrstu lipoproteina (33).

Razlike u fizikalno kemijskim svojstvima između LDL-a i Lp(a) prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Fizikalno kemijska svojstva čestica LDL-a i Lp(a)

–	LDL	Lp(a)
Molekulska masa (Da)	$(2,9) \times 10^6$	$(3,8-4,0) \times 10^6$
Promjer (nm)	$25,9 \pm 0,1$	$28,3 \pm 0,5$
Gustoća (g/l)	1019 -1063	1006 - 1125
Vrijeme polovičnog izlučivanja (dani)	2 - 3	3 - 4
Apolipoproteini	apo B-100	apo B-100, apo (a)
Proteini (%)	26 - 31	17 - 29
Slobodni kolesterol (%)	9	6 - 9
Esterificirani kolesterol (%)	40 - 43	35 - 46
Trigliceridi (%)	4 - 6	4 - 8
Fosfolipidi (%)	20 - 22	17 - 24

*Prilagođeno prema Lippi G i sur. (34)*

Lp (a) ima veću gustoću, molekulsku masu, promjer i poluvrijeme života. Elektroforetska pokretljivost Lp(a) u agaroznom gelu u pre- $\beta$  položaju slična je VLDL-u, a pomoću ultracentrifugiranja u gradijentu gustoće izolirano je nekoliko subfrakcija Lp(a). Različita gustoća tih subfrakcija uzrok je da se Lp(a) nalazi u području od HDL-a do LDL-a (33). Biokemijska je struktura većim dijelom usporediva sa LDL-om, ali prisutnost visokoglukoziliranog apo(a) povećava apsolutni i relativni udio ugljikohidrata. Relativna težina

fosfolipida iznosi (17-24%), proteina (17-29%), esterificiranog kolesterola (35-46%), slobodnoga kolesterola (6-9%) i triglicerida (4-8%) (35). Razlike u sastavu ugljikohidrata u Lp(a) i LDL-a prikazuje tablica 2.

Tablica 2. Sastav ugljikohidrata u LDL-u i Lp(a)

Ugljikohidrati ( $\mu\text{g/ml}$ proteina)	LDL	Lp(a)
Heksoza	54,6	108,0
Heksozamini	28,2	84,0
Sijalinska kiselina	10,4	66,0

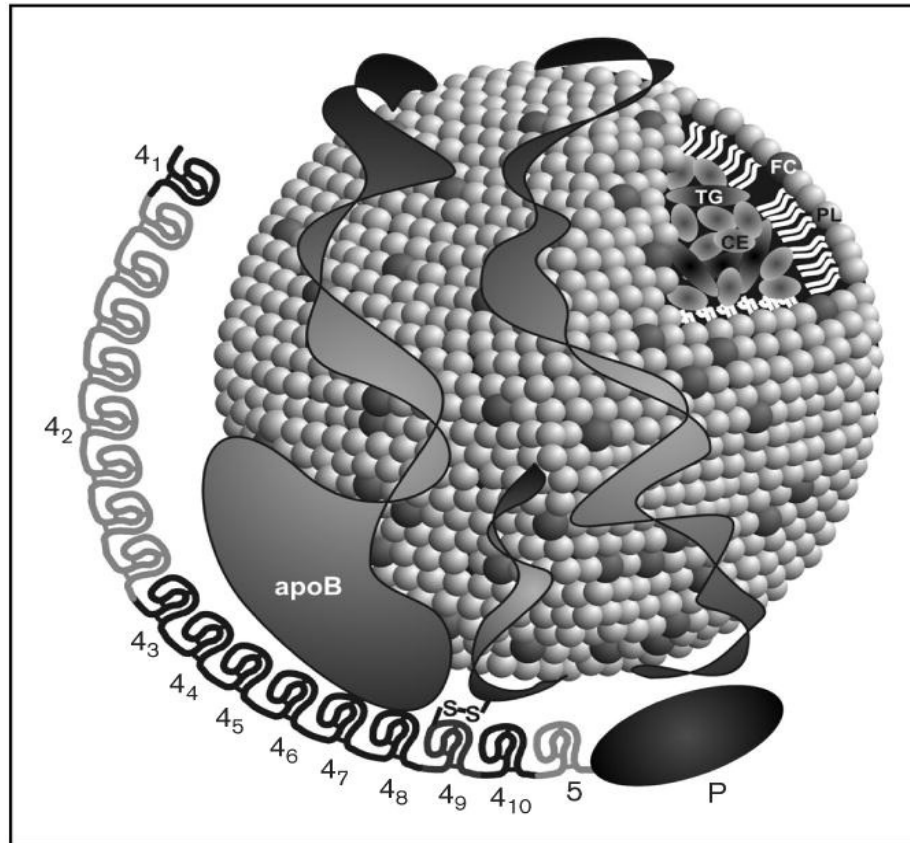
*Prilagođeno prema Gaubatz YW i sur. (33)*

Najzastupljeniji ugljikohidrati u Lp(a) su manoza, galaktoza, galaktozamin, glukozamin i sijalinska kiselina, u približno molarnom odnosu 3:7:5:4:7. Oko 23% ukupne mase apo(a) pripisuje se N (dušik)-glukozidima i O (kisik)-glukozidima koji pridonose značajnom elektronegativnom potencijalu Lp(a) čestice (35). Sastav aminokiselina u apo B-100 iz Lp(a) gotovo je jednak onom iz apo B-100 u LDL-u, ali se sastav aminokiselina apo(a) i apo B-100 iz Lp(a) značajno razlikuje. Apo (a) ima značajno viši iznos prolina, triptofana, tirozina, arginina, treonina i značajno manje lizina, fenilalanina i izoleucina (36).

### 1.2.2. Struktura lipoproteina(a)

Slika 1. prikazuje zamišljeni model Lp(a). Čestica je kuglasta oblika, promjera 260 angstrema ( $\text{Å}$ ), a sastoji se od dva sloja. Jedna je hidrofobna jezgra obogaćena esterima kolesterola i nešto manje trigliceridima, a vanjski sloj čine fosfolipidi, sloj kolesterola i proteini. Lp(a) je makromolekula koja je strukturno slična LDL-u, ali u svojoj građi sadržava visoko polimorfni glukoprotein apo(a), koji je kovalnetno vezan na apo B-100 u LDL-u s

dvostrukom sulfidnom vezom (37). Pod elektronskim mikroskopom čestica Lp(a) izgleda tako da apo(a) pojasato okružuje kuglastu česticu LDL-a na koju je svojim krajevima pričvršena na dva različita mjesta (38).



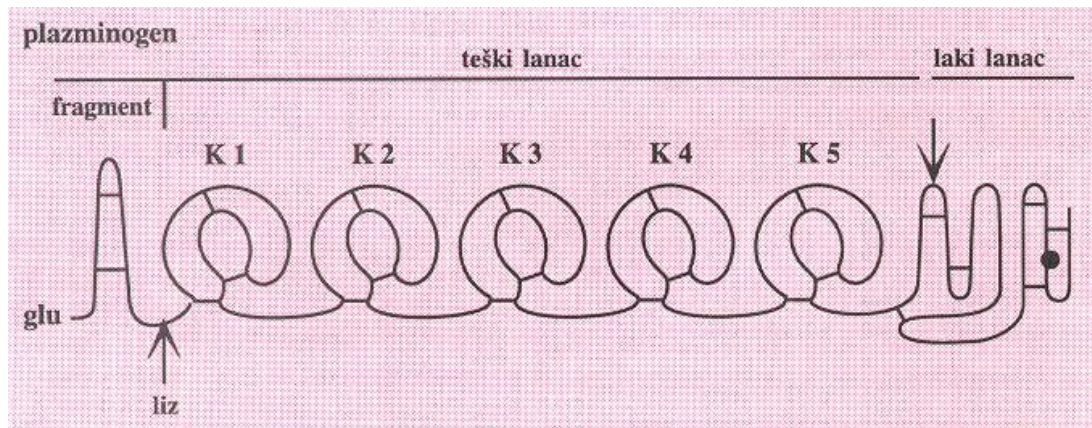
Slika 1. Struktura lipoproteina(a)

*Prilagođeno prema Koschinsky ML i sur. (37)*

*TG-trigliceridi; CE-kolesterol esterificirani, FC-slobodni kolesterol; PL-fosfolipidi; apo B-apoprotein B; P-proteazni dio; S-S-disulfidna veza; 4<sub>1</sub>-4<sub>10</sub>-petlja tip 4<sub>1-10</sub>; 5-petlja 5*

McLean i sur. su 1987. odredili točnu strukturu apo(a) i pritom utvrdili izuzetnu strukutrnu sličnost između apo(a) i plazmonogena, i to u tri dijela: pete petlje, četvrte petlje i proteaznog djela (39). Apo(a) je dio velike familije koji u svojoj strukturi sadrži proteine građene od petlji nazvane kringl (K) po danskom pecivu *cringle* koje su bogate cisteinom, koja osim plazminogena, uključuje protrombin, faktor XII, tkivni aktivator plazminogena (engl. tissue plasminogen activator, t-PA), urokinazu, protein koji stimulira makrofage i faktor rasta trombocita (39).

Fibrinoliza je jedan od osnovnih obrambenih mehanizama kojima se krvne žile održavaju prohodnim. U plazmi se nalazi neaktivni protein plazminogen, koji djelovanjem raznih aktivatora plazminogena postaje serinska proteaza-plazmin koja razgrađuje fibrin. Shematski prikaz strukture plazminogena prikazan na na slici 2.



Slika 2. Shematski prikaz strukture plazminogena

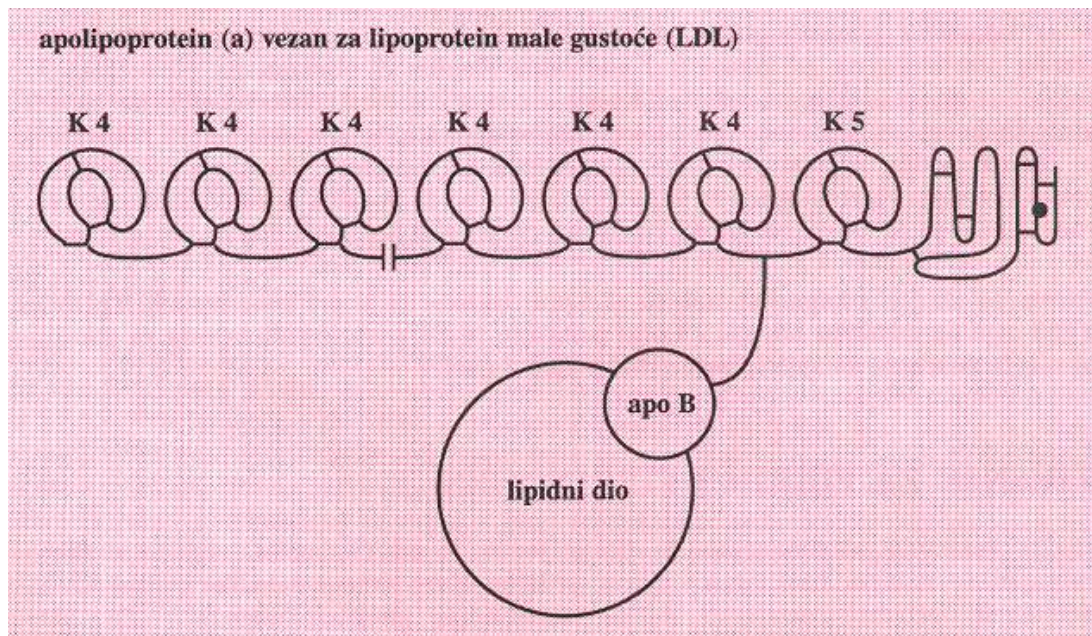
*Prilagođeno prema Lindsey i sur. (40)*

*Prikazana su mjesta cijepanja molekule (→) i aktivno mjesto na lakom lancu (•). Petlje su označene s K. Na aminoterminalnom dijelu molekula završava glutaminom (glu), a ako se otcijepi fragment s molekulskom masom 10 000, lizinom (liz).*

Na aminoterminalnom dijelu završava glutamiskom kiselinom (glu), a ako se odcijepi fragment s molekulskom masom 10 000 završava lizinom (liz). S obzirom na to razlikujemo glu-plazminogen i liz-plazminogen. Ishodišni glu-plazminogen aktivira se u dva stupnja. Cijepanjem veze nastaje dvolančani glu-plazminogen, koji se sastoji od teškog i lakog lanca. Teški lanac ima pet petlji označenih K1-K5. Na lizinskom dijelu aminoterminalnog dijela K4 nalazi se vezno mjesto za fibrin. Laki lanac sadrži serinski katalitički dio (39).

Na slici 3. prikazana je shematska struktura Lp(a). Molekula apo(a) vezana je dvoskukom sulfidnom vezom na LDL. Dio koji odgovara aminoterminalnom dijelu i petljama K1-K3 plazmonogena, u apo(a) nije prisutan. Aminoterminalni dio apo(a) započinje petljom K4 koja je jako slična petlji K4 plazminogena i ponavlja se i do 36 puta. Četvrta je petlja apo(a) po sastavu aminokiselina u 75% do 85% slična četvrtoj petlji plazminogena.

Četvrtu petlju slijedi petlja K5, koja je čak u 91% slična petoj petlji plazminogena. Apo(a) sadrži i predio koji je u 94% sličan proteaznom dijelu plazminogena, ali katalitička aktivnost koju ima plazminogen nije dokazana u apo(a) (39).



Slika 3. Shematski prikaz lipoproteina (a)

*Prilagođeno prema Lindsay i sur. (40)*

*Prikazano je mjesto gdje razni aktivatori imaju aktivni dio, a koji u Lp(a) usprkos velikoj strukturnoj sličnosti nema litičku aktivnost (•). Prikazano je i mjesto vezivanja lipoproteina male gustoće (LDL) za apolipoproteine pomoću apolipoproteina B (apo B). Petlja je označena s K. Prikazano je da se u molekuli apo(a) četvrte petlje često ponavljaju, a peta je petlja je samo jedna.*

Apo (a) u ljudi sadrži deset osnovnih tipova četvrte petlje, označenih kao K4 tip 1 do 10. Petlje K4 tip 1, K4 tip 3-10, K5 i proteazni dio prisutni su kao pojedinačne kopije, dok se petlja K4 tip 2 ponavlja od 3 do više od 40 identičnih kopija. Različiti broj ponavljanja petlje K4 tip 2 najvažnija je odrednica različitosti veličine apo(a), što rezultira različitim brojem izoformi u ljudskoj plazmi, molekulske mase između 300-800 kDa (41). Potencijalni ključ fiziološkog djelovanja Lp(a) pripisuje se prisutnošću lizin vezajućih mjesta na pojedinim petljama i njihovoj sposobnosti da djeluju na interakciju Lp(a) s

lizinskim ostacima na biološkim supstratima. Tako, petlja K 4 tip 10 ima snažno lizin-vezajuće mjesto koje djeluje na inerrekaciju Lp(a) sa lizinskim ostacima na biološkim supstratima kao što su receptori na površini fibrina, plazminogena, stanicama endotela i trombocita (42). Svaka apo(a) petlja sadrži najmanje jedno N-vezno glukozilacijsko mjesto, dok sekvencije koje vežu susjedne petlje sadrže najmanje šest O-veznih mjesta (43).

Lp(a) se, osim u veličini apo(a) izofirmi, razlikuje po lizin vezajućim svojstvima, sastavu lipida, ugljikohidrata i apolipoproteina. S obzirom na sastav apolipoproteina, dokazano je da osim apo(a) i apoB-100 sadrži i 20% apo E. Prisutnost apo E utječe na lipidnu strukturu i plazmatsku koncentraciju Lp(a), kao i na sposobnost vezanja na LDL receptore. Lp(a) koji ne sadrži apo E je bogat esterima kolesterola, a siromašan trigliceridima, a Lp(a), koji sadrži apo E, je bogat trigliceridima. Neke su studije dokazale udruženost apo A-I s Lp(a). Značenje prisutnosti drugih apolipoproteina, osim apo(a) i apo B-100 s obzirom na funkciju i metabolizam Lp(a), ostaje nepoznato (44).

### **1.2. 3. Sinteza i metabolizam lipoproteina (a)**

Za razliku od drugih lipoproteina, o metabolizmu Lp(a) se još uvijek malo zna. Iako je apo(a) otkriven u plućima, mozgu, nadbubrežnoj žlijezdi, hipofizi, testisima, stijenci aorte i koronarnih arterija, najvjerojatnije se najveći dio apo(a) prisutog u plazmi sintetizira u jetri. Prvo nastaje prekursor apo(a) male molekulske mase, koji podliježe daljnim metaboličkim promjenama prije nego što se izluči u zreloj formi u plazmu (45). Prvi korak u stvaranju apo(a) je glukozilacija N i O-veza u endoplazmatskom retikulumu jetrenih stanica (46). Potom dolazi do stvaranja višestrukih disulfinih veza koje podliježu cikličkom preklapanjima u endoplazmatskom retikulumu (47). Nakon ovog složenog intracelularnog procesa, apo(a) se veže za apo B-100 koji se nalazi na površini LDL-a, a zajedno čine zrelu molekulu Lp(a). Nije sasvim jasno da li se proces stvaranja zrele molekule Lp(a) događa unutar same stanice, na površini stanice, međustanično (intercelularno) ili u plazmi. Neka istraživanja upućuju da se Lp(a) sintetizira intracelularno, a veći broj istraživanja podupire suprotnu hipotezu i ukazuje da se taj proces odvija ekstracelularno (48,49). Proces se vjerojatno odvija u dva nivoa. Početna nekovalentna veza između



petlje K4 tip 6 ili 7 u apo (a) i lizinskog ostatka u apo B-100 dovodi do stvaranja nestabilnog rezerezibilnoga kompleksa, koji se nakon toga stabilizira stvaranjem konačne disulfidne veze (50). Moguće mjesto kovalente veze između ova dva proteina nije sasvim jasno. Neke studije ukazuju da se ta kovalentna veza događa između cisteinskog ostatka 4057 na petlji K4 tip 9 u apo(a) i cisteinskog ostatka 4326 u apo B-100 (51). Druga istraživanja ukazuju da je sekvencija apo(a) koja odgovara petljama K4 tip 6-8, moguće mjesto odgovorno za ovo djelovanje. Nije sasvim jasno da li se ovaj dio direktno veže na apo B-100 ili potiče međudjelovanje drugih dijelova molekule apo(a) s karboksilnim ostatkom apo B-100 (52).

Katabolizam Lp(a) je još manje jasan nego proces njegove sinteze. LDL receptori su minorno mjesto u katabolizmu Lp(a). To je potkrijepljeno rezultatima kliničkih opažanja prema kojima inhibitori 3-hidroksi-metilglutaril-koenzima (HMG-CoA) reduktaze nemaju značajan utjecaj na razinu Lp(a) u serumu (53). Tomu u prilog govore rezultati Krafta i sur. koji su u skladu s podatkom da je poluživot Lp(a) u bolesnika s obiteljskom hiperkolesterolemijom, dakle u osoba u kojih postoji defekt LDL receptora, jednak onom u zdravih ispitanika (54). Lp(a) se veže na veliki broj alternativnih receptora koji se nalaze na površini endotelnih stanica, makrofaga, fibroblasta i trombocita. Nije sasvim jasno da li Lp(a) može biti učinkovito preuzet i razgrađen ovim alternativnim metaboličkim putevima (55). Keesler i sur. otkrili su novi specifični receptor za Lp(a)/apo(a) na površini makrofaga i pjenastih stanica (56). Vezanje za ovaj receptor, koje je povećano na stanice koje su prepunjene kolesterolom, potiče preuzimanje i lizozomsku degradaciju Lp(a) *in vitro*. Predio apo(a) koji odgovara petlji K4 tip 6-7 je najvjerojatnije odgovoran za vezanje na ovaj receptor. Takvo vezivanje dovodi do specifičnoga kataboličkog puta za Lp(a), ali ne i za druge lipoproteine (56). Prema eksperimentalnim rezultatima, u katabolizmu Lp(a) prvi je korak proteolitička digestija N-terminalnog dijela kojom se potom oslobađa, s apo(a), prekriveno vezno mjesto za LDL receptor preko kojeg se molekula veže za hepatocite. Preostali odcijepljeni dio razgrađuje se djelovanjem proteaze koja još nije verificirana istraživanjima *in vivo* (57). U prilog navedenom mehanizmu govore rezultati koji ukazuju da molekula Lp(a) tretirana kolagenazom dvostruko lakše ulazi u hepatocite. Prema studijama na životinjama, uz jetru

koja je najvažnije mjesto katabolizma gdje se razgrađuje više od 60% ukupne količine molekule, i bubreg znatno utječe na razgradnju. To se temelji na opaženoj bubrežnoj arterijsko-venskoj razlici koncentracije Lp(a) (57). Proteolitičkom razgradnjom Lp(a) stvaraju se manji fragmentni, veličine od 85 do 215 kDa, koji se aktivno luče u urin (58).

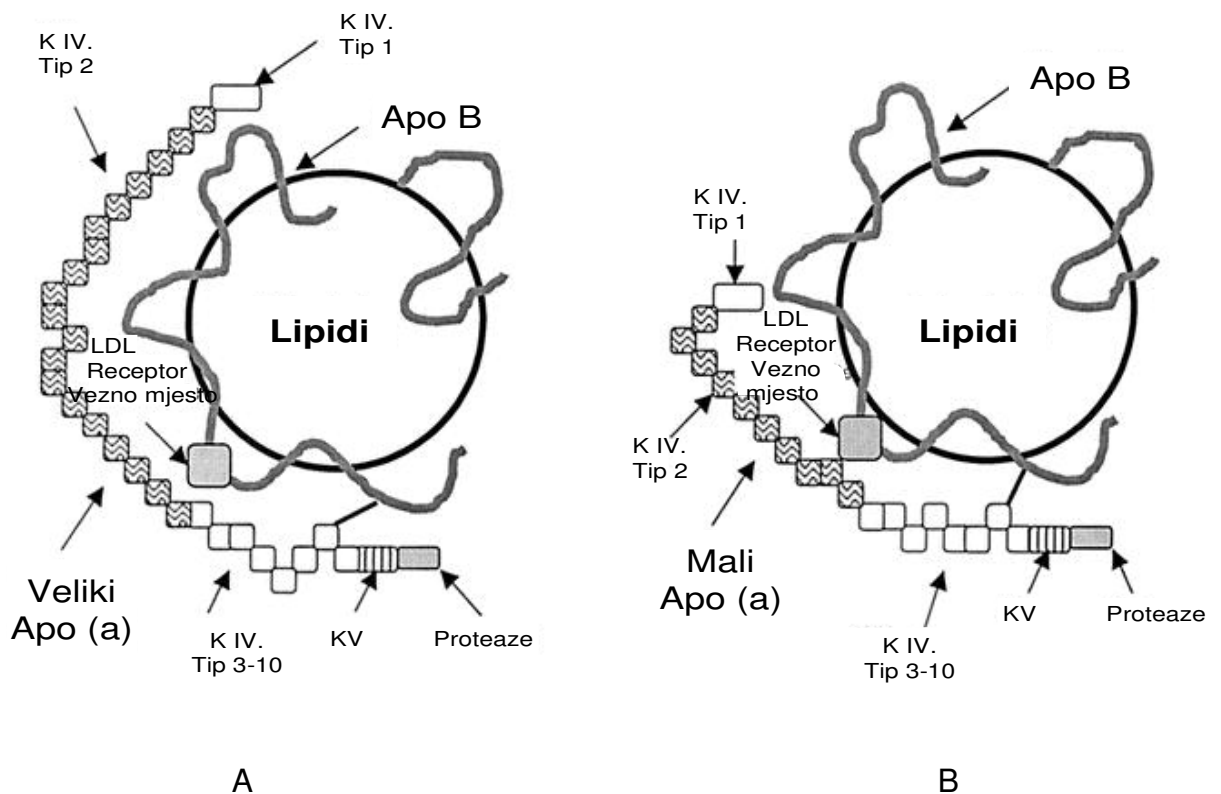
#### **1.2.4. Genetska kontrola lipoproteina(a)**

Gen za sintezu apo (a) nalazi se na kromosomu 6 (6q26-27). Polimorfizam ovoga gena odgovoran za više od 42% varijabilnosti količine Lp(a) u serumu. Danas je poznato više od 30 alela (59). Veliki broj alela na ovom polimorfnom genskom lokusu određuje veličinu izoformi apo(a). Različita veličina alela rezultira različitim brojem ponavljanja sekvencija označenih K4 tip 2. Najmanje 34 različite izoforme apo(a) otkrivene su u ljudskoj plazmi, što je najsnažniji učinak pojedinačnog polimorfizma jednoga gena na plazmatske lipide (60). Prema Boerwinkleu i sur. varijacije ovog genskog lokusa odgovorne su za 70-90% varijacija Lp(a) (5). Gen za apo(a) povezan je s lokusom za plazminogen, koji se također nalazi na kromosomu 6. Gen za apo(a) je vrlo sličan genu za plazminogen, tj. sadrži sekvenciju koja kodira plazminogensku petlju K5, a sekvencija koja kodira petlju K4, višestruko se ponavlja. Gen za apo(a) ne posjeduje sekvencije koju posjeduje gen za plazminogen, a koje kodiraju aminoterminalni dio i petlje K1, K2 i K3. Unatoč velikoj genetskoj sličnosti, točkasta mutacija sekvencije apo(a) gena za proteazni dio rezultira gubitkom katalitičke aktivnosti Lp(a) (39).

Utvrđeni redoslijed od 4529 aminokiselina apo(a) otkriva visok postotak podudarnosti tog proteina s četvrtom petljom plazminogena. To vjerovatno određuje njegovu ulogu u zdravlju i bolesti (61). Gen za apo(a) star je više od 40 milijuna godina. Ranije se smatralo da se taj gen pojavio na kraju evolucije, a da je prisutan samo u viših primata i ljudi. Evolucijsku enigmu potencira podatak da je nedavno apo(a) izoliran i u životinja i to kod ježe i gvinejske svinje koje su se u evolucijskom lancu javile ranije (62). Nejasno je zbog čega se Lp(a) tijekom evolucije gubi, a još teže objasniti njegovo ponovno pojavljivanje. Čini se da bi i objašnjenje moglo biti trajna prisutnost gena za plazminogen s mogućnošću dupliciranja i modificiranja.

Koncentracija Lp(a) u plazmi razlikuje se među ljudima i do tisuću puta. To ga izdvaja od svih ostalih vrsta serumskih proteina. Plazmatska koncentracija Lp(a) genetski je određena, pokazuje velike individualne varijacije i kreće se u širokom rasponu od <math><0,1-100\text{mg/dl}</math>. Uočeno je da koncentracija, ali i aterogenost, negativno koreliraju s molekulskom masom apo(a). Tako je registrirana veća učestalost niskomolekularnih izofirmi apo(a) u bolesnika s izraženijim aterosklerotskim promjenama (57). Važnost genetske podloge u određivanju razine Lp(a) vidi se i iz podataka o višim vrijednostima u djece čiji su roditelji preboljeli infarkt miokarda prema onim s negativnom obiteljskom anamnezom (63). Isto tako majke djece s razinom Lp(a) u najvišem kvintilu distribucije imale su dvostruko češće infarkt miokarda u anamnezi (64). Plazmatska koncentracija Lp(a) je, prema studijama *in vitro* i pokusima na životinjama, većinom kontrolirana sintezom a manje katabolizmom (65). Otprilike 90% varijabilnosti Lp(a) u plazmi pripisuje se nasljednim sekvencijama koje se nalazi unutar ili su usko vezane uz apo(a) gen. Točan mehanizam koji određuje plazmatsku razinu Lp(a) nije potpuno jasan. Smatra se da veličina apo(a) igra glavnu ulogu u procesu stvaranja i oslobađanja Lp(a) u plazmu, a brzina stvaranja Lp(a) slabo kolerira s veličnom polimorfizma gena (66). Druge sekvencije koje su usko vezane za apo(a) gen su vjerojatno uključene u regulaciju sinteze apo(a). Naime, dokazano je da apo(a) aleli jednake veličine mogu rezultirati koncentracijom Lp(a) u plazmi koja se razlikuju više od 200 puta (67). Otkriće TTTTA pentanukleotidnog polimorfizma u 5' kontrolnoj regiji apo(a) gena, jedno je od mogućih mjesta koje ima snažni regulatorni utjecan na sintezu Lp(a). Niska je koncentracija Lp(a) povezana s prisutnošću alela koji imaju manje od osam ponavljanja TTTTA (68). Apo(a) gen je dio skupine gena koja se nalazi na kromosomu 6 (6q26-27), a koja uključuje sekvencije za apo(a), plazminogen i dva pseudogena označena apo(a) srodni gen C i B. Sličnost među sekvencijama ovih gena je oko 70% (69). Za sada nije poznato imaju li pseudogeni C i B neku biološku funkciju u ljudi. Velika sličnost u sekvencijama gena za apo(a) i plazminogen s genima koji određuju druge serinske proteaze ukazuje da ovi geni, sličnom genetskom rekombinacijom, potječu od zajedničkog prethodnika (70).

Koncentracija Lp(a) razlikuje se među rasama. Najviša je u negroida, manja u europeida, a najmanja u mongoloida (71). To se podudara s opaženim rizikom od koronarne bolesti koji je najviši u Afroamerikanaca, a najmanji u Kineza u kojih je češći cerebrovaskularni inzult u čijoj patogenezi neki drugi čimbenici igraju važniju ulogu. Uz to se čini da Lp(a) ima drugačije svojstvo u Crnaca (72). U crnačkoj populaciji krivulja distribucije ima pravilan zvonolik izgled, a u Bijelaca ona ima nepravilan oblik s vršnim vrijednostima pomaknutim prema lijevom kraku krivulje. Jedan od mogućih razloga različite razine Lp(a) i različitog aterogenog potencijala tumači se različitom distribucijom izoformi apo(a) u različitim etničkim skupinama. Shematska struktura dviju izoformi različite veličine prikazana je na sl. 4A i 4B.



Slika 4A i 4B. Shematski prikaz izoformi apo(a) različite velične (A- velika izoforma apo(a); B-mala izoforma apo(a))

*Prilagođeno prema Berglund i sur.(73)*

*K IV. Tip 1-četvrta petlja tip 1; apo A-apoprotein A; Apo B-apoprotein B; KV-kovalentna veza*

U crnačkim populacijama nađena je znatno veća zastupljenost izoformi apo(a) srednje veličine (71).

### **1.2.5. Stečeni čimbenici koji utječu na razini lipoproteina(a)**

Iako je plazmatska koncentracija Lp(a) dominantno pod genetskom kontrolom, oštećeni metabolički poremećaji i bolesti mogu utjecati na sintezu i katabolizam Lp(a). Budući da se Lp(a) sintetizira u jetri, kronične bolesti jetre, sa značajno oštećenom funkcijom, povezane su sa znatno nižim vrijednostima Lp(a) u plazmi (74). Male varijacije od oko 10%, javljaju se u stanjima u kojima je prisutna pojačana reparacija tkiva, pa se postavlja pitanje ne ponaša li se Lp(a) kao reaktant akutne faze upale. Povezanost upale s razinom Lp(a) pokazuju neka istraživanja. Prema tim istraživanjima neki posrednici upale poput interleukina-6 značajno povisuju, a transformirajući faktor rasta  $\beta$ -1 (engl. transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) i faktor nekroze tumora- $\alpha$  (engl. tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) snizuju razinu Lp(a). Suprotno tome drugi citokini poput interleukina-2, interleukina-8, te faktora rasta hepatocita ne utječu na serumsku razinu Lp(a) (75). Povišena razina Lp(a) opažena je u trudnoći, u maratonaca, malignih bolesnika, nakon kardiovaskularnih operacija, dakle u stanjima koja upućuju na njegovu moguću ulogu u tkivnoj sintezi i cijeljenju. Snižena razina Lp(a) uočena je u bolesnika s cirozom jetre, u septičkim stanjima i opeklinama, a što se može objasniti disfunkcijom jetre, hemodilucijom ili njihovom kombinacijom (57).

Utjecaj bolesti bubrega na razine Lp(a) u plazmi za sada nije potpuno jasan. U urinu osoba s oštećenom funkcijom bubrega izolirani su različiti metaboliti apo(a), veličine između 85 i 215 kDa. U tkivu bubrega nije izolirana mRNA (eng. messenger Ribonucleic Acid) za apo(a), pa je za pretpostaviti da je u plazma vjerovatno porijeklo ovih fragmenata (76). Povišena plazmatska razina Lp(a) nađena je u bolesnika s nefrotskim sindromom i završnim stadijem oštećenja bubrega, a transplantacija bubrega i dijaliza vrlo su efikasne u smanjenju razine Lp(a) u plazmi (77,78). Sve skupa ukazuje da bubrezi imaju značajnu ulogu u metabolizmu Lp(a). Nije sasvim jasno je li povišena razina Lp(a) u osoba s oštećenom funkcijom bubrega posljedica smanjenoga klirensa ili povećane sinteze Lp(a) u jetri koja može biti potaknuta

selektivnim gubitkom proteina koja je prisutna kod nefrotskog sindroma (57,79).

Metabolizam lipoproteina može biti promijenjen u raznim hormonalnim poremećajima. Spolni hormoni imaju određeni utjecaj na razinu Lp(a). Lp(a) raste u postmenopauzi, a hormonska nadomjesna terapija snižava Lp(a) i to je već potvrđeno kao terapijska mogućnost u nekoliko prospektivnih studija (80,81). Testosteron i anabolni steroidi snižuju razinu Lp(a) u plazmi (82). Bolesti štitnjače utječu na metabolizam Lp(a) tako da su osoba s hipertireozom zabilježene niže vrijednosti Lp(a) u serumu, a koje se normaliziraju nakon terapije (83). Suprotno u hipotireozu prati se povišena razina Lp(a) u serumu koja se snižava nakon postizanja eutireoze (84). U bolesnika s akromegalijom primijećen je porast razine Lp(a), koji se snižuje nakon odgovarajuće terapije (85). Povišena razina Lp(a) registrirana je kao dio metaboličkih poremećaja u osoba s metaboličkim sindromom (86).

Određeni čimbenici iz okoline utječu na razinu Lp(a) u serumu. Umjeren tjelesna aktivnost nema značajnijeg utjecaja na razinu Lp(a), dok se kod intenzivnog i dugotrajnog tjelesnog opterećenja razina Lp(a) u serumu povećava (87). Podaci o utjecaju različitih dijeta na razinu Lp(a) su kontroverzni. Primjena standardnih dijetnih mjera liječenja nije pokazala značajniji utjecaj na razinu Lp(a) (88). Primjena posebnih dijetnih režima koje sadrže jednostruko nezasićene masne kiseline povišuju, dok dijetne obogaćene sa n-3 višestruko nezasićenim masnim kiselinama snižuju razinu Lp(a) u serumu (89). Umjeren konzumacija alkohola, poglavito crnog vina, povoljno utječe na lipidni profil i sklonost oksidaciji i dovodi do sniženja razine Lp(a) u serumu, a apstinencija u kroničnih alkoholičara dovodi do porasta serumske razine Lp(a) (90,91).

### **1.2.6. Razina lipoproteina(a) u osoba sa šećernom bolesti**

Rezultati brojnih kliničkih istraživanja o utjecaju šećerne bolesti na razinu Lp(a) i odnosu između reguliranosti glikemije i razine Lp(a) nisu nam dali jasne odgovore. U nekim istraživanjima, u osoba s tipom 1 šećerne bolesti, nađena je povišena razina Lp(a) u serumu prema osobama bez šećerne bolesti, dok u drugima to nije potvrđeno (92,93). Diabetes Control and

Complications Trial ( DCCT) studija, koja je provedena na velikom broju osoba s tipom 1 šećerne bolesti, nije pokazala razliku u serumskoj razini Lp(a) prema kontrolnoj skupini nedijabetičkih bolesnika. U istoj studiji skupina osoba sa tipom 1 šećerne bolesti i boljom kontrolom glikemije postignutom intenziviranom inzulinskom terapijom, imala je niže razine Lp(a) u serumu (94). Pretpostavlja se da inzulin koči sintezu apo(a) u jetrenim stanicama što je i potvrđeno u životinjskim modelima (95). Rezultati drugih istraživanja nisu sukladni ovima i ukazuju da inzulinska terapija nema nikakvog utjecaja na razinu Lp(a) u serumu (96). Nedavno su Kronenberg i sur. pokazali povezanost između razine Lp(a) serumu i fenotipa apo(a) u osoba s tipom 1 šećerne bolesti. Osobe s manjim apo(a) izoformama imali su puno više razine Lp(a) u serumu (97). Nađene su i značajne rasne razlike u koncentraciji Lp(a) u tipu 1 šećerne bolesti. Crnci imaju znatno veću koncentraciju Lp(a) u odnosu na Bijelce. Povezanost između glukoziliranog hemoglobina A1c (HbA1c) i Lp(a) potvrđena je samo u Bijelaca, što se tumači većom zastupljenošću manjih izoformi apo(a) u bjelačkoj populaciji (98).

U većini istraživanja u osoba s tipom 2 šećerne bolesti nije nađena značajna razlika u serumskoj razini Lp(a) prema općoj populaciji, dok manji broj istraživanja ukazuje na povišene vrijednosti Lp(a) prema osobama bez šećerne bolesti (99,100). Rainwater i sur. našli su obrnutu povezanost između razine Lp(a) i inzulina u serumu osoba tipom 2 šećerne bolesti (101). Takav je nalaz u skladu s rezultatima *in vitro* studija koje ukazuju da inzulin suprimira sintezu apo(a) u jetri. U tipu 2 šećerne bolesti nije nađena povezanost između reguliranosti glikemije i razine Lp(a) u serumu, bez obzira radi li se o terapiji inzulinom ili oralnim hipoglikemicima (102,103). Jedno istraživanje u malom broju Japanaca s tipom 2 šećerne bolesti pokazalo da terapija troglitazonom značajnije podiže razinu Lp(a) u serumu (104). Ti se rezultati slažu s podacima koj ukazuju da hiperinzulinemija, koja je često prisutna u osoba s tipom 2 šećerne bolesti, dovodi do sniženja razini Lp(a).

Prema dosadašnjim saznanjima može se zaključiti da šećerna bolest nema nekog značajnijeg utjecaja na metabolizam Lp(a), te su potrebna daljnja istraživanja sa znatno većim brojem ispitanika i jasno definiranim populacijama da bi se utvrdio odnos između razine i fenotipskih obilježja Lp(a) i šećerne bolesti.

### 1.2.7. Fiziološka uloga lipoproteina(a)

Točna fiziološka uloga Lp(a) danas još nije poznata. Raspon koncentracije serumskog Lp(a) je velik. Postoje osobe s nemjerljivom razinom Lp(a) u serumu koje nemaju dokazani sindrom deficijencije i s time povezane bolesti. S obzirom na te činjenice postavlja se pitanje koja je njegova stvarna fiziološka uloga (105). Veći udio kolesterola i fosfolipida koje sadržava Lp(a) čine ga važnim u sintezi stanične stijenke i bazalnih membrana. U prilog tome govori i histološki nalaz prisutnosti Lp(a) u intaktnim dijelovima intime arterija (106). Čini se važnim i njegova uloga u cijeljenju oštećenih tkiva. Mehanizam tog procesa mogao bi biti kompeticija s plazminogenom zbog njihove velike strukturne sličnosti. Time se vjerovatno ometa proces fibrinolize i pospješuje stvaranje fibrina koji je važan u procesu cijeljenja tkiva (107). Ovu hipotezu podupiru podaci da je apo(a) kao reaktivni materijal nađen na površini fibrozne kape i u granulacijskom tkivu tijekom procesa cijeljenja rane (108). Lp(a) se veže na različite proteine subendotelnog matriksa krvne žile i posjeduje hormonu rasta sličan utjecaj na različite stanične komponente krvne žile (109,110). Sve to ukazuje na njegovu moguću ulogu u cijeljenju oštećenih tkiva i vaskularnih lezija. Neka, *in vitro*, istraživanja su pokazala da apo(a) zbog svoje sličnosti s angiostatinom dovodi do inhibicije neovaskularizacije u tumoru i time koči stvaranje metastaza (111). U posljednje vrijeme teoretizira se o njegovoj mogućoj ulozi u razvoju spongiformne encefalopatije, gdje bi Lp(a) mogao služiti kao nosač priona (112).

S obzirom na postajnje i ulogu Lp(a) postavlja se pitanje jesu li tijekom evolucije pozitivnom selekcijom odabrani oni s višom razinom Lp(a). Naime, za produženje vrste važnije je učinkovito cijeljenje rane od povećane kardiovaskularne smrtnosti u dobi od 40 godina. Je li onda prirodna zadaća Lp(a) kontraregulacija aktivnosti plazminogena i olakšavanje stvaranje plazmina? Veliki porast kardiovaskularnih bolesti koji se prati u posljednjem stoljeću zasigurno je odraz promjenjenog načina života i utjecaja vanjskih čimbenika. Naime, za genetske promjene treba više vremena i ne mogu u tako kratko vrijeme tako dramatično utjecati na promjenu fenotipa. Pogoduju li dakle ti vanjski čimbenici za prelazak fiziološke uloge prema patofiziološkoj? Postaju li upravo oni pojedinci koji su ranije bili odabrani kao povlašteni, a



sada zbog promijenjenih vanjskih okolnosti i produženog trajanja života ugroženiji? Sve su to otvorena pitanja o utjecaju Lp(a) na ljudsku vrstu.

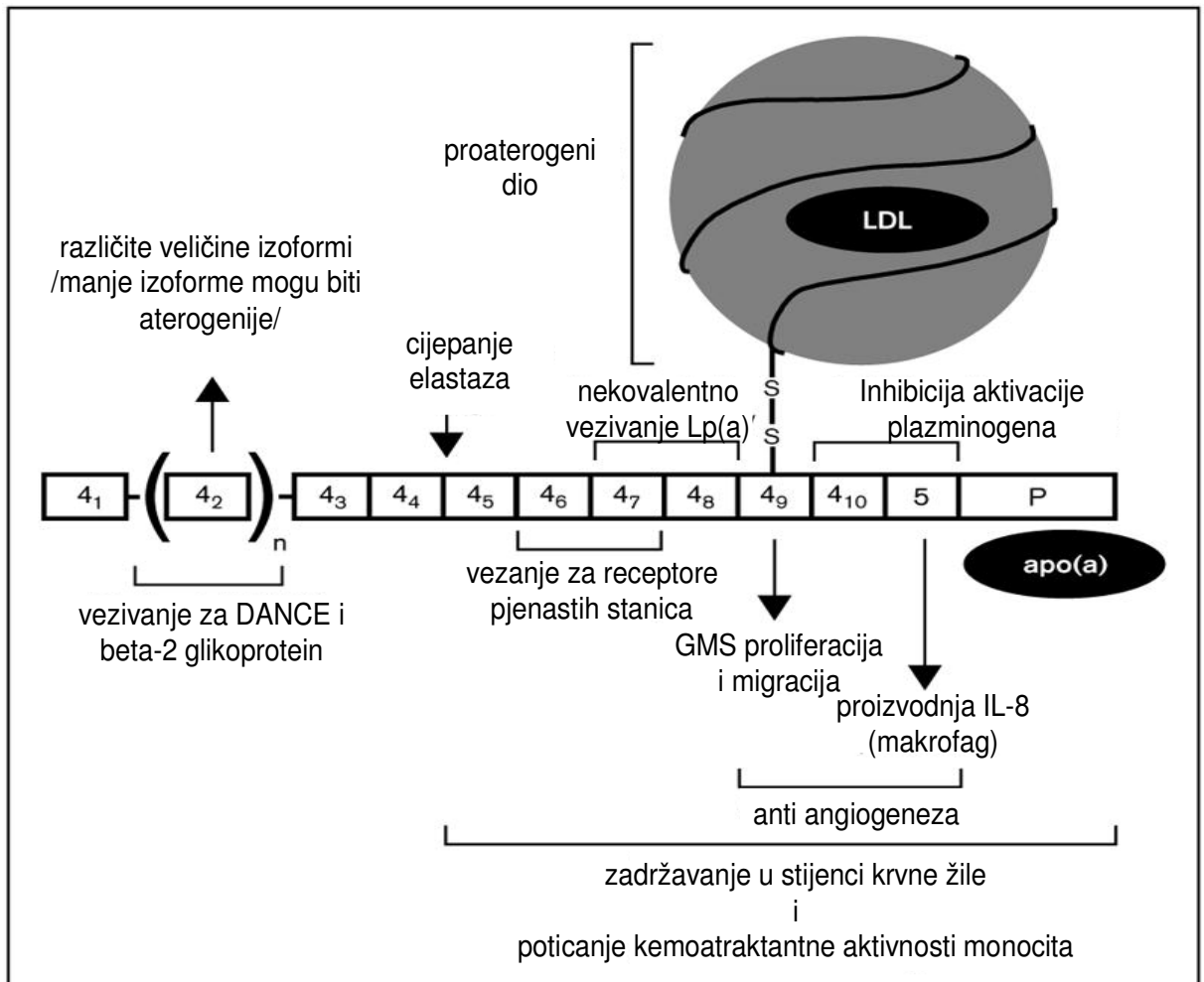
### **1.2.8. Lipoprotein(a) i aterotrombogeneza**

Prema dosadašnjim saznanjima najbolje je istražena uloga Lp(a) u aterotrombogenezi. Veliki broj raspoloživih podataka ukazuje na značajnu ulogu Lp(a) kako u ranoj fazi nastanka i progresije ateroskleroze, tako i u kasnoj, trombotskoj fazi okluzivne bolesti arterija. Opravdano se smatra da se mogući mehanizam proaterogenog i protrombogenog djelovanja temelji na njegovu alternativnom fiziološkom učinku. Procesu nastanka aterosklerotskog plaka mogu pridonose obje glukoproteinske molekule prisutne u Lp(a), tj i apo(a) i apo B. Velika strukturna sličnost Lp(a) s LDL kolesterolom doprinosi njegovu velikom aterogenom potencijalu. Istovremeno, sličnost apo(a) s plazminogenom prepostavlja se da dovodi do kočenja fibrinolize.

#### **1.2.8.1. Lipoprotein(a) i aterogeneza**

Direktni dokaz aterogenosti Lp(a) je otkriće imunoreaktivnog materijala apo(a) u aterotrombotskim lezijama koronarnih, karotidnih i perifernih arterija, te venskim prenosnicama i u oštećenim krvnim žilama nakon balonske angioplastike (113,114,115). Količina Lp(a) koja je otkrivena u aterosklerotskoj leziji u direktnoj je povezanosti s razinom Lp(a) serumu. Jednom kada se nađe u subintimalnom prostoru ima prednost zadržavanja u odnosu na LDL kolesterol. Prvi korak kojim Lp(a) pridonosi kompleksnom procesu ateroskleroze je pojačano nakupljanje u subendotelnom procesu. Nakon početnog oštećenja endotela molekula Lp(a) se preko apo(a) veže se na različite komponente subendotelnog matriksa poput glukozaminoglikana, proteoglikana, fibronektina, fibrina, heparan sulfata, laminina i actina (62,109,116). U istraživanjima *in vitro* dokazano je da se cijepanjem molekule apo(a) mogu dobiti pojedini funkcionalni fragmenti koji vezanjem na različite komponente subendotelnog matriksa izazivaju određene patofiziološke promjene. Tako pojedini fragmenti pokazuju proupalne i proaterogene učinke, dovode do inhibicije angiogeneze i fibrinolize ili su upleteni u sam proces

sinteze Lp(a). S druge strane, proaterogeni LDL-u sličan dio Lp(a), vezanjem fragmenta apo(a) koji odgovara petljama K4 tip 6 i 7 na specifične receptore na površini makrofaga ubrzava nastanka pjenastih stanica (37). Mogući patogenetski učinci Lp(a) prikazani su na slici 5.



Slika 5. Mogući patogenetski mehanizmi Lp(a)

Prilagođeno prema Koschinsky ML i sur. (37)

DANCE-[engl. **D**evelopmental **A**rteries and **N**eural **C**rest **E**pidermal growth factor (EGF)-like]-epidermalni faktor rasta razvoja arterija i neuralne osnove;GMS-glatke mišićne stanice

Prisutnost Lp(a) na mjestu oštećenja krvne žile pridonosi pojačanom nakupljanju drugih aterogenih lipoproteina, posebno LDL i VLDL od kojih neki čine netopljive komplekse s Lp(a) u serumu (117). Istovremeno Lp(a) pridonosi pojačanom nakupljanju monocita u stijenci oštećene krvne žile,

potiče proliferaciju endotelnih stanica te potiče proliferaciju, migraciju i aktivaciju glatkih mišićnih stanica. To su ključni procesi u ranoj fazi stvaranja aterosklerotskog plaka (118). Pojačano nakupljanje monocita potaknuto je pojačanom sintezom i ekspresijom adhezijskih molekula na površini endotela kao što su intercelularne adhezijske molekule-1 (engl. intercellular adhesion molecule-1, ICAM -1), P-selektin, faktor rasta trombocita (engl. platelet-derive growth factor, PDGF) i monocitno kemoatraktantni protein 1 (engl. monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) u osoba s visokim vrijednostima Lp(a) (119,120). Dio molekule Lp(a) koji je podložan oksidaciji veže se preko apo B na elastin. To je potreban korak za prihvatanje Lp(a) od strane makrofaga (119). Oksidirana čestica Lp(a) se lakše preko receptora čistača nakuplja u makrofazima. Te stanice prelaze u stanje tzv. pjenastih stanica. One su bitno obilježje rane faze ateroskleroze (120).

Proliferacija glatkih mišićnih stanica i njihova migracija iz medije u intimu je drugo važno obilježje rane faze aterosklerotskog procesa. TGF- $\beta$  je multi funkcionalni citokin koji posjeduje između ostalih funkciju aktivacije i inhibicije rasta. TGF- $\beta$  inhibira rast različitih stanica uključujući i glatke mišićne stanice krvnih žila. Plazmin je fiziološki aktivator latentnog TNF- $\beta$ . Lp(a) izravnom kompetitivnom inhibicijom s plazminogenom dovodi do smanjene sinteze plazmina i time smanjuje aktivaciju TGF- $\beta$ . To pogoduje proliferaciji stanica glatke muskulature i njihovoj migraciji iz medije prema intimi (121). Pojačano nakupljanje Lp(a) i drugih lipoproteina u aktiviranim glatkim mišićnim stanicama i makrofazima dovodi do pozitivne povratne sprege koja rezultira pojačanim lokalnim nakupljanjem Lp(a) na mjestu oštećene krvne žile (122). U eksperimentalnim istraživanjima na kulturama ljudskih i životinjskih stanica dokazano je da oksidirana čestica Lp(a), pojačanim stvaranjem slobodnih kisikovih radikala uzrokuje apoptozu stanica i stimulira oslobađanje interleukina-8 iz makrofaga, citokina sa snažnim proinflamatornim svojstvima, što može pospještiti razvoj aterosklerotskog plaka (123,124). Lp(a) jednom prisutan u stijenci oštećene krvne žile, inhibicijom NO-sintetaze i posljedičnom smanjenom sintezom NO dovodi do oštećenja endotela i o endotelu ovisne vazodilatacije (125).

Histološki rezultati potvrđuju navedena eksperimentalna opažanja i razmišljanja. Naime, opaženo je da je u zoni oštećene krvne žile gdje je

prisutan apo(a) snižena količina TNF- $\beta$ , a povećano je nakupljanje osteopontina, markera aktiviranih stanica glatke muskulature (119). Lp(a) je u aterosklerotskom plaku nađen u makrofazima, a koncentracija Lp(a) je u aterosklerotski promijenjenoj krvnoj žili veća od one u intaktnoj (119,106). Koncentracija Lp(a) u aortnom trombu bolesnika s aneurizmom aorte pet puta je veća od one u stijenci krvne žile. Zajedno, uz opaženu povezanost razine Lp(a) u stijenci sa serumskom koncentracijom, govori u prilog pretpostavci da je registrirani Lp(a) u aterosklerotskoj krvnoj žili zaista posljedica vezanja iz sistemske cirkulacije (126,127).

### **1.2.8.2. Lipoprotein(a) i fibrinoliza**

Zbog velike strukturne sličnosti apo (a) s plazminogenom, Lp(a) se na više načina upliće u proces fibrinolize i na taj način podupire i ubrzava nastanak ugruška u krvnim žilama.

Na površini endotelnih stanica nalaze se brojni receptori za plazminogen. Funkcija je tih receptora ubrzavanje aktivacije plazminogena, lokaliziranje aktivnosti plazmina na staničnu površinu i zaštita plazmina vezanog na stanicu od inaktivacije alfa-2 antiplazminom. Plazminogen se specifično veže na endotelne stanice, zbog čega se povećava lokalna koncentracija tog enzima na žilnoj stijenci (128). Pokazalo se da se Lp(a) pomoću apo(a) veže na sva mjesta uz koja se inače veže plazminogen jer sadrži četvrtu petlju, koja je potrebna za vezivanje uz receptor. Ako imamo na umu da je regulacija vezivanja plazminogena za žilnu stijenu važna za početak fibrinolitičkog procesa, onda vezivanje Lp(a) za te receptore može biti važan poremećaj koji koči proces fibrinolize (129).

Regulacija vezivanja plazminogena za fibrin jedan je od čimbenika regulacije fibrinolize. Plazminogen se veže za fibrinogen i fibrin prilično slabo. Za aktivaciju plazminogena, a time i fibrinolizu, ključan je nastanak kompleksa fibrina, plazminogena i t-PA. Dokazano je da se Lp(a) takmiči s plazminogenom za vezna mjesta na fibrinu i fibrinogenu (130).

Utvrđeno je da Lp(a) produžuje otapanje euglobulinskog ugruška streptokinazom (131). S obzirom na kinetička ispitivanja smatra se da Lp(a) može biti kompetitivni i nekompetitivni inhibitor aktivacije plazminogena

streptokinazom (132). S druge strane vidljivo je da se ubrzanje aktivacije plazminogena prouzročene s t-PA inhibira fibrinogenom, fibrinom i razgradnim produktima fibrinogena u prisutnosti Lp(a) (128). Aktivacija plazminogena s t-PA ubrzavaju i glukozaminoglikani, kao što su heparin i heparan-sulfat do 25 puta (133). Heparinsko ubrzanje aktivacije plazminogena s t-PA koči Lp(a) i LDL. Inhibicija je tu vjerovatno uvjetovana kompetitivnom inhibicijom zbog velike sličnosti Lp(a) i plazminogena, a LDL inhibira aktivaciju plazminogena kao nekompetitivni inhibitor tako što koči dostupnost plazminogena na aktivno mjesto za t-PA. Iz vrijednosti inhibicijskih konstanti pretpostavlja se da oba lipoproteina već u fiziološkim koncentracijama mogu utjecati na fibrinolizu koju reguliraju heparin i heparan-sulfat (133). Utvrđeno je da se aktivacija plazminogena urokinazom u prisutnosti heparina, hondroitin-sulfata i heparin sulfata znatno ubrzava. Lp(a) se takmiči s plazminogenom za vezanje uz kompleks urokinaza-glikozaminoglikan i tako koči aktivaciju plazminogena (134).

Inhibitor aktivatora plazminogena-1 (engl. plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1), važan je čimbenik rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti jer koči fibrinolizu. Aktivnost t-PA nadzire PAI-1, koji se ireverzibilno veže za t-PA. U nekim istraživanjima je dokazano da Lp(a) dovodi do pojačane ekspresije PAI-1, dok istovremeno dovodi smanjenog lučenja t-PA iz endotelnih stanica i na taj se način značajno upliće u proces fibrinolize (135,136).

Aterogenom potencijalu Lp(a) u osoba sa šećernom bolešću značajno pridonosi neenzimska glukozilacija lipoproteina. Opseg glukozilacije Lp(a) značajno je veći u osoba sa šećernom bolešću u odnosu na nedijabetičare i značajno je povezan s razinom glukoziliranog hemoglobina A1c (137). Također je primijećeno da je razina glukoziliranog Lp(a) značajno veća u osoba s razvijenim mikro- i makrovaskularnim komplikacijama prema onima bez komplikacija (138). Zhang i sur. nedavno su u *in vitro* istraživanju pokazali da glukozilirani Lp(a) dovodi do pojačanog lučenje PAI-1 i istovremenog manjeg oslobađanja t-PA iz humanih endotelnih stanica što nesumnjivo pvećava njegov antifibrinolitikki učinak (139).

Danas imamo dosta podataka koji nam ukazuju da istovremena prisutnost više kardivaskularnih čimbenika rizika potenciraju ukupni

kardiovaskularni rizik. Neka su istraživanja pokazala da se kardiovaskularni rizik Lp(a) značajno povećava samo ako je udružen s drugim čimbenicima rizika kao što su LDL i homocistein. U jednom istraživanju Lp(a) je bio pretkazatelj lošijeg kardiovaskularnog ishoda samo ako je i razina LDL bila povišena (43). Pokazano je da homocistein vezanjem za Lp(a) pojačava njegova antifibrinolitički svostva, tako što promjenom strukture Lp(a) pojačava vezivanje Lp(a) uz fibrin (140). Povišena razina Lp(a) i homocistena blokiranjem NO-sintetaze dovode do smanjene sinteze NO i na taj oštećuju endotel i o endotelu ovisnu vazodilataciju (141).

Premda je mehanizam moguće uloge Lp(a) eksperimentalnim radovima u nekim segmentima rasvijetljen do razine citokina, za što postoje i histološke potvrde, još je otvoreno pitanje u kojoj se mjeri ti procesi zbivaju u humanom organizmu te kolika je stvarna klinička važnost povišene razine Lp(a) u kardiovaskularnom riziku. Rezultati velikih epidemioloških studija objavljeni u zadnje vrijeme pokazuju da je to sve izvjesnije.

### **1.2.9. Veličine izoformi apo(a) i kardiovaskularni rizik**

Budući da je primijećeno znatno veća učestalost niskomolekularnih izoformi apo(a) u bolesnika s težim oblicima kardiovaskularne bolesti, postavljeno je pitanje korisnosti određivanja veličine izoformi u procjeni kardiovaskularnog rizika. Oko tog pitanja znanstvena je literatura podijeljena. Dok neki pridaju veliko značenje veličini apo(a) izoformi i stime povezane koncentracije Lp(a), te posljedičnim kardiovaskularnim rizikom, drugi autori ne nalaze povezanosti kardiovaskularnog rizika s fenotipskim obilježjima apo(a) (142,143,144,145). Neka su istraživanja pokazala povezanost veličine apo(a) izoformi samo s uznapredovalim ali ne i početnim oblicima ateroskleroze, što je skladu s podacima da su uznapredovali oblici ateroskleroze uglavnom povezani s trombotskim komplikacijama i da je antifibrinolitički potencijal Lp(a) jako povezan s veličinom izoformi apo(a) (146). Koncentracija Lp(a) u serumu je genetski određena, a izrazita varijabilnost koncentracije Lp(a) primarno je posljedica velikog polimorfizma gena za apo(a), dok vanjski čimbenici nemaju velikog utjecaja na razinu ovog lipoproteina. Određivanje apo(a) fenotipa teorijski moglo bi biti jako korisno u otkrivanju osoba sklonih razvoju težih

oblika aterosklerotskih bolesti. Za sada nemamo jasnih kliničkih podataka koji bi ukazali na prednost određivanje polimorfizma apo(a) prema mjerenju serumske koncentracije Lp(a). Određivanje visokorizičnog apo(a) fenotipa u prvim godinama života nema nikakvog smisla budući da ne postoje relevantni podaci koji bi ukazali na korist liječenja u tako ranoj dobi neovisno o kardiovaskularnom riziku (147). Određivanjem veličine izoformi apo(a) u odrasloj dobi ne dobiva se puno, budući da aterotrombotski potencijal Lp(a) uglavnom ovisi o masenoj koncentraciji molekule a ne o biokemijskoj različitosti. Osim toga određivanje genotipa i fenotipa apo(a) zahtijeva vrlo skupe i komplicirane metode određivanja koje su dostupne malom broju kliničkih laboratorija. Stoga u ovom trenutku nemamo dovoljno čvrstih dokaza i kliničkih podataka koji bi podržali određivanje polimorfizma apo(a) u procjeni kardiovaskularnog rizika.

#### **1.2.10. Indikacije za određivanje lipoproteina(a)**

Premda postoje znanstvene i kliničke indicije o opravdanosti određivanja Lp(a) u bolesnika u kojih su prisutni čimbenici koji povećavaju kardiovaskularni rizik, ni najbogatije zemlje svijeta ne preporučaju njegovu rutinsku primjenu. Zbog kontradiktornih rezultata kliničkih studija i nedostatka učinkovitih lijekova koji bi smanjili njegov aterotrombotski potencijal, nema ni jasne strategije za njegovo rutinsko mjerenje. Neki autori na temelju svojih rezultata čak predlažu da se Lp(a) uvrsti uz bok ostalih već etabliranih čimbenika kardiovaskularnog rizika (148).

Današnji je stav da Lp(a) nije opravdano rutinski određivati, a prema većini autora potrebno ga je određivati u bolesnika koji su prikazani u tablici 1.

Tablica 1. Potencijalni kandidati za određivanje Lp(a)

---

1. Bolesnici s pojavom kardiovaskularnih bolesti prije 55. godine života,
2. Bolesnici s pozitivnom obiteljskom anamnezom kardiovaskularnih bolesti, posebno ako se bolest u obitelji javila u ranijoj životnoj dobi
3. Bolesnici kod kojih su prisutni drugi čimbenici rizika, posebno onih koji povećavaju patogenost Lp(a):

- povišeni LDL kolesterol,
  - povišeni homocistein,
  - hipertenzija,
  - šećerna bolest,
4. Bolesnici s ustanovljenom prijevremenom aterosklerotskom bolešću,
  5. Bolesnici podvrgnuti endovaskularnim procedurama,
  6. Žene u posmenopauzalnom periodu,
  7. Bolesnici s oštećenom funkcijom bubrega,
  8. Bolesnici s okluzijom retinalnih arterija i vena.

---

Većina autora smatra da Lp(a) treba odrediti u bolesnika koji su imali kardiovaskularni incident u dobi manjoj od 55 godina ili s pozitivnom obiteljskom anamnezom prerane kardiovaskularne bolesti, zatim u osoba kojima je verificirana koronarna bolest i imaju normalni lipidogram (62,149). Assaman i sur. smatraju da je određivanje korisno u bolesnika s ishemičkom bolesti srca i povišenim i LDL kolesterol, što je u skladu s rezultatima drugih autora koji smatraju da je sniženje LDL ispod 2,6 mmol/l najvažniji postupak u osoba s povišenim Lp(a) (150,151).

Arterijska hipertenzija sama, a posebno udružena s Lp(a) i drugim čimbenicima rizika značajno pridonosi oštećenju ciljnih organi u ubrzanom razvoju ateroskleroze (152). Budući da je Lp(a) genski determiniran, njegovo određivanje u bolesnika s esencijalnom arterijskom hipertenzijom bez oštećenja ciljnih organa mogao bi biti koristan prognostički marker u otkrivanju osoba sklonih razvoju kardiovaskularnim komplikacijama. Poznato je da osobe sa šećernom bolesti imaju veći kardiovaskularni rizik, te se u cilju započinjanja što ranije prevencije i agresivnijeg liječenja kardiovaskularnih komplikacija savjetuje rutinski određivati Lp(a) (153). Dobro je poznata biokemijska veza između Lp(a) i homocisteina i danas imamo dovoljno podataka koji nam ukazuju da povišena vrijednost u serumu obiju molekula sinergistički povećavaju rizik od koronarne i periferne vaskularne bolesti (140). U osoba s umjerenom i teškom hiperhomocisteinijom čini se opravdanim određivanje Lp(a), jer se povećani kardiovaskularni rizik može značajno smanjiti pravovremenom primjenom folne kiseline koja vrlo učinkovito snižava razinu



homocisteina. Lp(a) se pokazao prediktorom progresije angiografski utvrđenih aterosklerotskih promjena, te se i u ovoj skupini bolesnika savjetuje određivanje Lp(a) (154). Uvrštavanje Lp(a) u standardni set kardiovaskularnih čimbenika rizika savjetuje se u bolesnika koji podvrgnuti različitim edovaskularnim procedurama, radi prevencije restenoze i reokluzije krvnih žila (155). Povećani kardiovaskularni rizik kod žena u menopauzi je posljedica sniženja endogenog estradiola što uzrokuje različite poremećaje lipoproteina, među ostalim i porast Lp(a). Primjena hormonske nadomjesne terapije vrlo uspješno korigira navedeni metabolički poremećaj (156). Stoga se ovoj skupini bolesnika opravdanim čini određivanje Lp(a). Budući da su apo(a) i apo B imunoflorescencijom dokazani u glomerulima raznih oblika glomerulopatije, te kako su u bolesnika s terminalnom bubrežnom bolesti dovedene u vezu prisutne aterosklerotske promjene s niskomolekularnim izofirmama, čini se da je i u bolesnika s bubrežnom bolesti opravdano zbog prognostičke važnosti odrediti uz razinu Lp(a) i njegove izoforme (77,157). S obzirom na povezanost povišene razine Lp(a) i okluzije retinalnih krvnih žila, neki autori smatraju da Lp(a) može biti koristan prognostički marker i potencijalni omogućitelj identifikacije osoba sklonih ovom oštećenju (158).

### **1.2.11. Mjere za snižavanje lipoproteina(a) u serumu**

Uz dilemu kod koga je i kada opravdano određivati Lp(a), mnogo je teži zadatak kojim postupcima snižavati povišene vrijednosti. Neke supstancije koje su pokazale određene učinke u smislu sniženja razine Lp(a), zbog neučinkovitosti, slabije podnošljivosti i neželjenih učinaka nisu prihvaćena kao lijekovi prikladni za sniženje razine Lp(a) u serumu. Za sada nemamo publiciranih podataka o povoljnom učinku sniženja razine Lp(a) na posljedice aterosklerotske bolesti krvnih žila (159). Osim povoljnog učinka hormonske nadomjesne terapije danas još nemamo načina na koji bi se uspješno djelovalo na povišene vrijednosti Lp(a) (81). Razina Lp(a) tijekom života minimalno se mijenja i razmjerno malo na nju mogu utjecati uobičajene dijetne mjere i tjelesna aktivnost (160). Uobičajeni antilipemici kao što su inhibitori HMG-CoA-reduktaze i izmjenjivači iona pokazali su vrlo slab ili nikakava učinak na razini Lp(a) u serumu (161). Budući da molekula apo(a) prekriva

vezno mjesto za LDL receptor što je vjerovatni razlog terapijske neučinkovitosti statina na Lp(a). Pronalazak specifične proteaze koja bi odcijepila ovaj dio molekule Lp(a) u budućnosti može donijeti očekivani terapijski pomak. Određeni radovi upućuju da derivati fibrične kiseline kao što su gembifrozili i bezafibrat mogu dovesti do smanjena razine Lp(a), stoga su potrebna dodatna istraživanja koja bi potvrdila povoljni učinak ovih lijekova na metabolizam Lp(a) (162,163). Iako je nedvojbeno dokazano da standardna hipolipemička terapija značajno smanjuje kardiovaskularni rizik, rutinska primjena tih lijekova u osoba s izolirano povišenim Lp(a) za sada se ne preporučuje.

Primjenom visokih doza derivata i analoga nikotinske kiseline kao što su alfa tokoferol-nikotinat, niceritrol, niacin i N-acetilcistein postignuto je značajno sniženje razine Lp(a) i fibrinogena u serumu, međutim zbog neželjnih popratnih pojava njihova primjena nije prikladna u rutinskom kliničkom radu (164,165,166). Pretpostavlja se da navedene supstancije, zbog svog jakog reduktivnog potencijala, dovode do cijepanja disulfidnih veza unutar samog apo(a) te disulfidnih veza između apo(a) i apo B što rezultira gubitkom integriteta molekule Lp(a). Noviji podaci ukazuju da preparati nikotinske kiseline sa sporim otpuštanjem zbog prihvatljive razine nuspojava, osim što su učinkoviti u liječenju pojedinih oblika hiperlipidemije, pridonose značajnom sniženju Lp(a) (167). Uzimanjem neomicina samog ili u kombinaciji s nikotinskom kiselinom dovela je do sniženja razine Lp(a) u serumu (168). Primjenom posebnih imunoadsorpcijskih metoda LDL-afereza postiže se sniženje razina Lp(a) čak do 57% (169). Taj se učinak zadržava do dva tjedna i identičan je učinku LDL-afereze na razinu LDL kolesterola (170). U nekim *in vitro* i *in vivo* istraživanjima pokazano da kaptopril može u određenim uvjetima dovesti do sniženja Lp(a) u serumu, međutim za potvrdu ovog specifičnog učinka potrebna su daljnja istraživanja (171).

Budući da acetilsalicilna kiselina zbog svojih antiagregacijskih svojstava široko primjenjuje u prevencije i liječenje kardiovaskularnih bolesti, u novije se vrijeme ispituje njezin utjecaj na razinu Lp(a). Pokazano da acetilsalicilna kiselina supresijom sinteze apo(a) u jetrenim stanicama i snižava razina Lp(a) za 15-20% (172). Kako Lp(a) ima antifibrinolitička svojstva, niske doze acetilsalicilne kiseline trebale bi se ordinirati tim osobama u preventivne svrhe.

Uz to danas postoje dokazi da hiperhomocisteinemija povećava aterogenost Lp(a) te se kao dodatna terapija mogu rabiti i vitamini B-skupine koji snižavaju razinu homocisteina (140).

U kliničkom radu danas nam povišena razina ovog lipoproteina pokazuje da je riječ o bolesniku s povišenim kardiovaskularnim rizikom neovisno o tome je li Lp(a) samo marker ili aktivni čimbenik patofiziološkog procesa. Povišena razina Lp(a) dodatno pomiče jezičac na vagi kod donošenja odluke o vremenu započinjanja i agresivnosti liječenja tih bolesnika metodama i lijekovima koji su danas raspoloživi. Uz lijekove koji mogu prevenirati početak aterosklerotskog procesa ili smanjiti aterogenost Lp(a) kao što su niske doze aspirina i vitamin B, potrebno je energično snižavati povišen arterijski tlak, dislipidemiju i hiperglikemiju.

U osoba s izrazitom hiperlipidemijom, hiperhomocisteinemijom i povišenom razinom Lp(a) a koje su refraktorne na standardnu konzervativnu terapiju savjetuje se agresivniji način liječenja poput LDL-afereza (169).

### **1.2.12. Lipoprotein(a) i karotidna ateroskleroza**

Prikazom lumena krvne žile ultrazvučnim sustavom visoke rezolucije, tehnikom B-moda, mogu se jasno razlikovati slojevi krvnih žila. Mjerenje debljine intime-medije (engl. intima-media thickness, IMT) i prikaz plakova zajedničkih karotidnih arterija danas je dobro standardizirana neinvazivna metoda za praćenje ranih stadija ateroskleroze.

Mnoga istraživanja pokazala su značajnu povezanost između karotidne ateroskleroze, mjerene IMT i brojem plakova karotidnih arterija i različitih kardiovaskularnih čimbenika rizike, te incidencije kardiovaskularnih bolesti (173). Veći broj istraživanja učinjenih u osoba bez šećerne bolesti pokazao je značajnu povezanost povišene serumske razine Lp(a) s IMT i brojem plakova karotidnih arterija (174,175,176).

Dosadašnja izvješća o povezanosti Lp(a) i karotidne ateroskleroze u osoba s tipom 2 šećerne bolesti su oskudna, a rezultati su proturječni. Noviji rezultati nekih studija, kao i naše prijašnje istraživanje ukazuju da osobe s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) imaju znatno izraženije aterosklerotske promjene karotidnih arterija (177,178).

Postoji razmjerno mali broj istraživanja koji su pratili utjecaj kardiovaskularnih čimbenika rizika na progresiju IMT karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti. Nedavno su Yamasaki i suradnici pokazali da su pretkazatelji progresije IMT karotidnih arterija u populaciji Japanaca s tipom 2 šećerne bolesti, praćenih tri godine, bili početna vrijednost IMT tih arterija i prosječna vrijednost HbA1c (179).

U literaturi nema objavljenih istraživanja koji prospektivno prate utjecaj povišene razine Lp(a) u serumu na progresiju IMT i na broj plakova karotidnih arterija osoba s tipom 2 šećerne bolesti. Za očekivati je da u osoba s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) dolazi do bržeg razvoja aterosklerotskog plaka, na što ukazuju vlastiti preliminarni rezultati. Posljedično tome za očekivati je veći pobol i smrtnost od kardiovaskularnih bolesti u osoba s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) u serumu.

Iz toga su izvedeni ciljevi ovoga rada.

## **2. CILJEVI I HIPOTEZA RADA**

### **Cilj nam je:**

1. Utvrditi imaju li osobe s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) u serumu značajno izraženiju (veću) progresiju IMT i značajno veći broj plakova karotidnih arterija prema osobama s tipom 2 šećerne bolesti i normalnom razinom Lp(a) u serumu, u razdoblju praćenja tijekom četiri godine.

2. Uz pretpostavku nađene povezanosti, utvrditi imaju li osobe s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) u serumu veći pobol i smrtnost od kardiovaskularnih bolesti (srčani infarkt, moždani udar), prema osobama s tipom 2 šećerne bolesti i normalnom razinom Lp(a) u serumu, u razdoblju praćenja kroz četiri godine.

### **Hipoteza:**

Povišena razina Lp(a) u serumu povezana je s bržim razvojem karotidne ateroskleroze u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

## 2.1. Plan istraživanja

Istraživanje je provedeno u Sveučilišnoj klinici za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac, Dugi dol 4a, u Zagrebu, gdje je i započelo 1. rujna 2000. godine. Tijekom početnog razdoblja uključivanja ispitanika u studiju, koje je trajalo malo više od četiri mjeseca, pregledano je ukupno 180 bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti da bi se obuhvatilo 146 ispitanika koji su u potpunosti zadovoljili kriterije istraživanja. Naime, u istraživanje su uključene osobe s tipom 2 šećerne bolesti oba spola, u rasponu dobi od 40 do 70 godina. Dijagnoza šećerne bolesti postavljena je na temelju dijagnostičkih kriterija Svjetske zdravstvene organizacije (180). Iz istraživanja su isključeni su svi oni bolesnici kod kojih je bolest trajala manje od jedne godine. Detaljnim kliničkim pregledom i anamnezom skupljeni su podaci na temelju kojih su iz istraživanja isključeni svi oni dijabetički bolesnici koji su preboljeli moždani udar, infarkt miokarda ili su bolovali od neke teške kronične ili zloćudne bolesti. Sa svim preostalim ispitanicima koji su zadovoljili navedene kriterije obavljen je razgovor prilikom kojega su detaljno upoznati s planom istraživanja. Ispitanici koji su pristali na sudjelovanje potpisivanjem pismenog pristanka, uključeni su odmah u istraživanje i odmah svrstani u jednu od dvije stratifikacijske skupina temeljem izmjerene razine Lp(a) u serumu. Uzimajući u obzir rezultate velikog broja objavljenih znanstvenih istraživanja o ulozi Lp(a) u razvoju ateroskleroze postavila se tzv. granična vrijednost od 30 mg/dl iznad koje je rizik razvoja kardiovaskularnih bolesti povećan (181).

Kod svakog ispitanika u trenutku uključivanja u studiju izmjerena je, uz određivanje Lp(a) u serumu, IMT karotidnih arterija i pobrojani su plakovi karotidnih arterija. Na IMT i broj plakova karotidnih arterija mogu, osim Lp(a), utjecati i neki drugi kardiovaskularni čimbenici rizika, kao što su dob, spol, reguliranost šećerne bolesti, razina lipidi u serumu, hipertenzija, prekomjerna tjelesna masa, pušenje i mikroalbuminurija. Stoga su vrijednosti tih pokazatelja određene svim bolesnicima na početku istraživanja, te su i oni istodobno uključeni u statističku obradu podataka.

Tijekom razdoblja praćenja, prilikom redovitih godišnjih kontrolnih pregleda, pažljivom anamnezom, kliničkim pregledom i uvidom u medicinsku

dokumentaciju registrirani su svi oni bolesnici koji su prebolili moždani udar ili infarkt miokarda. Ukoliko su bolesnici tijekom praćenja umrli, podatke o uzroku smrti dobili smo iz medicinske dokumentacije koja je zatražena od najbližih članova obitelji, nadležnog obiteljskog liječnika ili, ako je bolesnik umro u bolnici, dokumenti su dobavljeni iz medicinske arhive navedene medicinske ustanove u kojoj je bolesnik umro. Svi su bolesnici, tijekom perioda praćenja, dobivali odgovarajuće lijekove za liječenje šećerne bolesti, hipertenzije i hiperlipidemije.

Na kraju razdoblja praćenje od četiri godine  $\pm$  jedan mjesec, točno od datuma uključivanja u istraživanje svakog pojedinca posebno, učinjeno je kontrolno mjerenje IMT i pobrojani plakovi ekstrakranijalnih karotidnih arterija. Ovo prospektivno istraživanje završeno je u zadnjem kvartalu 2004. godine.

### **3. ISPITANICI I METODE**

#### **3.1. Ispitanici**

Istraživanjem je obuhvaćeno 146 bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti koji su ispunjavali ranije navedene kriterije. Prvu skupinu sačinjavalo je prvih 86 bolesnika s razinom Lp(a) >30 mg/dl, a drugu prvih 60 bolesnika s razinom Lp(a) ≤30 mg/dl u serumu.

Kod svakog ispitanika na početku istraživanja bili su određeni slijedeći kliničko-laboratorijski pregledi:

- anamneza i klinički status,
- izmjeren IMT i pobrojani plakovi karotidnih arterija,
- nakon 12-satnog prekonoćnog gladovanja uzeta je krv iz prekubitalne vene za laboratorijske pretrage: Lp(a), ukupni kolesterol, HDL, LDL, trigliceridi, HbA1c,
- određen pušački status,
- izmjeren krvni tlak,
- određen indeks tjelesne mase i omjer opsega stuka i bokova,
- sakupljen 24-satni urin za određivanje albumina u 24-satnoj mokraći.

Na kraju istraživanja kod svakog ispitanika ponovno je izmjeren IMT i pobrojan broj plakova karotidnih arterija.

U periodu praćenja od četiri godine od 146 bolesnika uključenih u istraživanje umrlo je 8, tako da je kontrolno mjerenje IMT i brojanje plakova učinjeno u 138 bolesnika.

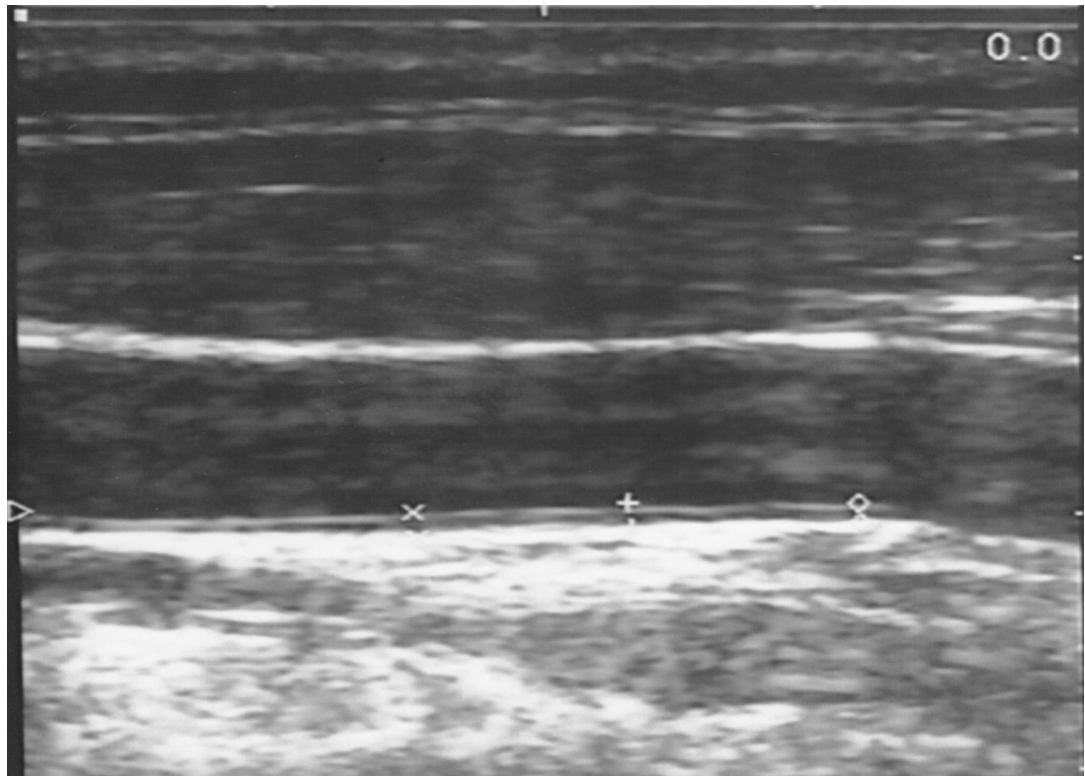
#### **3.2. Metode**

##### **3.2.1. Debljina intime-medije i broj plakova karotidnih arterija**

IMT i broj plakova karotidnih arterija mjerili smo ultrazvučnim sustavom visoke rezolucije (Panther 2002 B&M Medical) s elektroničkom linearnom



sondom frekvencije 8,0 MHz. Ekstrakranijalne karotidne arterije snimali smo obostrano na vratu u uzdužnim (prednja-kosa, stražnja-kosa i lateralna) i poprečnoj projekciji, prema dosad standardiziranoj metodi po Pignoliu i sur. (182,183). Suvremenim ultrazvučnim uređajima sa sondama frekvencije 8 ili više MHz u mogućnosti smo razlikovati granicu između žilnog lumena i intime, te između medije i adventicije. Debljina intime-medije, kako je definirao Pignoli i sur., je udaljenost između vodećih rubova dviju ehogenih linija. Karakterističan uzorak IMT karotidnih arterija na dvodimenzionalnom prikazu vidi se kao dvije paralelne ehogene linije odvojene s hipoehogenim prostorom (slika 6.). Prvu liniju čini granica lumena krvne žile i intime, a drugu granica medije i tunike adventicije.



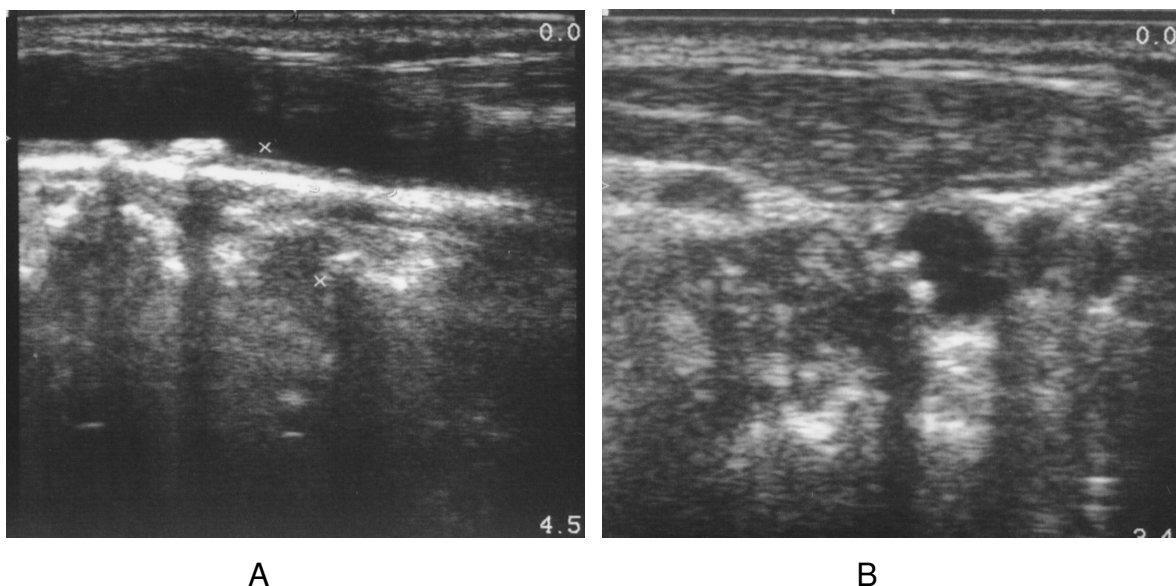
Slika 6. Ultrazvučni prikaz debljine intime-medije zajedničke karotidne arterije u uzdužnom presjeku

Snimanje karotidnih arterija učinili smo obostrano u tri različita uzdužna prikaza (prednji kosi, lateralni i stražnji kosi prikaz) i u poprečnom prikazu. Prvo, ispitanik je sjedio s glavom uspravno, a zajednička karotidna arterija se

tada prikaže u prednjem kosom prikazu. Nakon toga naginjanjem sonde zajednička karotidna arterija i unutarnja karotidna arterija prikazu se u lateralnoj projekciji. Naginjanjem glave lagano naprijed i na ispitivanu stranu prikazu se zajednička karotidna arterija i unutrašnja karotidna arterija u stražnjoj kosoj projekciji. I na kraju, ponovnim podizanjem glave, zajednička unutrašnja i vanjska karotidna arterija prikazu se u poprečnoj projekciji. Ovim projekcijama prikazali smo zajedničku karotidnu arteriju, karotidni bulbus i dijelovi unutrašnje i vanjske karotidne arterije. Kada se postigao najbolji dvodimenzionalni prikaz, slika na ekranu se zamrzne na kraju dijastole, da se smanji varijabilnost tijekom kardijalnog ciklusa. Sve smo prikaze fotografirali ili zabilježili na videozapis.

U svakom uzdužnom prikazu učinili smo jedno mjerenje i to na mjestu najvećeg difuznog zadebljanja, te jedan centimetar iznad i ispod te točke. Kod svakog ispitanika učinili smo 12 mjerenja u uzdužnim projekcijama (svaka strana šest mjerenja na bližoj i daljoj stijenci karotidne arterije). Najveća izmjerena srednja vrijednost od svih projekcija s obje strane vrata, uzeta je kao mjera IMT karotidnih arterija.

Salonen i sur. definirali su plak kao jasnu površinu s mineralizacijom ili fokalnim izbočenjem u lumen krvne žile (184).



Slika 7 A i 7 B. Ultrazvučni prikaz plaka karotidnih arterija u uzdužnom (A) i poprečnom (B) presjeku

Ovapnjenja se prikazuju ultrazvukom kao hiperehogena područja s distalnom akustičkom muklinom. U području karotidnih arterija prikazali smo i izbrojili aterosklerotske plakove. Karakterističan prikaz plaka karotidnih arterija u uzdužnoj i poprečnoj projekciji vidi se na slikama 7 A i 7 B.

Reproducibilnost mjerenja IMT procijenili smo isti ili drugi dan, ponovnim mjerenjem IMT kod 35 ispitanika od strane drugog ispitivača na istom aparatu. Nijedan od ispitivača nije znao vrijednosti Lp(a) na osnovi čega su ispitanici podijeljeni u skupine, niti vrijednosti IMT izmjerene od drugog ispitivača.

### **3.2.2. Koncentracija lipoproteina(a) u serumu**

Lp(a) u serumu odredili smo imunoturbidimetrijskom metodom, pomoću reagensa koji sadrži poliklonska protutjela protiv Lp(a) (Unimate Lp(a), Hoffman-LeRoche, Basel, Švicarska). Postupak je kalibriran komercijalnim kalibratorom (Immuno AG, Beč, Austrija). Sva su mjerenja obavljena na analizatoru Olympus AU600 (Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) (185). Referentno područje (M/Ž): ≤30 mg/dl.

### **3.2.3. Mjerenje lipida u serumu**

Ukupni kolesterol u serumu odredili smo standardnim enzimatskim metodama na analizatoru Olympus (Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) (186).

Za direktno određivanje ukupnog kolesterola rabili smo TRACE reagensiju za kolesterol.

Rezultati su očitavani automatski na samom instrumentu kao:

$$\text{Ukupni kolesterol (mmol/L)} = \frac{\text{apsorbancija uzorka}}{\text{apsorbancija kalibratora}} \times \text{vrijednost kalibratora}$$

HDL-kolesterol u serumu mjerili smo direktno, homogenim enzimskim postupkom, komercijalnim reagensima (Olympus Diagnostica, Co. Clare, Irska) na analizatoru Olympus AU 600 (Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) (187).

LDL-kolesterol u serumu određivli smo računski, korištenjem formule po Friedwaldu (188).

$$\text{LDL} = \text{ukupni kolesterol} - \text{HDL kolesterol} - \frac{\text{trigliceridi}}{2,2}$$

Trigliceride smo određivli direktno standardnim enzimatskim metodama na analizatoru Olympus (Olympus Optical Co., Tokyo, Japan), korištenjem TRACE reagensije za trigliceride (186).

#### **3.2.4. Određivanje hemoglobina A1c**

Hemoglobin A1c u lizatu eritrocita mjerili smo automatiziranim imunoturbidimetrijskim postupkom na analizatoru Olympus AU600 (Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) (189).

#### **3.2.5. Mjerenje albumina u 24-satnom urinu**

Koncentraciju albumina u 24-satnom urinu mjerili smo imunoturbidimetrijski, komercijalnim reagensima (Microalbumin test, Olympus Diagnostica, Co. Clare, Irska) na analizatoru Olympus AU600 (Olympus Optical Co., Tokyo, Japan). Za kalibraciju se rabilo komercijalni kalibrator (Microalbumin Calibrator, Olympus Diagnostica, Co. Clare, Irska), standardiziran prema primarnom standardu albumina (190).  
Referentno područje (M/Ž) < 30 mg/24h.

#### **3.2.6. Mjerenje krvnog tlaka**

Krvni smo tlak mjerili živinim sfigomanometrom. Nakon pet minuta mirnog ležanja, učinjena su tri mjerenja u sjedećem položaju na svakoj ruci. Srednja vrijednost uzeta je kao mjera krvnog tlaka. Prema najnovijim američkim i europskim smjernicama hipertenzijom se smatra vrijednost tlaka > 140/80 mmHg u općoj populaciji, a u osoba sa šećernom bolesti vrijednosti > 130/80 mmHg (191,192).

### **3.2.7. Indeks tjelesne mase**

Najčešće rabljeno antropometrijsko mjerilo za izračunavanje stanja uhranjenosti jest indeks tjelesne mase (engl. Body Mass Index, BMI). To je omjer tjelesne mase i tjelesne visine. Izračunava se tako da se tjelesna masa u kilogramima podijeli s kvadratom tjelesne visine u metrima ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Normalna je uhranjenost pri BMI 18,5-24,9, prekomjerna tjelesna masa između 25,0-29,9, pretilost kod BMI  $>30,0$ . BMI izražava samo opće stanje uhranjenosti a ne način raspodjele tjelesne masti (193).

### **3.2.8. Omjer opsega struka i bokova**

Odgovorajuća klinička metoda koja se u posljednjih desetak godina rabi za utvrđivanje abdominalne pretilosti jest određivanje omjera opsega struka i bokova (engl. Waist to Hip Ratio, WHR). Omjer opsega koji je za muškarce veći od 1, a u žene veći od 0,85 izražava abdominalnu (androidnu ili mušku) pretilost i upozorava na visok rizik za zdravlje čak kod samo blago prevelike tjelesne mase. Opseg pojasa mjeri se u srednjoj točki između donjeg ruba rebranog luka i gornjeg dijela zdjelične kosti. Opseg bokova uzima se najveći opseg u području bokova (193).

### **3.2.9. Podaci o pobolu i smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti**

Podatke o kardiovaskularnom pobolu (srčani infarkti i moždani udar) dobiveni su iz medicinske dokumentacije ispitanika. Podatke o smrtnosti od moždanog udara i infarkta miokarda dobili iz medicinske dokumentacije koja je zatražena od najbližih članova obitelji umrlog bolesnika, nadležnog obiteljskog liječnika ili arhiva medicinskih ustanova u kojima su bolesnici umrli.

### 3.2.10. Statistička analiza podataka

Vrijednosti brožanih varijabla su u istraživanju prikazane aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom za one pokazatelje u kojih smo prethodno Kolmogorov-Smirnovljevim testom utvrdili normalnost raspodjele. Centralna tendencija svih ostalih varijabli prikazana je medijanom i rasponom (minimumom i maksimumom) mjerenja. Usporedba vrijednosti između dviju skupina testirana je t-testom ili Mann-Whitneyevim neparametrijskim testom, ovisno o normalnosti distribucije varijabli. Vrijednosti ponavljanih mjerenja uspoređene su parnim t-testom.

Raspodjele kategoričkih pokazatelja prikazane su apsolutnim (N) i relativnim (%) frekvencijama, a međusobno su uspoređene hi-kvadrat testom, tj. Fisherovim egzaktnim testom kada se prethodni zbog ograničenja nije mogao primijeniti.

Zavisnost više pokazatelja na moguću promjenu vrijednosti brožanog pokazatelja koji je bio mjeran dvaput (IMT i broj plakova) ispitana je analizom varijance za ponavljana mjerenja (engl. repeated measures ANOVA).

Da bismo istodobno ispitali razliku ponavljanih mjerenja IMT i broja plakova unutar skupina ispitanika s niskim i visokim vrijednostima  $L_p(a)$ , te utjecaj na tu razliku onih varijabla koje se statistički značajno razlikuju u vrijednostima u ispitanika s niskim i visokim vrijednostima  $L_p(a)$ , u statističkoj smo obradbi upotrijebili i tzv. generalni linearni model multivarijatne analize varijance za ponavljana mjerenja (engl. General Linear Model, GLM Repeated Measured ANOVA). Pritom su faktori koji mogu utjecati na varijable s ponavljanim mjerenjima (IMT i broj plakova) razmatrani kao faktori koji se razlikuju unutar ispitanika (engl. within-subject factors), dok su svi ostali razmatrani kao faktori koji populaciju dijele ili je mogu dijeliti u skupine (engl. between-subjects factor).

Reproducibilnost mjerenja ispitana je mjerenjem IMT u 35 istih ispitanika od strane dvaju nezavisnih istraživača. Prvi je istraživač u skupini izmjerio prosječnu debljinu IMT  $1,13 \pm 0,19$  mm (granice 95% pouzdanosti aritmetičke sredine 1,06-1,19 mm), a drugi  $1,12 \pm 0,17$  mm (granice 1,07-1,18 mm), što nije statistički značajno različito (parni t-test,  $t = -0,48$ ,  $df = 34$ ,  $p = 0,633$ ).

## 4. REZULTATI

### 4.1. Spolna struktura ispitivanih skupina bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

Od ukupno 146 bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti uključenih u istraživanje, 60 bolesnika je imalo serumsku razinu Lp(a)  $\leq$  30 mg/dl, a 86 bolesnika imali su razinu Lp(a)  $>$  30 mg/dl. Kao što je vidljivo iz tablice 1., ispitivane se skupine nisu bitno razlikovale s obzirom na spol. U obje ispitivane skupine i sveukupno bilo je nešto više muškaraca (64,4%) nego žena (35,6%), ali razlika nije bila statistički značajna ( $p=0,202$ ).

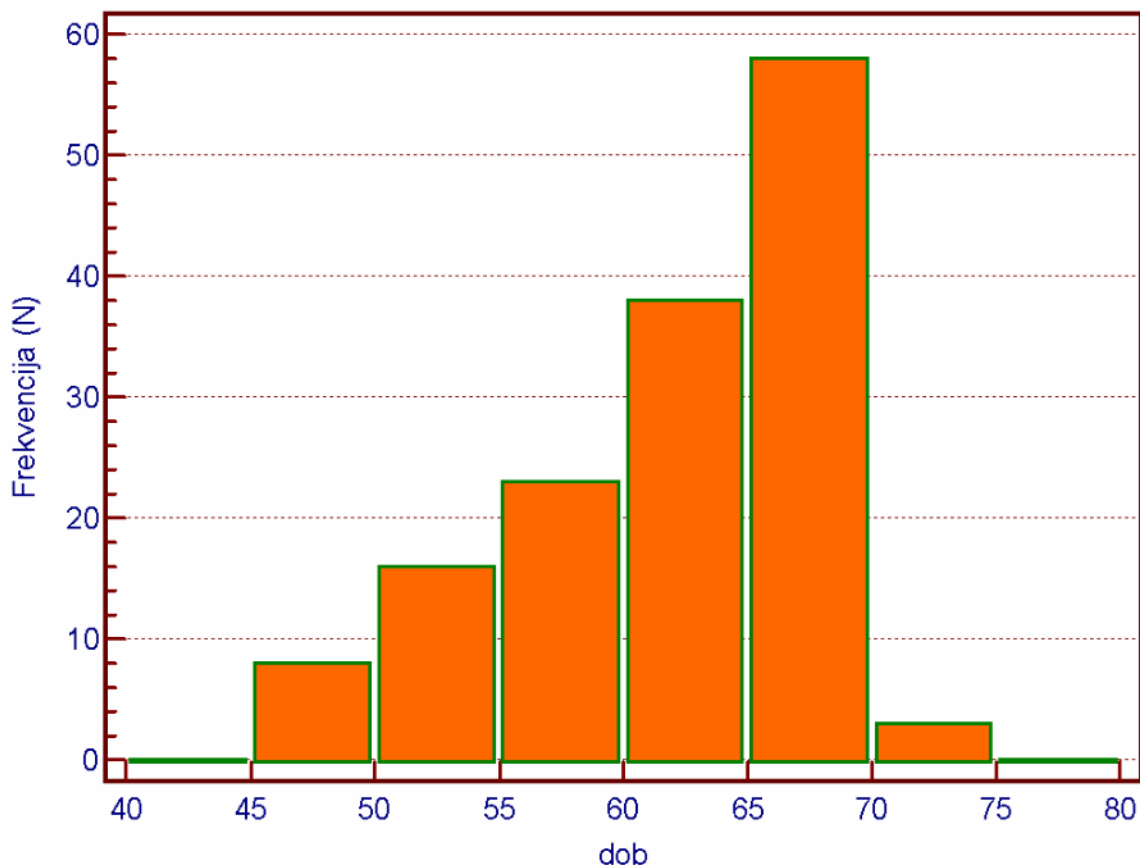
Tablica 3. Ispitivane skupine bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti s obzirom na spol

—		Lipoprotein (a) (mg/dl)		Ukupno N (%)	Statistika <sup>a</sup>
		$\leq$ 30	$>$ 30		
SPOL N (%)	muški	35 (24,0)	59 (40,4)	94 (64,4)	$\chi^2 = 1,63$ $p = 0,202$
	žene	25 (17,1)	27 (18,5)	52 (35,6)	
Ukupno N (%)		60 (41,1)	86 (58,9)	146 (100,0)	

<sup>a</sup> Hi-kvadrat test

### 4.2. Dobna struktura ispitivane skupine bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

Kada se gleda dobna struktura ispitivane skupine bolesnika, onda je iz slike 8. vidljivo da je najveći udio bolesnika bio u dobi između 60 i 70 godina, dok je manji udio bolesnika bio u dobi između 45 i 60 godina. Neznatan broj ispitanika bio je stariji od 70 godina.



Slika 8. Dobna raspodjela ispitivane skupine bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

#### 4.3. Osnovne kliničke oznake ispitivanih skupina bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

U tablici 4. vidljivo je da se ispitivane skupine bolesnika nisu značajno razlikovale po dobi, tjelesnoj masi iskazanoj kao BMI i WHR, vrijednosti albumina u 24-satnom urinu, vrijednosti ukupnog i LDL-kolesterola, reguliranosti glikemije iskazanoj razinom HbA1c, te udjelu hipertenzije i pušača. Za sve njih nije dokazana statistički značajna razlika ( $p > 0,05$ ). Serumna razina HDL kolesterola u skupini bolesnika s razinom Lp(a)  $\leq 30$  mg/dl iznosila je  $1,4 \pm 0,8$  mmol/l, što se značajno razlikovalo od razine HDL kolesterola u skupini bolesnika s razinom Lp(a)  $> 30$  mg/dl koja je iznosila  $1,2 \pm 0,3$  mmol/l ( $p = 0,007$ ). Ispitivane skupine bolesnika razlikovale su se u razini triglicerida u serumu. Skupina bolesnika s visokom vrijednostima Lp(a) imala je značajno višu vrijednost triglicerida i iznosila je  $2,5 \pm 1,5$  mmol/l, dok je u



Tablica 4. Kliničke oznake ispitivanih skupina bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

Parametri	Lipoprotein (a) (mg/dl)		Statistika	
	≤ 30 (N = 60)	> 30 (N = 86)	t/x <sup>2</sup>	p
Dob (godine) <sup>a</sup>	63 (45-69)	64 (46-70)	-0,35	0,730
Indeks tjelesne mase (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	27,5 ± 3,3	27,7 ± 3,0	-0,43	0,668
Povišen omjer struk/bokovi N (%) <sup>c</sup>	28 (19,2)	51 (35,9)	2,27	0,132
Albumini u 24 h urinu (mg/24/h) <sup>b</sup>	35,6 ± 56,9	56,5 ± 86,3	-1,64	0,103
Ukupni kolesterol (mmol/l) <sup>b</sup>	5,7 ± 1,0	5,8 ± 1,2	-0,83	0,41
LDL-kolesterol (mmol/l) <sup>b</sup>	3,5 ± 0,9	3,6 ± 1,1	-0,44	0,659
<b>HDL-kolesterol (mmo/l)<sup>b</sup></b>	<b>1,4 ± 0,4</b>	<b>1,2 ± 0,3</b>	<b>2,63</b>	<b>0,007</b>
<b>Trigliceridi (mmo/l)<sup>b</sup></b>	<b>1,7 ± 0,8</b>	<b>2,5 ± 1,5</b>	<b>-3,86</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Hemoglobin A1c (%) <sup>b</sup>	7,9 ± 1,4	7,9 ± 1,1	-0,18	0,859
Povišen krvni tlak N (%) <sup>c</sup>	39 (26,7)	67 (45,9)	2,96	0,085
Pušenje N (%) <sup>c</sup>	10(6,9)	19 (13,0)	0,65	0,419

<sup>a</sup> Medijan (raspon), uspoređeno Mann-Whitneyevim testom

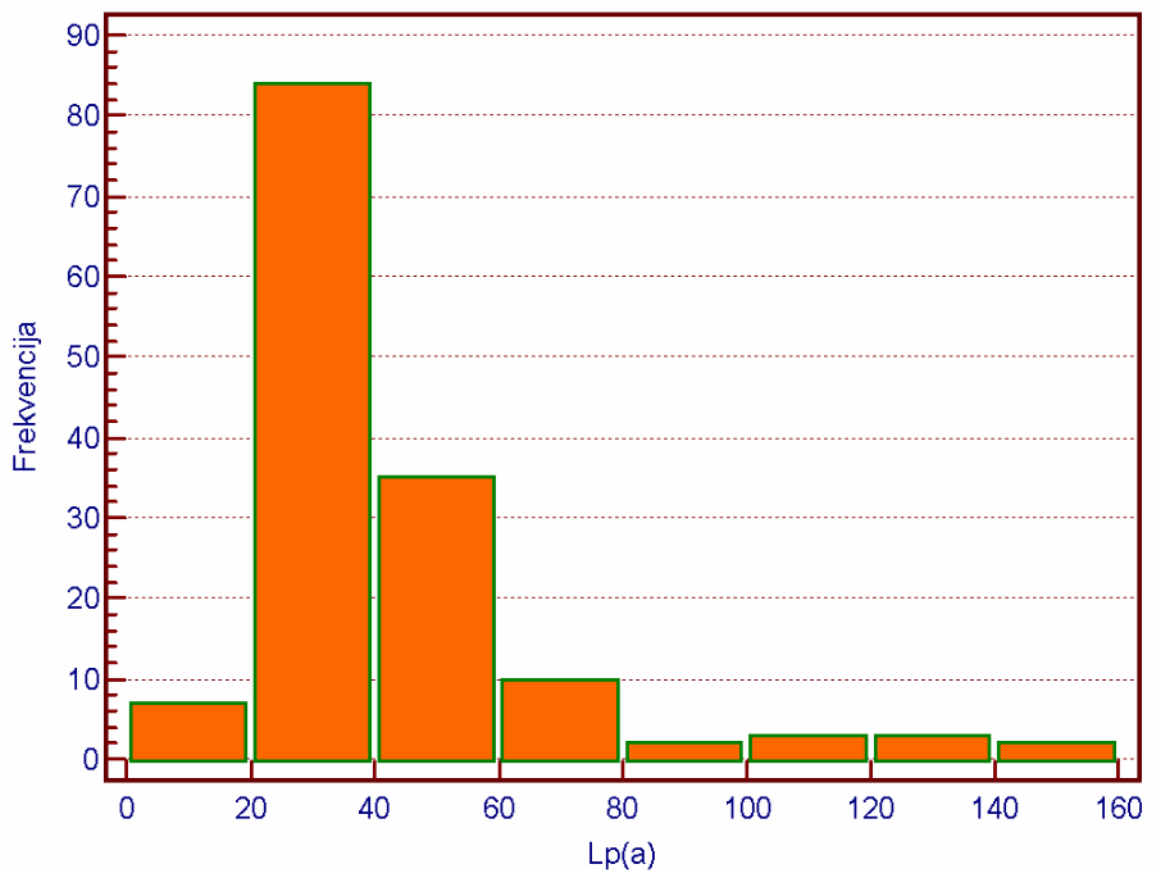
<sup>b</sup> Aritmetička sredina ± standardna devijacija, uspoređeno t-testom

<sup>c</sup> Frekvencije, uspoređeno hi-kvadrat testom

skupini s niskom vrijednosti Lp(a) u serumu prosječna vrijednost triglicerida iznosila  $1,7 \pm 0,8$  mmol/l ( $p < 0,001$ ).

#### 4.4. Krivulja raspodjele Lp(a) u ispitivanoj skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

Slika 9. prikazuje krivulju raspodjele Lp(a) u ispitivanoj skupini od 146 bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti. Krivulja ima karakterističan asimetričan oblik prema većim vrijednostima (kosa u desno), što je karakterističan oblik krivulje za bijelačku populaciju.



Slika 9. Krivulja raspodjele Lp(a) u serumu u ispitivanoj skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

#### 4.5. Porast debljine intime-medije u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u periodu praćenja od četiri godine

U ispitivanim skupinama bolesnika s niskim i visokim vrijednostima Lp(a) nisu nađene statistički značajne razlike u IMT na početku istraživanja ( $1,03 \pm 0,15$ ) vs: ( $1,07 \pm 0,18$ ); ( $p=0,112$ ). Nakon četiri godine praćenja u skupini bolesnika sa serumskom razinom Lp(a)  $<30$  mg/dl došlo je do povećanja IMT prema početnim vrijednostima tj. s vrijednosti IMT  $1,03 \pm 0,15$  mm na vrijednost  $1,15 \pm 0,17$  mm, što je statistički značajno ( $p<0,001$ ).

Tablica 5. Debljina intime-medije na početku i nakon četiri godine u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

Debljina intime-medije (mm)	Lipoprotein (a) (mg/dl)		Statistika <sup>b</sup>	
	$\leq 30$ (N = 58)	$> 30$ (N = 80)	t	p
Na početku <sup>a</sup>	$1,03 \pm 0,15$	$1,07 \pm 0,18$	-1,6	0,112
Nakon 4 godine <sup>a</sup>	<b><math>1,15 \pm 0,17</math></b>	<b><math>1,24 \pm 0,22</math></b>	<b>-2,82</b>	<b>0,005</b>
Statistika <sup>c</sup>	t	<b>-9,26</b>	<b>-9,82</b>	—
	p	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	

<sup>a</sup> Svi podaci prikazani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom

<sup>b</sup> Neparni t-test

<sup>c</sup> Parni t-test

Također u skupini bolesnika s povišenom razinom Lp(a) u serumu prati se značajna porast IMT tj. s vrijednosti od  $1,07 \pm 0,18$  mm na vrijednost od  $1,24 \pm 0,22$  mm ( $p<0,001$ ). Iako se ispitivane skupine na početku istraživanja nisu značajno razlikovale u IMT, nakon četiri godine IMT u bolesnika razinom Lp(a)  $>30$  mg/dl iznosila je  $1,24 \pm 0,22$  mm i bila je značajno viša od IMT

bolesnika s razinom Lp(a)  $\leq 30$  mg/dl koja je iznosila  $1,15 \pm 0,17$  mm ( $p=0,005$ ). Rezultati su prikazani u tablici 5.

Prosječno povećanje IMT u skupini s niskom razinom Lp(a) u serumu iznosilo je 0,12 mm (0,030 mm/god.); (prosječna debljina intime medije na kraju istraživanja minus prosječna debljina intime-medije na početku istraživanja;  $1,15 - 1,03=0,12$ ), dok je prosječno povećanje IMT u skupini s visokim Lp(a) iznosilo 0,17 (0,043 mm/god.); (prosječna debljina intime medije na kraju istraživanja minus prosječna debljina intime-medije na početku istraživanja;  $1,24 - 1,07=0,17$ ). Podaci nisu pokazani tablično.

#### **4.6. Multivarijatna analiza ponavljanih mjerenja debljine intime-medije u ovisnosti o varijablama koje se značajno razlikuju u ispitivanim skupinama prikazane generalnim linearnim modelom analize varijance za ponavljana mjerenja**

U tablici 6. prikazana je multivarijatna analiza faktora koji su prema podacima u tablici 4. i 5. međusobno povezani. Iz tablice 6. slijedi da je IMT varijabla koja se mijenja u prvom i drugom mjerenju ( $p=0,004$ ) a da na tu promjenu utječe samo razina Lp(a) ( $p=0,018$ ). Promjena IMT na početku i na kraju istraživanja ne ovisi o razini triglicerida ( $p=0,661$ ) i HDL-kolesterola ( $p=0,797$ ). Nezavisno od ponavljanih mjerenja vrijednost IMT ovisi jedino o razini Lp(a) ( $p=0,014$ ), a ne ovisi o razini triglicerida ( $p=0,361$ ) i razini HDL-kolesterola ( $p=0,764$ ).

Tablica 6. Statističke vrijednosti multivarijatne analize ponavljanih mjerenja debljine intime-medije u ovisnosti o vrijednostima lipoproteina (a), triglicerida i HDL kolesterola prikazane generalnim linearnim modelom analize varijance za ponavljana mjerenja

Pokazatelj	Faktori utjecaja			
	faktori koji se razlikuju unutar ispitanika (ovise o IMT)		faktori koji populaciju dijele na skupine (ne ovise o IMT)	
	F	p	F	p
Debljina intime medije	<b>8,46</b>	<b>0,004</b>	-	-
Lipoprotein (a) (skupine < i ≥ 30 mg/dL)	<b>5,72</b>	<b>0,018</b>	<b>6,26</b>	<b>0,014</b>
Trigliceridi	0,19	0,661	0,84	0,361
HDL kolesterol	0,09	0,767	0,09	0,764

#### 4.7. Porast broja plakova u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u periodu praćenja od četiri godine

U tablici 7. prikazan je broj plakova medijanom i rasponom mjerenja u ispitivanim skupinama na početku istraživanja i na kraju nakon četiri godine praćenja. Broj plakova na početku istraživanja nije se bitno razlikovao među ispitivanim skupinama ( $p=0,276$ ), a isto tako niti na kraju istraživanja ( $p=0,355$ ). U periodu praćenja od četiri godine prati se signifikantno povećanje broja plakova u skupini s niskom razinom Lp(a) od prosječno jednog (raspon 0-6) na prosječno jedan (raspon 0-8); ( $p<0,001$ ), kao i u skupini s visokom razinom Lp(a) gdje se prati porast broja plakova s prosječno jednoga (raspon 0-8) na prosječno dva (raspon 0-8), što je statistički značajno ( $p<0,001$ ).

Tablica 7. Broj plakova na početku i nakon četiri godine u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

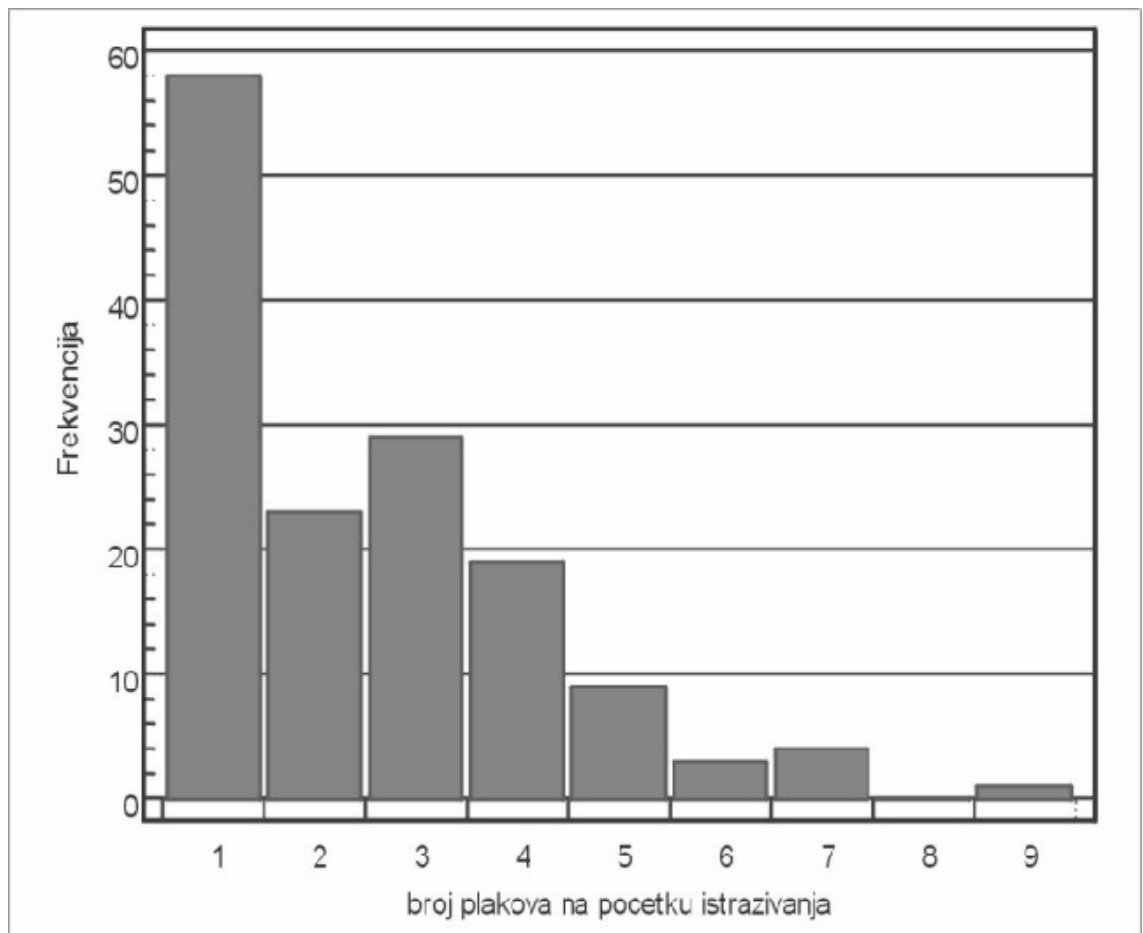
Broj plakova (N)	Lipoprotein (a) (mg/dl)		Statistika <sup>b</sup>	
	≤ 30 (N =58)	> 30 (N=80)	t	p
Na početku <sup>a</sup>	<b>1 (0 - 6)</b>	<b>1 (0 - 8)</b>	-1,09	0,276
Nakon 4 godine <sup>a</sup>	<b>1 (0 - 8)</b>	<b>2 (0 - 8)</b>	-9,3	0,355
Statistika <sup>c</sup>	t	<b>-4,15</b>	<b>-5,69</b>	—
	p	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	

<sup>a</sup> Svi podaci prikazani medijanom i rasponom mjerenja

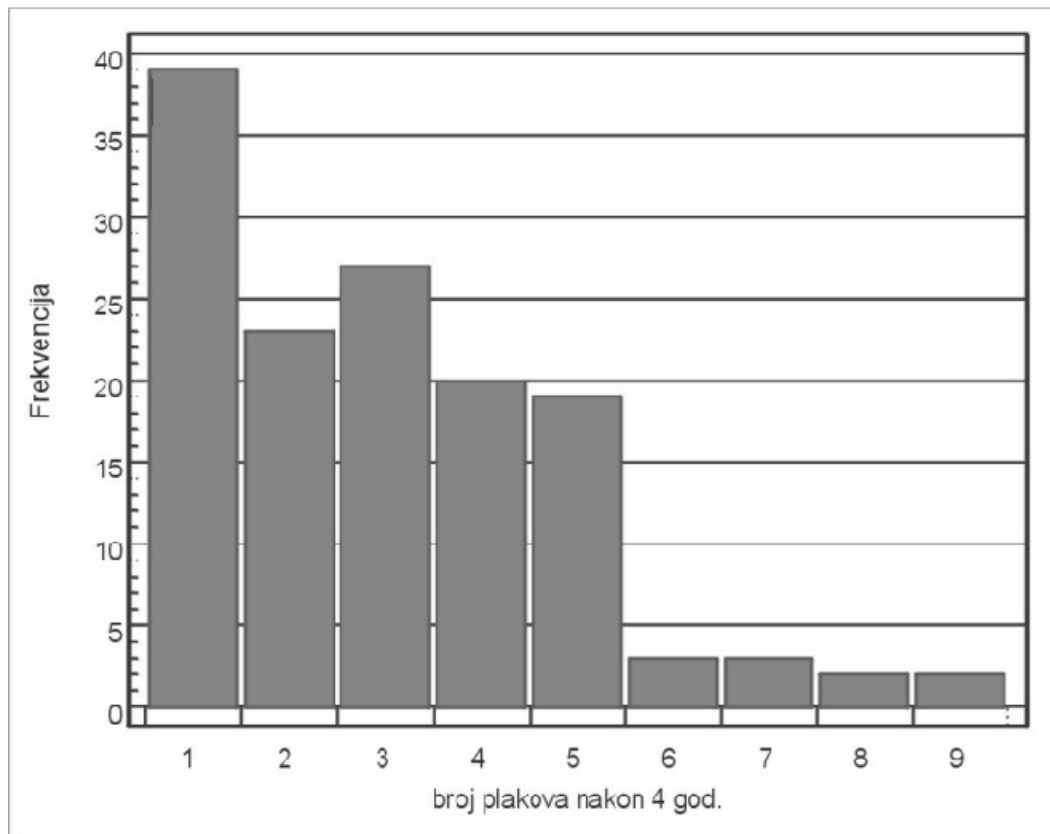
<sup>b</sup> Neparni t-test

<sup>c</sup> Parni t-test

U slikama 10. i 11. još je bolje vidljiva razlika u broju plakova na početku i na kraju istraživanja nakon četiri godine u ispitivanoj skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti. U slici 10. vidi se da je na početku istraživanja najveći udio bolesnika imao jedan plak, dok je nešto manji broj ispitanika imao dva do četiri plaka, a neznatan je broj bolesnika imao više od četiri plaka. Nakon četiri godine prati se smanjenje udjela bolesnika s jednim plakom, uz značajan porast udjela bolesnika koji imaju dva do pet plakova (slika 11.).



Slika 10. Raspodjela bolesnika prema broju plakova na početku istraživanja u ispitivanoj skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti



Slika 11. Raspodjela bolesnika prema broju plakova na kraju istraživanja u ispitivanoj skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

#### **4.8. Multivarijatna analiza ponavljanih mjerenja broja plakova u ovisnosti o varijablama koje se značajno razlikuju u ispitivanim skupinama prikazane generalnim linearnim modelom analize varijance za ponavljana mjerenja**

U tablici 8. prikazana je multivarijatna analiza faktora koji su prema podacima u tablici 4. i 7. međusobno povezani. Iz tablice 8. slijedi da je broj plakova varijabla koja se mijenja u prvom i drugom mjerenju ( $p=0,011$ ). Promjena broja plakova na početku i na kraju istraživanja ne ovisi o razini Lp (a) ( $p=0,937$ ), triglicerida ( $p=0,434$ ) i razini HDL-kolesterola ( $p=0,275$ ). Nezavisno od ponavljanih mjerenja broj plakova ovisi o razini Lp(a) ( $p=0,047$ ) i razini triglicerida ( $p<0,001$ ) i ne ovisi o razini HDL-kolesterola ( $p=0,257$ ).



Tablica 8. Statističke vrijednosti multivarijatne analize ponavljanih mjerenja broja plakova u ovisnosti o vrijednostima lipoproteina (a), triglicerida i HDL kolesterola prikazane generalnim linearnim modelom analize varijance za ponavljana mjerenja

Pokazatelj	Faktori utjecaja			
	faktori koji se razlikuju unutar ispitanika (ovise o broju plakova)		faktor koji populaciju dijele na skupine (ne ovise o broju plakova)	
	F	p	F	p
Broj plakova	<b>6,66</b>	<b>0,011</b>	-	-
Lipoprotein(a) (skupine < i ≥ 30 mg/dL)	0,007	0,937	<b>4,03</b>	<b>0,047</b>
Trigliceridi	0,62	0,434	<b>13,60</b>	<b>&lt;0,001</b>
HDL kolesterol	1,12	0,275	1,29	0,257

#### 4.9. Kardiovaskularni pobol i smrtnost u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u periodu praćenja od četiri godine

U tablici 9. prikazani su kardiovaskularni pobol i smrtnost u skupinama s niskim i visokim serumskim vrijednostima Lp(a). U skupini ispitanika sa serumskom razinom Lp(a) > 30 mg/dl oboljelih od infarkta miokarda bilo je više (2,7%) prema skupini sa serumskom razinom Lp(a) ≤ 30 mg/dl (0,7%), no razlika nije bila statistički značajna. (p=0,649).

Tablica 9. Preboljeli infarkt miokarda, moždani udar, kardiovaskularna smrt i kombinirani ishodi u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti

Nepovoljni ishodi N (%)		Lipoprotein (a) (mg/dl)		Statistika <sup>a</sup>
		≤ 30 N=60	> 30 N =86	p
Infarkt miokarda N (%)	ne	59 (40,4)	82 (56,2)	0,649
	da	1 (0,7)	4 (2,7)	
Moždani udar N (%)	ne	59 (40,4)	85 (98,6)	1,000
	da	1 (0,7)	1 (0,7)	
KV smrt <sup>b</sup> (N%)	ne	58 (39,7)	80 (94,5)	0,471
	da	2 (1,4)	6 (5,5)	
Kombinirani ishod <sup>c</sup> N (%)	ne	56 (38,4)	75 (51,49)	0,296
	da	4 (2,7)	11 (10,2)	

<sup>a</sup> Fisherov egzaktni test

<sup>b</sup> KV (kardiovaskularna) smrt - (umrli od moždanog udara i srčanog infarkta)

<sup>c</sup> Kombinirani ishod - (infarkt miokarda + moždani udar + kardiovaskularna smrt)

Pojava moždanog udara nije značajno različita u ispitivanim skupinama (p= 1,000).

Postotak umrlih od kardiovaskularnih događaja (smrt od moždanog udara i infarkta miokarda) nije se značajno razlikovao u skupini sa serumskom razinom Lp(a) ≤30 mg/dl prema skupini sa serumskom razinom Lp(a) >30 mg/dl (p=0,471).

S obzirom na mali postotak kardiovaskularnih događaja u ispitivanom periodu u četiri godine, usporedili smo postotak kombiniranog ishoda tj. zbroj

infarkta miokarda, moždanih udara i kardiovaskularne smrti u ispitivanim skupinama. Postotak kombiniranog ishoda bio je veći (10,2%) u skupini s razinom Lp(a) > 30 mg/dl prema skupini sa Lp(a) ≤ 30 mg/dl (2,7%), no razlika nije bila statistički značajna (p=0,296).

## 5. RASPRAVA

Lp(a) je u zadnja četiri desetljeća u središtu pozornosti kao novi kardiovaskularni čimbenik rizika. Rezultati studija o njegovoj ulozi u razvoju kardiovaskularnih bolesti su kontradiktorni. Dobro je poznata činjenica da se u interpretaciji epidemioloških studija, zbog njihova različitog dizajna, načina uzimanja, čuvanja i kemijske analize uzoraka te statističke analize kriju brojne zamke, a zaključci mogu biti dijametralno suprotni. Najčešće se oprečni zaključci donose uspoređujući rezultate prospektivnih s rezultatima presječnih studija (*cross-sectional*). Ni Lp(a) nije pošteđen takvih kontradiktornosti.

Već je u istraživanjima 60-ih i u ranim 70-im godinama nađena povezanost između razine Lp(a) u serumu i koronarne bolesti, što je bilo povod za mnoga daljnja istraživanja o Lp(a) i njegovoj ulozi u aterogenezi i trombogenezi (194,195). U daljnjim je istraživanjima uočeno da je Lp(a) pretkazatelj ponovnih stenozе venskih premosnica koronarnih arterija, koronarnih arterija nakon učinjene dilatacija a i korelira s debljinom intime medije karotidnih arterija (127,196,197,198). Tri velike studije nisu pokazale povezanost Lp(a) s kardiovaskularnim bolestima i ostavile su određenu sumnju o njegovoj ulozi u procesu ateroskleroze (199,200,201). Određene nejasnoće razjasnile su rezultati nedavno objavljene metanalize u kojoj su analizirani rezultati 27 prospektivnih studija na oko 5400 bolesnika s koronarnom bolešću praćenih više od 10 godina (202). Prema toj analizi bolesnici s povišenim vrijednostima Lp(a) imali su značajno veći relativni rizik koronarne bolesti prema bolesnicima s niskim vrijednostima Lp(a). U samo pet studija nije nađena značajna razlika u relativnom riziku za pojavu koronarne bolesti. Promatrajući dizajn i način provođenja studija s negativnim rezultatima, primjećuje se nekoliko mogućih razloga koji mogu biti odgovorni za taj nerazmjer. Prvo, u studijama koje nisu našle povezanost kardiovaskularnog rizika s povišenim razinama Lp(a) uzorak krvi bio je pohranjen na  $-20^{\circ}\text{C}$ , a ne na  $-70^{\circ}\text{C}$ . Naime, pokazalo se da se upravo niskomolekularne izoforme koje su aterogenije brže razgrađuju ovim načinom pohrane (203). Druga manjkavost studija s negativnim rezultatima je kratak period praćenja bolesnika. Ateroskleroza je spor proces, a medijan praćenja je u tim studijama bio oko pet godina. Čini se da je glavni uzrok negativnih rezultata u ovim

studijama način odabira bolesnika. U četiri studije s negativnim rezultatom odabrani su bolesnici s niskim kardiovaskularnim rizikom, a u jednoj studiji praćene su osobe sa šećernom bolesti kod kojih i inače postoje kontradiktorni rezultati o Lp(a) kao neovisnom čimbeniku kardiovaskularnog rizika (202,204).

Neka su istraživanja pokazala da povišena razina Lp(a) dodatno povećava kardiovaskularni rizik samo u prisutnosti drugih kardiovaskularnih čimbenika rizika poput hipertenzije, povišene vrijednosti LDL kolesterola i snižene vrijednosti HDL kolesterola (203,205). S druge strane, Framingham Heart Study pokazuje da je povišena vrijednost Lp(a) značajan prediktor kardiovaskularnog rizika u muškaraca (206). Ti su rezultati sukladni rezultatima studije u kojoj je pokazano da povišena vrijednost Lp(a) povećava populacijski kardiovaskularni rizik za 27%, dok drugi autori zaključuju da bi se populacijski rizik infarkta miokarda smanjio za 15% kada bi se vrijednosti Lp(a) mogle spustiti ispod 20. percentile (207,208). Kontraverzni rezultati dobiveni ispitivanjima u žena, ukazuju da za procjenu kardiovaskularnog rizika Lp(a) u ovoj populaciji treba uzeti u obzir i utjecaj promjene ženskih spolnih hormona koje se javljaju u menopauzi (209). Manje kontradiktornih podataka nalazimo kod retrospektivnih i *case-control* studija (210). Najveća poteškoća pri tumačenju rezultata retrospektivnih studija je razlikovanje je li povišena vrijednost Lp(a) uzrok patogenog procesa ili se povišena vrijednost javlja sekundarno kao posljedica prisutne bolesti.

U metaanalizi Milionisa i sur. prikazani su rezultati 16 epidemioloških studija u kojima je ispitivana povezanosti Lp(a) i cerebrovaskularnih bolesti (211). Dobiveni rezultati, iz više razloga, a poglavito zbog nemogućnosti određivanja tipa moždanog udara, nisu jednoznačno mogli potvrditi pretkazateljsku vrijednost Lp(a) za ishemički moždani udar. Primijećeno je da osobe s povišenom razina Lp(a) imaju značajno veći relativni rizik za moždani udar, osobito ako su istovremeno prisutni i drugi metabolički poremećaji poglavito hiperlipidemija i hiperhomocisteinemija. Lp(a) se pokazao kao značajan pretkazatelj ishemičkog moždanog udara u bolesnika u kojih je moždani udar uzrokovan aterosklerotskim promjenama karotidnih arterija (212). U istraživanjima je potvrđena pozitivna povezanost povišene vrijednosti Lp(a) i periferne vaskularne bolesti (210,213).

Unatoč čvrstim dokazima protrombotske aktivnosti Lp(a) u arterijama, uloga Lp(a) u razvoju trombotskih bolesti venskog sustava je još uvijek kontraverzna. Zbog kočenja fibronolize, Lp(a) se u nekim istraživanjima pokazao kao rizični čimbenik za nastanak venske tromboembolije i okluzije retinalnih vena (214). Druga slična istraživanja nisu potvrdila povezanost povišene razine Lp(a) i venske tromboembolijske bolesti (215,216). Zbog ovih razloga vjerojatna povezanost između Lp(a) i venske tromboembolijske bolesti više je spekulativna i nije potpuno razjašnjena. Iako je direktni i neovisni utjecaj Lp(a) na razvoj trombotske bolesti venskog sustava manje vjerojatan, ne može se isključiti mogućnost da Lp(a) djeluje u sinergizmu s drugim dobro poznatim protrombotskim stanjima kao što su nasljedna trombofilija, autoimune bolesti i antifosfolipidni sindrom (217,218).

Etnička je pripadnost od velike važnosti u istraživanjima povezanosti genetskih čimbenika rizika i bolesti. Genetski čimbenik koji se ponaša kao rizični čimbenik u jednoj populaciji ne mora obavezno biti i u drugoj etničkoj skupini. Drugi geni mogu djelovati na ulogu Lp(a) kao kardiovaskularnog čimbenika rizika (72). Marcovina i sur. su u svojim istraživanjima našli značajnu razliku u koncentraciji Lp(a) u plazmi između populacija američkih Bijelaca i Crnaca (71). U ovom istraživanju Bijelci su imali značano niže vrijednost Lp(a) a krivulja raspodjele bila je asimetrična prema većim vrijednostima (kosa u desno). Crnci su imali znatno više razine Lp(a) u plazmi i pravilnu, zvonoliku krivulju distribucije. Dobro poznata obrnuta povezanost između veličine izoformni apo(a) i koncentracije Lp(a) nije nađena u američkih Crnaca. Unatoč većoj razini Lp(a) u serumu Crnci nisu imali značajno veći rizik od razvoja koronarne bolesti. Manji aterotrombogeni potencijal Lp(a), unatoč višim vrijednostima Lp(a) prema Bijelcima, objašnjen je većom zastupljenošću izoformni apo(a) srednje veličine. Slični podaci dobiveni su i u drugim istraživanjima. Točni uzroci različite vrijednosti i različitog aterogenog potencijala Lp(a) među rasama ostaju nepoznati (219,220).

U našem istraživanju na 146 ispitanika s tipom 2 šećerne bolesti krivulja raspodjele Lp(a) je asimetrična prema većim vrijednostima (kosa u desno), što se slaže s podacima epidemioloških istraživanja učinjenih u populacijama Bijelaca (slika 9.). Za točnu procjenu raspodjele Lp(a) u našoj

populaciji potrebno je učiniti epidemiološko istraživanje na daleko većem broju ispitanika.

U posljednjih desetak godina interes epidemiologa i kliničkih istraživača preusmjeren je s kliničkog procjenjivanja aterosklerotskih komplikacija (infarkt miokarda, moždani udar i kardiovaskularna smrt) na neinvazivne metode koje su vrlo osjetljive u otkrivanje subkliničkih oblika ateroskleroze. Populacijski utemeljene studije pokazale su povezanost težine ateroskleroze u jednom arterijskom području s aterosklerotskim promjenama drugih arterija u organizmu (221). Otkrivanje aterosklerotskih promjena na karotidnim arterijama ili arterijama nogu, mnogo je prikladnije i manje invazivno nego otkrivanje tog procesa u koronarnim i cerebralnim arterijama. Stoga je rano otkrivanje arterijske bolesti usmjereno na periferno arterijsko područje i karotidne arterije. Ultrazvučna pretraga površinskih arterija je pouzdana, visoko reproducibilna i relativno jeftina metoda neinvazivnog prikazivanja lumena i stijenki arterija koje su uključene u aterosklerotski proces. Prikazom lumena krvne žile ultrazvučnim sustavom visoke rezolucije, tehnikom B-moda, može se jasno razlikovati IMT karotidnih arterija od ostalih slojeva žilne stijenke (179,183). Suvremenim ultrazvučnim uređajima, sondama frekvencije 8 ili više MHz, u mogućnosti smo razlikovati granicu između žilnog lumena i intime, kao i između medije i adventicije. Smatra se da jednoliko IMT, koje se obično interpretira samo kao povećanje intime, odgovora ranom formiranju aterosklerotskog plaka. Premda se bilježi postupan porast kardiovaskularnog rizika s rastućom IMT, vrijednost veća 1,3 mm smatraj se patološkom. Osobe bez poznate kardiovaskularne bolesti u kojih je povećana IMT imaju povišen rizik od razvoja infarkta miokarda i moždanog udara (173). Ultrazvuk kao metoda probira ima veliku prednost jer se može primijeniti kod osoba u kojih su prisutni čimbenici rizika, a još nije došlo do aterosklerotskog procesa u većem razmjeru.

Ultrazvučnim sustavom može se također jasno razlikovati fokalna aterosklerotska nakupina (plak), kao znak uznapredovalog procesa ateroskleroze. Nedavno je za svojstvo plaka procijenjene karotidnim ultrazvukom utvrđeno da mogu pretkazivati buduće moždane ishemijske događaje (174). Bolesnici sa stenotičkim plakovima niske ehoreflektivnosti imaju bitno veći rizik moždanog udara i cerebrovaskularnih događaja nego

osobe s plakovima visoke ehoreflektivnosti. Pri procjenjivanju B-mode ehokardiografijom, lipidi, trombi i hemoragije u plaku koji su sastavnice nestabilnog aterosklerotskog plaka prikazuju se kao strukture niske ehoreflektivnosti.

Raspoloživi epidemiološki podaci ukazuju na značajnu povezanost povećane IMT karotidnih arterija i različitih klasičnih čimbenika rizika, te incidencije kardiovaskularnih bolesti (222). Prospektivna istraživanja ukazuju da je povećana IMT snažan prediktor kardiovaskularnih događaja (179). Dobro je poznato da osobe sa šećernom bolesti imaju dva do četiri puta veći rizik od kardiovaskularnih bolesti prema općoj populaciji i da je smrtnost od kardiovaskularnih bolesti u ovoj populaciji gotovo 80% (15). S druge strane neka su istraživanja pokazala da osobe sa šećernom bolešću imaju značajno višu IMT karotidnih arterija prema općoj populaciji (176,177).

Budući da je primijećeno da se ukupni kardiovaskularni rizik ne može objasniti samo klasičnim čimbenicima rizika, zadnjih je godina posebna pozornost usmjerena na tzv. nove, male čimbenike rizika. Jedan od najintragantnijih tzv. malih čimbenika rizika je Lp(a). Veći je broj istraživanja pokazao izravnu povezanost povišene serumske razine Lp(a) i vrijednosti IMT karotidnih arterija u osoba bez šećerne bolesti (174,177,212) U literaturi nalazimo srazmjerno malo istraživanja o povezanosti Lp(a) i IMT karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti. Nedavno su Yamamoto i sur. dokazali značajnu povezanost povišene razine Lp(a) u serumu i karotidne ateroskleroze u osoba s tipom 2 šećerne bolesti (177). Bolesnici s povišenim vrijednostima Lp(a) imali su značajno veću prosječnu IMT i značajno veći prosječni broj plakova na karotidnim arterijama. U tom istraživanju srednja vrijednost IMT i serumaska razina Lp(a) bila su značajno veća u osoba s cerebrovaskularnom bolešću. Osim toga prevalencija je ishemičke bolesti srca i cerebrovaskularne bolesti bila značajno povezana je s brojem plakova karotidnih arterija. Prema našem ranijem istraživanju, osobe s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) imaju značajno veću vrijednost IMT karotidnih arterija i značajno veći prosječni broj plakova prema osobama s niskom razinom Lp(a) (178).

U ovom smo istraživanju pratili mogući utjecaj Lp(a) na progresiju IMT i broj plakova u osoba s tipom 2 šećerne bolesti. Ispitivanjem je obuhvaćeno



146 osoba s tipom dva šećerne bolesti koji su bili podijeljeni u dvije skupine s obzirom na graničnu vrijednost Lp(a) od 30 mg/dL, iznad koje je rizik za razvoj ateroskleroze povećan.

Ispitivane skupine bolesnika na početku istraživanja nisu se značajno razlikovale s obzirom na vrijednost IMT karotinih arterija (tablica 5.). U periodu praćenja od četiri godine došlo je značajnog porasta IMT karotidnih u obje ispitivane skupine. U skupini bolesnika s vrijednostima Lp(a)  $\leq$  30 mg/dL prosječno povećanje IMT u ispitivanom periodu iznosilo je 0,12 mm (0,030 mm/god.), a u skupini s vrijednostima Lp(a) > 30 mg/dl iznosilo je 0,17 mm (0,043 mm/god.). Iako se ispitivane skupine bolesnika na početku istraživanja nisu razlikovale u vrijednostima IMT karotidnih arterija, nakon četiri godine praćenja u skupini bolesnika s visokim vrijednostima Lp(a) prate se značajno veće prosječno povećanje IMT karotidnih arterija prema skupini ispitanika s niskim vrijednostima Lp(a) ( $p=0,005$ ). Ovi rezultati ukazuju da IMT karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti značajno brže progredira u osoba s visokom prema osobama s niskim vrijednostima Lp(a) u serumu. Prema našim saznanjima ovo je prvo prospektivno istraživanje koje prati utjecaj Lp(a) na progresiju IMT karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti. U jednoj drugoj prospektivnoj studiji koja je trajala tri godine praćeno je 287 osoba s tipom 2 šećerne bolesti. Pretkazatelji progresije IMT karotidnih arterija bili su početna vrijednost IMT i reguliranost glikemije procijenjena razinom HbA1c (179). Kliničke oznake ispitivane skupine bolesnika bile su usporedive s oznakama ispitanika u našem istraživanju. Prosječno godišnje povećanje IMT u njihovu istraživanju bilo je 0,04 mm, što je slično dobivenim rezultatima u našem istraživanju. Ti su rezultati usporedivi s rezultatima istraživanja Salonena i sur. koji su u populaciji pretežno nedijabetičkih bolesnika našli da je prosječno dvogodišnje povećanje IMT karotidnih arterija iznosilo 0,08 mm (223). Suprotno u jednom drugom istraživanju nađena je značajno niža godišnja progresija IMT karotinih arterija u nedijabetičara prema osobama sa šećernom bolesti (224).

Rezultati multivarijatne analize mogućih utjecaja drugih čimbenika rizika koji se statistički značajno razlikuju u ispitivanim skupinama [Lp(a), HDL-kolesterol i trigliceridi] pokazali su da na IMT varijablu koja se mijenja u prvom i drugom mjerenju, utječe samo razina Lp(a), a da na tu promjenu ne utječu

razina triglicerida i HDL-kolesterola. Neovisno o ponavljanim mjerenjima vrijednost IMT, ponovno ovisi samo o razine Lp(a), a ne o razini triglicerida i HDL-kolesterola (tablica 6).

U literaturi nalazimo srazmjerno malo istraživanja o povezanosti Lp(a) s brojem plakova karotidnih arterija. U nekim istraživanjima bolesnici s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) imali su značajno veći broj plakova prema osobama s niskom razinom Lp(a) (177,178). Suprotno tome, u ovom istraživanju ispitivane skupine bolesnika nisu se značajno razlikovale u broju plakova u vrijeme uključivanja u studiju (tablica 7.) Nakon četiri godine, prati se značajan porast broja plakova u obje skupine bolesnika prema broju plakova na početku istraživanja. Broj plakova na kraju istraživanja u ispitivanim skupinama bolesnika s tipom 2 šećerne i visokom vrijednosti Lp(a) u serumu nije se značajno razlikovao prema onima s niskom vrijednosti Lp(a). Rezultati multivarijatne analize ponovljenih mjerenja broja plakova, u ovisnosti o varijablama koje se značajno razlikuju u ispitivanim skupinama, pokazali su da promjenu broja plakova na početku i na kraju istraživanja ne ovise o razini Lp(a), triglicerida i HDL-kolesterola. Neovisno o ponavljanim mjerenjima broj plakova ovisi o razini Lp(a) i razini triglicerida, a ne ovisi o razini HDL-kolesterola (tablica 8.).

Serumski su trigliceridi važan čimbenik rizika za razvoj aterosklerotskih promjena krvnih žila. Neka su prospektivna istraživanja pokazala da je hipertrigliceridemija značajan, neovisni čimbenik rizika za razvoj ishemičke bolesti srca (225). Povišena razina triglicerida u osoba s tipom 2 šećerne bolesti može biti bolji pretkazatelj ishemičke bolesti srca nego povišena razina LDL-kolesterola (226). Razina serumskih triglicerida povećana je 3-6 h nakon uzimanja jela i obično se podržava uzimanjem slijedećih obroka (227). Najčešći oblik hiperlipidemije u osoba s tipom 2 šećerne bolesti je povišena razina triglicerida i snižena razina HDL kolesterola. Nedavno su Teno i sur. pokazali da je postprandijalna hipertrigliceridemija, neovisno o razini triglicerida natašte, neovisni čimbenik rizika razvoja rane ateroskleroze procijenjene IMT karotidnih arterija (228). Stoga je u osoba s tipom 2 šećerne bolesti osim vrijednosti natašte, izuzetno važno određivanje triglicerida i postprandijalno.

Neka prijašnja istraživanja ukazuju da progresija IMT karotidnih arterija ovisi o početnoj vrijednosti IMT ili o prisutnosti lokaliziranih aterosklerotskih plakova u stijenci krvne žile (184). Vinson i sur. u svom su istraživanju našli da osobe s tipom 2 šećerne bolesti i prisutnim mikrovaskularnim komplikacijama imaju značajno veću IMT i češće lezije račvišta karotidnih arterija prema skupini bez mikrovaskularnih komplikacija te kontrolnoj skupini ispitanika koji nisu imali šećernu bolest (229). Naše prijašnje istraživanje pokazalo je da osobe s tipom 2 šećerne bolesti i prisutnim mikrovaskularnim komplikacijama imaju značajno veću IMT karotidnih arterija prema osobama bez mikrovaskularnih komplikacija. Ispitivane se skupine nisu razlikovale u prosječnom broju plakova (178). Naši prijašnji rezultati i rezultati navedenih autora potvrđuju da je šećerna bolest neovisni čimbenik rizika za razvoj karotidne ateroskleroze. Također se može reći da razvojem mikrovaskularnih komplikacija pridonosi daljnjem pogoršanju aterosklerotskih promjena u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

Nedavno su uvedene nove ultrazvučne metode za procjenu sastava plaka. Primjenom posebne tehnike videodenzitometrijske analize ehoreflektivnosti plaka moguće je razlikovati pojedine komponente aterosklerotskog plaka. Visoka je ehoreflektivnost povezana s visokim stupnjem sadržaja fibroznog tkiva unutar plaka, dok visoki stupanj lipidnog sadržaja odgovara niskoj ehoreflektivnosti.

Najnovije istraživanje od Iwamoto i sur. iz 2004. godine učinjeno u 208 Japanaca starijih od 80 godina pokazuje značajno veći udio hipohogenih, lipidima bogatih, nestabilnih aterosklerotskih plakova karotidnih arterija u osoba s visokim vrijednostima L(a), prema onima s normalnim vrijednostima Lp(a) u serumu. Srednja veličina plaka bila je također značajno veća u osoba s povišenom prema onima s normalnom razinom Lp(a) u serumu (230).

Rezultati našeg istraživanja kao i rezultati drugih autora ukazuju da Lp(a) predstavlja značajan, neovisni pretkazatelj progresije IMT karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

U drugom dijelu istraživanja cilj nam je bio istražiti imaju li osobe s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) u četverogodišnjem

razdoblju praćenja veći pobol i smrtnost od kardiovaskularnih bolesti (moždani udar i infarkt miokarda) prema osobama s tipom 2 šećerne bolesti i normalnom razinom Lp(a). Prema ovom je istraživanju skupina bolesnika s visokim vrijednostima Lp(a), prema onoj s niskom razinom Lp(a) imala značajno veću progresiju IMT tijekom četiri godine i nešto više oboljelih od infarkta miokarda, ali razlika nije dostigla razinu statističke značajnosti. Među ispitivanim skupinama tijekom četiri godine nije bilo značajne razlike u pojavnosti moždanog udara (tablica 9.). Slično, neka ranija istraživanja ukazuju da osobe s tipom 2 šećerne bolesti i ishemičkom bolesti srca imaju veću IMT i više vrijednosti Lp(a) prema osobama bez ishemičke bolesti srca. Ta razlika nije bila statistički značajna. U istom istraživanju osobe koje su preboljele moždani udar imale su statistički značajno veću IMT i veće vrijednosti Lp(a) u serumu prema osobama bez preboljelog moždanog udara (177).

U ovom istraživanju kardiovaskularna smrtnost (smrt od infakta miokarda i moždanog udara) bila je nešto veća u skupini bolesnika s većim vrijednostima Lp(a), ali razlika nije bila statistički značajna (tablica 9.). S obzirom na mali broj kardiovaskularnih događanja u analizu su uključeni kombinirani ishodi kardiovaskularnih događanja (infarkt miokarda, moždani udar i kardiovaskularna smrt). U skupini je bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) zabilježen veći udio bolesnika s kombiniranim ishodom prema bolesnicima s nižom razinom Lp(a). Tu također razlika nije bila statistički značajna (tablica 9.). Tijekom četiri godine praćenja tendencija je većeg broja kardiovaskularnih događanja i kardiovaskularne smrti u bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti koji su imali veće vrijednosti Lp(a). Mogući razlog statistički neznačajne razlike za te analize je relativno mala skupina ispitanika. Naši rezultati ukazuju na značajnu povezanost povišene razine Lp(a) s bržom progresijom plaka karotidnih arterija i tendenciju većeg pobola i smrtnosti od srčanog infarkta i moždanog udara. Za čvršće stavove o značajnosti Lp(a) kao važnog kardiovaskularnog čimbenika rizika potrebna su daljnja istraživanja u većeg broja osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

U prilog tim tvrdnjama govore rezultati velikih prospektivnih studija u općoj populaciji. Naime, tu su istraživači pokazali da osobe s većim

vrijednostima Lp(a) imaju značajno veću IMT karotidnih arterija. Isto tako osobe koje su razvile infarkt miokarda ili moždani udar imali su značajno veće vrijednosti Lp(a) i veću IMT karotidnih arterija (174,231). U poznatoj Bruneck studiji vrijednost Lp(a) bila je pretkazatelj kako ranih, tako i uznapredovalih aterosklerotskih promjena karotidnih arterija kao i kliničkih manifestacija kardiovaskularnih bolesti (212).

Detaljna analiza spolne i rasne razlike u jačini povezanosti Lp(a) s IMT karotidnih arterija je već prije naglašena (72, 209). Iako je u Crnaca nivo Lp(a) bio dva puta veći nego u Bijelaca, IMT karotidnih arterija je bila manja u Crnaca (232). Ovaj se paradoksalni utjecaj objašnjava većim udjelom izoformi apo(a) srednje i visoke molekulske mase i višom razinom zaštitnog HDL kolesterola u Crnaca (233). U brojnim istraživanjima nađena je značajna povezanost niskomolekularnih izoformi apo(a) s težinom ateroskleroze i proširenošću kardiovaskularnih bolesti u bijelačkoj populaciji (143,144,234). Rezultati ARIC (the Atherosclerosis Risk in Communities) studije u kojoj je bila zastupljena miješana populacija Bijelaca i Afroamerikanaca, nađena je značajna povezanost Lp(a) s IMT karotidnih arterija u Bijelaca i muških Crnaca. Povezanost je Lp(a) s IMT u crnih žena bila prisutna samo u pušača i dijabetičara (232). Jedno drugo istraživanje u multietničkoj populaciji Bijelaca, Hispanaca i Afroamerikanaca, nije našlo značajne povezanosti Lp(a) i debljine karotidnog plaka s razinom ukupne vrijednosti Lp(a). Međutim, u Bijelaca je nađena značajna povezanost niskomolekularnih izoformi apo(a) s debljinom aterosklerotskog plaka. U druge dvije etničke skupine, unatoč višim vrijednostima Lp(a), povezanost Lp(a) s debljinom karotidnog plaka nije bila značajna. Krivulja distribucije u Hispanaca i Afroamerikanaca bila je više pravilna, što je rezultat veće zastupljenosti izoformi srednje veličine (235). Rezultati tih istraživanja ukazuju da su molekularna svojstva, odnosno veličina izoformi apo(a) važni u određivanju aterogenosti Lp(a).

Iako je kliničko značenje Lp(a) prepoznato u nedijabetičkoj populaciji, podaci o ulozi Lp(a) u osoba s tipom 2 šećerne bolesti su ograničeni. Raspoloživi podaci o razini Lp(a) u serumu u osoba s tipom 2 šećerne bolesti su proturječni. U nekim istraživanjima u osoba s tipom 2 šećerne razina Lp(a) u serumu značajno je viša prema općoj populaciji, dok u drugim istraživanjima

to nije potvrđeno (236). S obzirom na veliki kardiovaskularni pobol i smrtnost u osoba s tipom 2 šećerne bolesti, istraživanja o povezanosti Lp(a) i IMT karotidnih arterija je od velikoga kliničkog značaja. U ovom radu istraživali smo je li Lp(a) pretkazatelj progresije aterosklerotskih promjena karotidnih arterija i posljedično većega kardiovaskularnog pobola i smrtnosti. Naši su rezultati u skladu s ranijim istraživanjima koja su učinjena na populacijama Japanaca i Indijaca (177,237). U jednom drugom prospektivnom istraživanju u populaciji dijabetičkih bolesnika praćenih prosječno 2,5 godina incidencija kardiovaskularnih događaja bila je značajno viša u osoba s povišenom razinom Lp(a) prema osobama s niskom razinom Lp(a) (238). Dobiveni rezultatu sugeriraju da je Lp(a) neovisan pretkazatelj progresije IMT karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

Ateroskleroza je proces koji započinje u djetinjstvu, razvija se neupadljivo tijekom više desetljeća, da bi se klinički očitovala nekom od kardiovaskularnim komplikacija u srednjoj ili starijoj životnoj dobi. Prvi znak ateroskleroze je masna pruga koja se stvara u intimi sistemskih arterija. Brzina napredovanje ateroskleroze tijekom života, od masne pruge pa do uznapredovalog aterosklerotskog plaka, ovisna je o brojnim kardiovaskularnim čimbenicima rizika. Zato je izuzetno važno osim ranog otkrivanja kardiovaskularnih čimbenika rizika, što ranije otkrivanje i subkliničkih oblika ateroskleroze, a s ciljem prevencije razvoja kardiovaskularnih komplikacija. Otkriće novih neinvazivnih metoda omogućilo nam je rano otkrivanje i liječene visokorizičnih bolesnika. Jedna od najpreciznijih, neinvazivnih metoda, koja se široko primjenjuje u zadnji nekoliko desetljeća, svakako je ultrazvučni prikaz stijenke krvnih žila kojom procjenjujemo stupnja ateroskleroze. Današnjim ultrazvučnim uređajima visoke rezolucije, tehnikom B-moda, omogućuje se vrlo precizno mjerenje IMT na razini submilimetarskih vrijednosti. Studije učinjene u odrasloj populaciji pokazale su da mjerenje IMT predstavlja dobar pretkazatelj subkliničke ateroskleroze (183,184). U nekim istraživanjima učinjenih u djece s hiperkolesterolemijom ultrazvučnim prikazom IMT dobivena je značajna razlika u debljini plaka u odnosu na kontrolu (239). U drugom istraživanju u mlađoj populaciji osoba s tipom 1 šećerne bolesti

mjerenjem IMT moguće je bilo razlikovati bolesnike s dobrom u odnosu na lošu regulaciju glikemije (240).

IMT kao metoda procjene asimptomatske ateroskleroze i njezine progresije do sada je široko primjenjivana u mnogim opservacijskim i intervencijskim studijama. Od prvih originalnih rukom mjerenih IMT, koja su uveli Pignoli i sur. do danas, postoji više načina mjerenja i prikaza debljine aterosklerotskog plaka (183,184). Neki autori mjere debljinu plaka na više mjesta i to na prednjoj ili stražnjoj stijenci karotidne arterije, drugi su ograničili mjerenje na stražnji zid distalnog dijela karotidne arterije. U našem smo istraživanju preuzeli metodu Pignolia i sur. koja je ranije detaljno prikazana (183). Noviji ultrazvučni uređaji s poboljšanjem rezolucije i primjenom posebnih kompjutorskih programa omogućili su nam automatsko mjerenje IMT s mogućnošću rezolucije od 0,01 mm. Dosadašnja istraživanja potvrdila su visoku reproducibilnost navedene metode bez obzira radi ili o ručnom ili kompjutorskom mjerenju debljine plaka. Općenito greška između različitih ispitivača (inter-observer) ili istog ispitivača (intra-observer) vrlo je prihvatljiva i iznosi manje od 4%. U našem istraživanju reproducibilnost mjerenja procijenjena je mjerenjem IMT u 35 bolesnika od strane dva neovisna istraživača. Dobivena je vrlo visoka reproducibilnost koja je prikazana u poglavlju 3.2.9.

Za sada nemamo jedinstvenu definiciju IMT karotidnih arterija. Usporedba dviju ili više različitih ultrazvučnih metoda prikaza IMT dobivena u različitim studijama ponekad je problematična. Naime, dobivene apsolutne vrijednosti IMT nisu uvijek usporedive. Drugi problem predstavlja točno određivanje granice lumena krvne žile i intime na koju utječe sam proces ateroskleroze, dok na granicu medije i tunike adventicije više utječe hipertrofija i remodeliranje krvne žile. Prilikom mjerenja IMT preporuča se mjerenje u dijelu krvne žile bez lokaliziranog plaka što je u našem istraživanju i učinjeno. Nakon prikaza lumena krvne žile u uzdužnoj projekciji IMT izmjerena je u području zajedničke karotidne arterije bez vidljivog lokaliziranog plaka. Plakovi su posebno prikazani. Postoje određene dvojbe vezane uz tumačenje samog značenja IMT. Neki autori ukazuju da su promjene IMT uglavnom posljedica remodeliranja krvne žile (tzv. arterioskleroza), dok se

većina slaže da se radi o ranoj, subkliničkoj aterosklerozi (241). Danas je prihvaćen stav da jednoliko zadebljanje intime-medije, koje se obično interpretira kao povećanje intime, odgovara ranom formiranju aterosklerotskog plaka. Odnosi između ultrazvučnog i histološkog određivanja IMT prikazan je u različitim operavacijskim studijama (242). Dobivene su vrlo usporedive vrijednosti, iako su vrijednosti IMT dobivene ultrazvučnim prikazom nešto veće u odnosu na patohistološke nalaze. Može se reći da nam IMT daje vjerodostojnu sliku o promjenama u stijenci krvne žile uzrokovanih različitim čimbenicima rizika. Raspoloživi epidemiološki podaci ukazuju nam da je povećana vrijednost IMT značajno povezana s povećanim rizikom od koronarne i cerebrovaskularne bolesti (221). Isto tako dokazano je da postoji značajna povezanost IMT karotidnih arterija s različitim tradicionalnim ali i novim, malim kardiovaskularnim čimbenicima rizika, te povezanost s markerima oštećenja ciljnih organa kao što hipertrofija lijevog ventrikula, mikroalbuminurija, indeks gležanj/ruka (ankl/brahial index) i oštećenja mozga (222,243). U brojnim epidemiološkim i kliničkim studijama IMT se pokazao kao snažni intermedijarni fenotipi u istraživanjima o utjecaju genetskih i stečenih čimbenika rizika na razvoj ateroskleroze.

U literaturi nalazimo značajan broj istraživanja u kojima su uspoređivani različiti terapijski protokoli s progresijom ili regresijom aterosklerotskog plaka. Europska studija o lacidipinu u aterosklerozi najveća je prospektivna, randomizirana, dvostruko-slijepa studija koja je koristila debljinu stijenke karotide tj. IMT kao primarni cilj istraživanja (244). U njoj su uspoređeni učinci visoko lipofilnog dihidropiridin kalcijeva antagonista lacidipina i beta blokatora atenolola na razvitak ateroskleroze karotida. Nasumice je raspoređeno 2255 hipertenzivnih bolesnika na terapiju atenololom ili lacidipinom. Četverogodišnje liječenje dovršilo je 1519 bolesnika. Statistička analiza pokazala je značajno bolji učinak liječenja lacidipinom od onog atenololom na smanjenje četverogodišnje progresije maksimalne mase karotidne bifurkacije. Godišnji postotak porasta IMT tijekom liječenja bio je u bolesnika liječenih lacidipinom od 23 do 40% niži nego u bolesnika liječenih atenololom. Broj bolesnika u kojih je došlo do povećanja aterosklerotskih plakova bio je manji, a broj bolesnika u kojih je došlo do smanjenja plakova bio je veći u bolesnika



liječenih lacipidinom nego u onih liječenih atenololom. Učestalost kardiovaskularnih incidenata i smrtnih ishoda bila je niža u objema skupinama, a analiza sigurnosti nije pokazala značajnu razliku među liječenim skupinama kako s većim tako i s manjim kardiovaskularnim događanjima. Zaključeno je da veća učinkovitost lacipidina unatoč manjem smanjenju krvnog tlaka ukazuje na antiaterosklerotično djelovanje lacipidina nezavisno od njegova antihipertenzivnog učinka. Neke novije intervencijske studije pokazale su da primjena određenih antihipertenziva dovodi do značajno manje progresije IMT u odnosu na placebo (245,246). U EDICT (Intensive Diabetes Therapy and Carotid Intima-Media Thickness in Type 1 Diabetes Mellitus) studiji tijekom šest godina praćeno je 1229 osoba s tipom 1 šećerne bolesti. Nađena je značajno niža progresija IMT u bolesnika liječenih intenziviranom inzulinskom terapijom u odnosu na konvencionalni način liječenja (240).

Iako je u presječnim studijama nađeno da IMT značajno korelira s rizikom od kardiovaskularnih bolesti, podaci koji ukazuju na povezanost progresije plaka s kardiovaskularnim događanjima su oskudni (175). Stoga su potrebna daljnja istraživanja, na puno većem broju ispitanika i značajno dužem periodu praćenja, koja će pokazati je li progresija plaka ili primjena određenih terapijskih protokola koji usporavaju progresiju plaka, značajno povezana s rizikom od kardiovaskularnih događaja.

Koncem 2000. i početkom 2001. godine objavljeni su rezultati prospektivnih studija i metaanaliza koje pokazuju da je Lp(a) čimbenik koji povećava kardiovaskularni rizik primarno u bolesnika u kojih su prisutni i drugi čimbenici rizika (202,203,205). Unatoč tim rezultatima, u najnovijim preporukama Lp(a) nije prihvaćen kao značajni kardiovaskularni čimbenik rizika na kojeg je moguće terapijski utjecati (247,248). Mogući razlog za to je nedostatak dokaza intervencijskih studija koje bi nam pokazale da uspješno liječenje povišene razine Lp(a) rezultira smanjenjem rizika od kardiovaskularnih bolesti. Unatoč rezultatima temeljne znanosti i brojnih epidemioloških istraživanja koja sve više ukazuju na njegovu važnu ulogu u aterotrombogenezi, zbog nekih oprečnih rezultata potrebna su daljnja istraživanja prije nego li bude uvršten u set rutinskih čimbenika rizika. Današnji je stav da Lp(a) nije opravdano rutinski određivati. Prema većini

autora od koristi ga je odrediti u osoba s osobnom ili obiteljskom anamnezom kardiovaskularne bolesti u dobi ispod 55 godina, u osoba kojima je verificirana kardiovaskularna bolest i imaju normalni lipidogram, u osoba sklonih rekurentnim stenozama nakon endovaskularnih zahvata, u dijabetičara, u bolesnika s oštećenom bubrežnom funkcijom i u žena u postmenopauzalnom periodu (62, 149,153,157).

U procjeni primjerenih kardiovaskularnih preventivnih mjera postavlja se pitanje ima li sniženje Lp(a) u serumu kliničku značajnost. Brojne nepoznanice vezane uz njegovu sintezu i katabolizam predstavljaju priličan izazov u definiranju uspješne strategije liječenja povišene razine Lp(a) u serumu. Budući da je razina Lp(a) u serumu većim dijelom određena njegovom sintezom, uplitanje u proces stvaranje Lp(a) predstavlja potencijalnu mogućnost za uspješno sniženje njegove razine u serumu (249). Međutim, dok se ne otkrije točan put metabolizma Lp(a) u ljudskom tijelu, vjerovatno neće biti moguće naći učinkovito sredstvo za sniženje Lp(a) u serumu.

Nikotinska kiselina i neomicin primijenjeni u visokim dozama dovode do značajnog smanjivanja razine Lp(a) u serumu (165,168). Njihova klinička primjena onemogućena je zbog značajnih nuspojava. Uobičajene dijetne mjere i antilipemici ne dovode do snižavanja vrijednosti Lp(a) u serumu (160,161,162,163). Osim povoljnog učinka hormonske nadomjesne terapije danas nema načina kojim bi se uspješno djelovalo na povišenu razinu Lp(a) (81). Zbog nedefiniranog odnosa rizika i dobiti uporaba hormonske nadomjesne terapije za sada se rutinski ne preporuča. Zbog antifibrinolitičkog učinka od koristi mogu biti niske doze aspirina. Uz to, danas postoje dokazi da hiperhomocisteinemija povećava aterogenost Lp(a) te se kao dodatna terapija mogu koristiti vitamini B-skupine.

Pragmatičan terapijski pristup bolesniku s povišenim vrijednostima Lp(a) danas se temelji na striktnijoj regulaciji ostalih čimbenika rizika poput hipertenzije, hiperglikemije, dislipidemije, prekomjerne tjelesne težine i pušenja. Povišena razina Lp(a) može biti smjernica ranijeg početka liječenja, učestalijeg praćenja te postavljanja još strožih terapijskih ciljeva u tih bolesnika.

Dokazi o važnosti Lp(a) u aterogenezi i trombogenezi dolaze od ogromnog broja istraživanja koja uključuju: istraživanja na životinjama i kulturama tkiva, kontrolirana klinička istraživanja, istraživanja o težini i progresiji bolesti i velika epidemiološka istraživanja. S obzirom na rezultate ovog istraživanja te dosadašnjih sličnih istraživanja može se zaključiti da je Lp(a) značajan, neovisni, genetski određen čimbenik rizika za razvoj ateroskleroze u populaciji bolesnika s tipom 2 šećerene bolesti.

## 6. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata zaključili smo:

1. Osobe s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) u serumu imaju značajno veću progresiju intime-medije karotidnih arterija prema osobama s niskom razinom Lp(a) u serumu.
2. Debljina intime-medije karotidnih arterija mijenja se u prvom i drugom mjerenju i na tu promjenu značajno utječe samo razina Lp(a), dok promjene intime-medije ne ovise o razini triglicerida i HDL-kolesterola.
3. U obje skupine bolesnika prati se značajan porast broja plakova nakon četiri godine, ali među skupinama nije nađena značajna razlika u broju plakova na početku i na kraju istraživanja.
4. Broj plakova karotidnih arterija mijenja se u prvom i drugom mjerenju i na tu promjenu ne utječe značajno razini Lp(a), triglicerida i HDL-kolesterola.
5. Udio bolesnika s preboljelim infarktom miokarda i moždanim udarom u skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) u serumu nije se značajno razlikovao prema skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti i niskom razinom Lp(a).
6. Kardiovaskularna smrtnost (smrt od moždanog ili srčanog udara) nije bila značajno različita u skupini bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti i povišenom razinom Lp(a) serumu prema skupini s niskom razinom Lp(a) u serumu.

7. Statistička analiza kombiniranog ishoda (infarkt miokarda, moždani udar i kardiovaskularna smrt) nije pokazala značajne razlike u udjelima između ispitivanih skupina bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti.

8. Lp(a) je neovisni, genetski određen čimbenik rizika koji značajno utječe na brzinu progresije intime-medije karotidnih arterija u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

## 7. SAŽETAK

Cilj je ovog istraživanja utvrditi je li povišena razina Lp(a) u serumu rizični čimbenik koji pridonosi povećanju IMT i broja plakova karotidnih arterija, a i s time povezanog povećanog rizika od kardiovaskularnog pobola i smrtnosti u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

Analizirano je 146 bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti bez znakova cerebrovaskularne i ishemičke bolesti srca. Na početku istraživanja određena je razina Lp(a), IMT i broj plakova karotidnih arterija. Nakon četiri godine praćenja mjerili smo IMT i broj plakova karotidnih arterija. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine s obzirom na razinu Lp(a) u serumu. Jednu skupinu su sačinjavali bolesnici s razinom Lp(a) ≤ 30 mg/dL, a drugu skupinu bolesnici s razinom Lp > 30 mg/dL.

IMT prikazan je ultrazvučnim sustavom visoke rezolucije tehnikom B-moda. Razina Lp(a) u serumu određena je imunoturbidimetrijskom metodom.

Ispitivane skupine bolesnika s visokom i niskom razinom Lp(a) u serumu nisu se značajno razlikovale u IMT na početku istraživanja ( $p=0,112$ ). Nakon četiri godine praćenja IMT u bolesnika s razinom Lp(a) > 30 mg/dl iznosila je  $1,24 + 0,22$  mm i bila je značajno viša od IMT bolesnika s razinom Lp(a) ≤ 30 mg/dl koja je iznosila  $1,15 + 0,17$  mm ( $p=0,005$ ). Prosječno povećanje IMT u četiri godine u skupini s niskom razinom Lp(a) iznosilo je 0,12 mm (0,030 mm/god.), dok je prosječno povećanje IMT u skupini s visokom razinom Lp(a) iznosilo 0,17 mm (0,043 mm/god.). Multivarijatna analiza ukazuje da vrijednost IMT ovisi o Lp(a) a ne ovisi o razini triglicerida i HDL-kolesterola. U ispitivanim skupinama bolesnika nije bilo značajne razlike u broju plakova na početku istraživanja ( $p=0,276$ ). Nakon četiri godine u objema skupinama bolesnika prati se značajan porast broja plakova u odnosu na početne vrijednosti ( $p<0,001$ ), no među njima nije bilo značajne razlike ( $p=0,355$ ). U ispitivanim skupinama bolesnika nismo našli značajne razlike u pobolu i smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti. Udio bolesnika s preboljelim infarktom miokarda, moždanim udarom, umrlih od kardiovaskularnih bolesti i

kombiniranim ishodom (infarkt mokarda, moždani udar i kardivaskularna smrt) nije se statistički značajno razlikovao među ispitivanim skupinama ( $p > 0,05$ ).

Ovi rezultati sugeriraju da je Lp(a) neovisni, genetski određen čimbenik rizika koji je povezn s progresijom IMT u osoba s tipom 2 šećerne bolesti.

## 8. SUMMARY

The aim of this study was to establish whether increased serum Lp(a) level is a risk factor which significantly contributes to an increase in intima-media thickness (IMT) and the number of carotid artery plaques, and the related increased risk of cardiovascular morbidity and mortality in patients with type 2 diabetes mellitus.

The study included 146 type 2 diabetic patients without signs of cerebrovascular and ischaemic heart disease. The levels of Lp(a) and IMT, as well as the number of carotid artery plaques were determined at the beginning of the study. IMT and the number of carotid artery plaques were again determined after four years of follow-up. Subjects were divided into two groups according to their serum Lp(a) levels: patients with Lp(a) level of  $\leq 30$  mg/dL and those with Lp level  $>30$  mg/dL.

IMT was assessed by high-resolution B-mode ultrasound. Serum Lp(a) level was determined using immunoturbidimetric method.

The studied groups of patients with high and low serum Lp(a) levels did not reveal significant differences in baseline IMT ( $p=0.112$ ). After a 4-yr follow-up IMT was significantly greater in patients with Lp(a) level  $>30$  mg/dL as compared to those with Lp(a) level of  $\leq 30$  mg/dL ( $1.24 + 0.22$  mm vs.  $1.15+0.17$  mm, respectively ;  $p=0.05$ ). Mean increase in IMT over four years in the group with low Lp(a) level was 0.12 mm (0.030 mm/yr.), whereas in the group with high Lp(a) level it was 0.17 mm (0.043 mm/yr.). Multivariate analysis indicated that IMT value depended on Lp(a), and not on triglyceride and HDL-cholesterol levels. The studied patients from both groups did not show significant difference in baseline number of plaques ( $p=0.276$ ). A significant increase in the number of plaques ( $p<0.001$ ) was found after the 4-yr follow-up as compared to baseline values. There were no significant differences in the number of plaques between the two groups at the end of the study ( $p=0.355$ ). No statistically significant between-group differences were established either in cardiovascular morbidity and mortality or in the proportion of patients who had myocardial infarction or stroke, those who died from



cardiovascular diseases or a combined outcome (myocardial infarction, stroke and cardiovascular death) ( $p > 0.05$ ).

These results point to Lp(a) as an independent, genetically determined risk factor associated with IMT progression in type 2 diabetes mellitus.

## 9. LITERATURA

1. Reiner Ž. Ateroskleroza. U: Vrhovac B, Bakran I, Granić M, Jakšić B, Labar B, ur. Interna medicina, drugo izd. Zagreb: Naprijed; 1997. str. 718-24.
2. Newton KM, Lacroix AZ, Buist DSM. Overview of Risk Factors for Cardiovascular Disease. In: Goldman MB, Hatch (eds.) Women and Health. 1<sup>st</sup> ed. San Diego: Academic Press 2000, p. 757-70.
3. Beekman NM, Heijmans BT, Martin NG, U i sur. Heritabilities of apolipoprotein and lipid levels in three countries. Twin Res 200; 5:87-97.
4. Austin MA, Sandgolzer C, Selby JV, Newman B, Kraus s RM, Utermann G. Lipoproterin(a) in women twins: heritability and relationship to apolipoprotein(a) phenotypes. Am J Hum Genet 1992; 51:829-40.
5. Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein (a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. J Clin Invest 1992; 90:52-60.
6. Wright AF, Carothers AD, Pirasuta M. Population choice in mapping genes for complex diseases. Nat Genet 1999; 90:397-404.
7. Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M, Lander ES, Hirschhom JN. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. Nat Genet 2003; 33:177-82.
8. Cardiovascular Disease Programme. Integrated Managment of Cardiovascular Risk. Report of a WHO Meeting, Geneva 9-12 July 2002. World Health Organization, Noncommunicabile Diseases and Mental Helath, Geneva 2002; 35.

9. Sans S, Kesteloot H, Kromhout D. The burden of cardiovascular disease mortality in Europa. *Eur Heart J* 1997; 18:1231-48.
10. Murray MLC, Lopez AD. Alternative projection of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349:1498-504.
11. Hrabak-Žerjavić V, Kralj V, Silobrčić-Radić M. Javno-zdravstveno značenje kardiovaskularnih bolesti. *Liječ Vjesn* 2004; 126(Suppl 1):7.
12. Fan J, Watanabe T. Inflammatory reaction in the pathogenesis of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2003; 10:63-71.
13. Walldius G, Junger I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* 2001; 358:2026-33.
14. Liese AD, Mayer-Davis EJ, Haffner SM. Development of the multiple metabolic syndrome: an epidemiologic perspective. *Epidemiol Rev* 1998; 20:157-72.
15. American Diabetes Association; National Heart, Lung and Blood Institute; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease; American Heart Association. Diabetes mellitus: a major risk factor for cardiovascular disease. *Circulation* 1999; 100:1132-34.
16. Creager MA, Lüscher TF. Diabetese and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Circulation* 2003; Volumen 108 (12):1527-32.
17. Van den Hoogen PSW, Feskens EJM, Naglekerke NDJ. The realtion between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. *N Engl J Med* 2000; 342:1-8.

18. Schildkraut JM, Myers RH, Cuppels LA, Kiely DK, Kannel WB. Coronary risk associated with age and sex of parental heart disease in the Framingham Study. *Am J Cardiol* 1989; 64:555-9.
19. Kuulasmaa K, Tunstall-Pedoe H, Dobson A i sur. Estimation of contribution of changes of classic risk factor to trends in coronary-event rates across the WHO MONICA Project. 2000; 355:675-87.
20. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW i sur. 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 Assotiation. *Circulation* 2003; 107:499-511.
21. Ridker PM, Rifai N, Rose K, Burgin JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347:1557-65.
22. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103:1194-97.
23. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102:2165-68.
24. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997; 350:430-36.
25. Herrick S, Blanc-Brude O, Gray A, Laurent G. Fibrinogen. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999; 31:741-46.
26. Danesh J, Collins R, Appelby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998; 279:1477-82.

27. Folsom AR, Aleksic N, Park E, Salomaa V, Juneja H, Wu KK. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:611-17.
28. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischaemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288:2015-22.
29. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93:7-9.
30. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274:1049-57.
31. Berg K. A new serum type system in man—the Lp system. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1963; 59:369-82.
32. Marcovina SM, Koschinsky ML. A critical evaluation of the role of Lp(a) in cardiovascular disease: can Lp(a) be useful in risk assessment? *Semin Vasc Med* 2002; 2:335-44.
33. Gaubatz YW, Heideman C, Gotto AM, Morrisett Yr JD, Bahlen GH. Human plasma lipoprotein (a): structural properties. *J Biol Chem* 1983; 258:4582-9.
34. Lippi G, Guidi G. Lipoprotein (a): from ancestral benefit to modern pathogen? *Q J Med* 2000; 93:75-84.
35. Fless GM, Snyder ML, Furbee JW Jr, Garcia-Hedo MT, Mora R. Subunit composition of lipoproteina(a) protein. *Biochemistry* 1994; 33:13492-501.

36. Fless GM, ZumMallen ME, Scanu AM. Physicochemical properties of apolipoprotein(a) and lipoprotein(a-) derived from the dissociation of human plasma lipoprotein(a). *J Biol Chem* 1986; 261:8712-8.
37. Koschinsky ML, Marcovina SM. Structure-function relationship in apolipoprotein(a): insight into lipoprotein(a) assembly and pathogenicity. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15:167-74.
38. Xu S. Apolipoprotein(a) binds to low-density lipoprotein at two distant sites in lipoprotein (a). *Biochemistry* 1998; 37:9284-94.
39. McLean JW, Tomilson JE, Kuang W-J. cDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. *Nature* 1987; 300:132-7.
40. Lindsay AM, Plow EF. Lp(a): an interloper into the fibrinolytic system? *Thromb Haemos* 1990; 63:331-5.
41. Lackner C, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular definition of the extreme size polymorphism in apolipoprotein (a). *Hum Mol Genet* 1993; 2:933-40.
42. Gabel BR, May LF, Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) assembly: quantitative assessment of the role of apo(a) kringle IV types 2-10 in particle formation. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:1559-67.
43. Koschinsky ML, Marcovina SM. Lipoproteina (a): structural implications for pathophysiology. *Int J Clin Lab Res* 1997; 27:14-23.
44. Bard JM, Delattre-Lestavel S, Clavey V i sur. Isolation and characterization of two subspecies of Lp(a), one containing apo E and one free of apo E. *Bochem Biophys Acta* 1992; 1127:124-30.
45. Ramharack R, Spahr MA, Kreick JS, Sekerke CS. Expression of apolipoprotein (a) and plasminogen mRNAs in cynomolgus monkey liver and extrahepatic tissues. *J Lipid Res* 1996; 37:2029-40.

46. White AL, Guerra B, Lanford RE. Influence of allelic variation on apolipoprotein (a) folding in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1997; 272:5048-55.
47. Braakman I, Helenius J, Helenius A. Role of ATP and disulfide bonds during protein folding in the endoplasmic reticulum. *Nature* 1992; 356:260-62.
48. Bonen DK, Hausman AM, Hadjiagapiou C, Skarosi SF, Davidson NO. Expression of a recombinant apolipoprotein (a) in HepG2 cells. Evidence for intracellular assembly of lipoprotein (a). *J Biol Chem* 1997; 272:5659-67.
49. White AL, Landfords RE. Cell surface assembly of lipoprotein (a) in primary cultures of baboon hepatocytes. *J Biol Chem* 1994; 269:28716-23.
50. Hrzenjak A, Frank S, Maderegger B i sur. Apo(a)-kringle IV-type 6: expression in escherichia coli, purification and in vitro refolding. *Protein Eng* 2000; 12:661-6.
51. Callow MJ, Rubin EM. Site-specific mutagenesis demonstrates that cysteine 4326 of apolipoprotein B is required for covalent linkage with apolipoprotein (a). *J Biol Chem* 1995; 270:23914-17.
52. Gabel BR, Koschinsky ML. Sequences within apolipoprotein (a) kringle 6-8 bind directly to low-density lipoprotein and mediate noncovalent association of apolipoprotein (a) with apolipoprotein B-100. *Biochemistry* 1998; 37:7892-8.
53. Kostner GM, Gavish D, Leopold B, Bolzano K, Weintraub MS, Breslow JL. HMG CoA reductase inhibitors lower LDL cholesterol without reducing lip(a) levels. *Circulation*. 1989; 80:1313-9.
54. Kraft HG, Lingenhel A, Raal FJ, Hohenegger M, Utermann G. Lipoprotein (a) in homozygous familial hypercholesterolemia. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:522-8.

55. Higazi AA, Lavi E, Bdeir K i sur. Defensin stimulates the binding of lipoprotein (a) to human vascular endothelial and smooth muscle cells. *Blood* 1997; 89:4290-8.
56. Keesler GA, Gabel BR, Devlin CM, Koschinsky ML, Tabas I. The binding activity of the macrophage lipoprotein(a)/apolipoprotein(a) receptor is induced by cholesterol via a posttranslational mechanism and recognizes distinct kringle domains of apolipoprotein(a). *J Biol Chem* 1996; 271:32096-104.
57. Kostner GM, Wo X, Frank S, Zimmermann R, Steyrer E. Metabolism of lipoprotein (a):assembly and excretion. *Clin Genet* 1997; 52:347-54.
58. Frank S, Hrzenjak A, Blaschitz A, Dohr G, Kostner GM. Role of various tissues in apo(a) fragmentation and excretion of fragments by kidney. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:504-12.
59. Kraft HG, Koechl S, Menzel HJ, Sandholzer C, Utermann G. The apolipoprotein (a) gene: transcribed hypervariable locus controlling plasma lipoprotein (a) concentration. *Hum Gen* 1992; 90:220-30.
60. Marcovina SM, Zhang ZH, Gaur VP, Albers JJ. Identification of 34 apolipoprotein (a) isoforms: differential expression of apolipoprotein (a) alleles between American blacks at whites. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191:1192-6.
61. Lindhal G, Gjersdorf E, Menzle HJ i sur. The gene for the Lp(a) specific flycoprotein in closely linked to the gene for plasminogen on chromosome 6. *Hum Genet* 1989; 81:149-52.
62. Scanu AM, Lawn RM, Berg K. Lipoprotein (a) and atherosclerosis. *Ann of Intern Med* 1991; 115:209-18.



63. Hofler G, Harcourt H, Pashke E, Mirtl W, Pfeiffer KH, Kostner GM. Lipoprotein (a): a risk factor for myocardial infarction. *Arteriosclerosis* 1988; 8:398-401.
64. Rodengren A, Wilhelmsen L, Eriksson E, Risberg B, Wedel H. Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-control study in general population sample of middle aged man. *Br Med J* 1990; 301:1248-51.
65. Utermann G. Genetic architecture and evolution in the lipoprotein (a) trait. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10:133-41.
66. Pati U, Pati N. Lipoprotein (a), atherosclerosis, and apolipoprotein (a) gene polymorphism. *Mol Gen Metabol* 2000; 71:87-97.
67. Perombelon YF, Soutar AK, Knight BL. Variation in lipoprotein(a) concentration associated with different apolipoprotein(a) alleles. *J Clin Invest* 1994; 93:1481-92.
68. Valenti K, Aveyrier E, Aveyrier E, Leaute S, Laporte F, Hadjian AJ. Contribution of apolipoprotein(a) size, pentanucleotide TTTTA repeat and C/T (+93) polymorphisms of the apo (a) gene to regulation of lipoprotein (a) plasma levels in population of young European Caucasians. *Atherosclerosis* 1999; 147:17-24.
69. Magnaghi P, Citterio E, Malgeretti N, Acquaiti F, Ottolenghi S, Taramelli R. Molecular characterisation of the human apo(a)-plasminogen gene family clustered on the telomeric region of chromosome 6 (6q26-27). *Hum Mol Genet* 1994; 3:437-42.
70. Yamamura Y, Yamashiro K, Tsuruoka N, Nakazato H, Tsujimura A, Yamaguchi N. Molecular cloning of a novel brain-specific serine protease with a kringle-like structure and three scavenger receptor cysteine-rich motifs. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 239:386-92.

71. Marcovina SM, Alberts JJ, Jacobs DR Jr i sur. Lipoprotein(a) concentrations and apolipoprotein (a) phenotypes in Caucasians and African Americans. *Arterioscler Thromb* 1993; 13:1037-401.
72. Djurović S, Berg K. Epidemiology of Lp(a) lipoprotein: its role in atherosclerotic/thrombotic disease. *Clin Genet* 1997; 52:281-92.
73. Berglund L, Ramakrishnan R. Lipoprotein(a):elusive cardiovascular risk factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:2219-26.
74. Ciccarese M, Tonolo G, Brizzi P i sur. Serum apolipoprotein(a) concentrations and Apo (a) phenotypes in patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:1505-9.
75. Ramharack R, Barkalow D, Spahr MA. Dominant negative effect of TGF-beta 1 and TNF-alpha on basal and IL 6-induced lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) mRNA expression in primary monkey hepatocyte cultures. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:984-90.
76. Mooser V, Seabra MC, Abedin M, Landschulz KT, Marcovina S, Hobbs HH. Apolipoprotein (a) kringle 4-containing fragments in human urin. Relationship to plasma levels of lipoprotein (a). *J Clin Invest* 1996; 97:858-64.
77. Stenvinkel P, Utermann G, Dieplinger H. Lipoprotein (a) in renal disease. *Am J Kidney Dis* 1996; 24:1-25.
78. Kostner KM, Oberbauer R, Hoffman U, Stefanelli T, Maurer G, Watschinger B. Urinary excretion of apo(a) in patients after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:2673-8.
79. De Sain-Van Der Velden MG, Reijngoud DJ, Kaysen GA i sur. Evidence for increased synthesis of lipoprotein(a) in the nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1474-81.

80. Spencer CP, Godsland IF, Stevenson JC. Is there a menopausal metabolic syndrome? *Gynecol Endocrinol* 1997; 11:429-55.
81. Shlipak G, Somin JA, Vittinghoff E. Estrogen and progestin, lipoprotein(a) the risk of recurrent coronary heart disease after menopause. *J Am Med Assoc* 2000; 283:1845-52.
82. Marcovina SM, Lippi G, Bagatell CJ, Bremner WJ. Testosterone-induced suppression of lipoprotein(a) in normal man;relation to basal lipoprotein(a) level. *Atherosclerosis* 1996; 122:89-95.
83. Engler H, Riesen WF. Effect of thyroid function on concentrations of lipoprotein(a). *Clin Chem* 1993; 39:2466-9.
84. Tzotzas T, Krassas GE, Kostantinidis T, Bougoulia M. Changes in lipoprotein(a) levels in overt and subclinical hypothyroidism before and during treatment. *Thyroid* 2000; 10:803-8.
85. Maldonado Castro GF, Escobar-Morreale HF, Ortega H i sur. Effect of normalization of GH hypersecretion on lipoprotein(a) and other lipoprotein serum levels in acromegaly. *Clin Endocrinol(Oxford)* 2000; 53: 313-9.
86. Wasser GN. Lipoprotein(a) in android obesity and NIDDM: a new member in «the metabolic syndrome». *Biomed Pharmacother* 1999; 53:432-5.
87. Mackinnon LT, Hubinger L. Effects of exercise on lipoprotein(a). *Sports Med* 1999; 28:11-24.
88. Mackinnon LT, Hubinger L, Lepre F. Effects of physical activity and diet on lipoprotein(a). *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29:1429-36.
89. Marcovina SM, Kennedy H, Bittolo Bon G i sur. Fish intake, independent of apo(a) size, accounts for lower plasma lipoprotein (a) levels in Bantu

fischermen in Tanzania: The Lugalawa Study. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1250-6.

90. Sharpe PC, McGrath LT, McClean E, Young IS, Archbold GP. Effect of red wine consumption on lipoprotein (a) and other risk factors for atherosclerosis. *QJM* 1995; 88:101-8.

91. Paasilta M, Kervinen K, Linnaluoto M, Kesaniemi YA. Alcohol withdrawal-induced change in lipoprotein (a): association with the growth hormone/insulin-like growth factor-I (IGF-I)/IGF-binding protein-1 (IGFBP-1) axis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:650-4.

92. Couper JJ, Bates DJ, Cocciolone R i sur. Association of lipoprotein(a) with puberty in IDDM. *Diabetes Care* 1993; 16:869-73.

93. Heller FR, Jamart J, Honore P i sur. Serum lipoprotein(a) in patient with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993; 819-23.

94. Purnell JQ, Marcovina SM, Hokanson JE i sur. Levels of lipoprotein(a), apolipoprotein B, and lipoprotein cholesterol distribution in IDDM. Result from follow-up in the Diabetes Control and Complications Trial *Diabetes* 1995; 44:1218-26.

95. Neele DM, de Wit EC, Princen HM. Insulin suppresses apolipoprotein(a) synthesis by primary cultures of cynomolgus monkey hepatocytes. *Diabetologia* 1999; 42:41-4.

96. Torres-Tamayo M, Perez-Pasten LE, Barron-Urbe C i sur. Improved metabolic control does not change plasma lipoprotein(a) levels in adolescents with type I diabetes mellitus. *Arch Med Res* 1998; 29:307-12.

97. Kronenberg F, Auinger M, Trenkwalder E, Irsigler K, Utermann G, Dieplinger H. Is apolipoprotein(a) a susceptibility gene for type I diabetes mellitus and related to long-term survival? *Diabetologia* 1999; 42:1021-7.

98. Levitsky LL, Scanu AM, Goild SH. Lipoprotein(a) levels in black and white children and adolescents with IDDM. *Diabetes Care* 1991, 14:283-7.
99. Hafner SM, Morales PA, Stern MP, Gruber K. Lipoprotein (a) concentrations in NIDDM. *Diabetes Care* 1992; 41:1267-72.
100. Jenkis AJ, Steele JS, Janus ED, Santamaria JD, Best JD. Plasma apolipoprotein (a) is increased in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetologia* 1992: 35:1055-9.
101. Rainwater DL, Haffner SM. Insulin and 2-hour glucose levels are inversely related to Lp(a) concentrations controlled for LPA genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1335-41.
102. Emanuele N, Azad N, Abaira C i sur. Effects of intensive glycemic control on fibrinogen, lipids and lipoproteins. Veterans Affairs Cooperative Study in Type II Diabetes Mellitus. *Arch Intern Med* 1998; 158:2485-90.
103. Kiayias JA, Vlachou ED, Lakka Papadodima EL. Metformin and lipoprotein(a) levels. *Diabetes Care* 1999; 22:857.
104. Matsumoto K, Miyake S, Yano M, Veki Y, Tominaya Y. Increase of lipoprotein(a) with troglitazone. *Lancet* 1997; 350:1748-9.
105. Utermann G. The mysteries of lipoprotein(a). *Science* 1989; 246:904-10.
106. Pepin JM, O 'Neil JA, Hoff HF. Quantification op apo(a) and apo B in human atherosclerotic lesions. *J Lipid Res* 1991; 32:317-27.
107. Edelberg JM, Pizzo SV. Lipoprotein(a) in the regulation of fibrinolysis. *J Atheroscler Thromb* 1995; 2 Supple1:S5-7.
108. Yano Y, Shimokawa K, Okada Y, Noma A. Immunolocalization of lipoprotein(a) in wounded tissues. *J Histochem Cytochem* 1997; 45:559-68.

109. van der Hoek YY, Sangrar W, Cote GP, Kastelein JJ, Koschinsky ML. Binding of recombinant apolipoprotein(a) to extracellular matrix proteins. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:1792-8.
110. Ribatti D, Vacca A, Giacchetta F i sur. Lipoprotein (a) induces angiogenesis on the chick embryo chorioallantoic membrane. *Eur J Clin Invest* 1998; 28:533-7.
111. O'Reilly MS. Angiostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and of tumor growth. *EXS* 1997; 79:273-94.
112. Aguzzi A. Prion diseases, blood and the immune system: concerns and reality. *Haematologica* 2000; 85:3-10.
113. Dangas G, Mehran R, Harpel PC i sur. Lipoprotein(a) and inflammation in human coronary atheroma: association with the severity of clinica presentation. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:2035-42.
114. Reblin T, Meyer N, Labeur C, Henne-Bruns D, Beisiegel U. Extraction of lipoprotein(a), apo B and apo E from frech human arterial wall and atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 1995; 113:179-88.
115. Cushing GL, Gaubatz JW, Nava ML i sur. Quantitation and localization of apolipoprotein(a) and B in coronary artery bypass vein grafts resected at reoperation. *Arteriosclerosis* 1989; 9:593-603.
116. Pillarisetti S, Paka L, Obunike JC, Berglund L, Goldberger IJ. Subendothelial retention of lipoprotein (a). Evidence that reduced heparan sulfate promotes lipoprotein binding to subendothelial matrix. *J Clin Invest* 1997; 100:867-74.
117. Hofer G, Steyrer E, Kostner GM, Hermetter A. LDL-mediated interaction of Lp(a) with HepG2 ceells: a novel fluorescence microscopy approach. *J Lipid Res* 1997; 38:2411-21.

118. Yano Y, Seishima M, Tokoro Y, Noma A. Stimulatory effects of lipoprotein(a) and low-density lipoprotein on human umbilical vein endothelial cell migration and proliferation are partially mediated by fibroblast growth factor-2. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1393:26-34.
119. Poon M, Zhang X, Dunsky K, Taubman MB, Harpel PC. Apolipoprotein (a) is a human vascular endothelial cell agonist: studies on the induction in endothelial cells of monocyte chemotactic factor activity. *Clin Genet* 1997; 52:308-13.
120. Zhao S, Xu D. Oxidized lipoprotein(a) enhanced the expression of P-selectin in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Res* 2000; 100:501-10.
121. Grainger DJM, Kemp PR, Metcalfe JC i sur. The serum concentration of active transforming growth factor  $\beta$  is severely depressed in advanced atherosclerosis. *Int Med* 1995; 1:74-9.
122. Lawn RM, Pearle AD, Kunz LL i sur. Feedback mechanism of focal vascular lesion formation in transgenic apolipoprotein(a) mice. *J Biol Chem* 1996; 271:31367-71.
123. Galle J, Schneider R, Heinloth A i sur. Lp(a) and LDL induce apoptosis in human endothelial cells and rabbit aorta: role of oxidative stress. *Kidney Int* 1999; 55:1450-61.
124. Klezovitch O, Edelstein C, Scanu AM. Stimulation of interleukin-8 production in human TPH-1 macrophages by apolipoprotein(a): evidence for a critical involvement of elements in its C-terminal domain. *J Biol Chem* 2001; 276:46864-9.
125. Wilink HW, de Kleijn MJ, Bots ML i sur. Lipoprotein (a) is associated with endothelial function in healthy postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2000; 153:249-54.

126. Papagrikorakis E, Iliopoulos D, Asmacopoulos PJ i sur. Lipoprotein(a) in plasma, arterial wall and thrombus from patients with aortic aneurysms. *Clin Genet* 1997; 52:262-71.
127. Rath M, Niendorf A, Reblin T, Dietel M, Krebber HJ, Beisiegel U. Detection and quantification of lipoprotein (a) in the arterial wall of 107 coronary bypass patients. *Arteriosclerosis* 1989; 9:579-9.
128. Hajjar KA, Hamel NM, Harpel PC, Nachman RL. Binding of tissue plasminogen activator to cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1987; 80:1712-9.
129. Edelberg JM, Pizzo SV. Lipoprotein(a): the link between impaired fibrinolysis and atherosclerosis. *Fibrinolysis* 1991; 5:135-43.
130. Klose R, Fresser F, Kochl S i sur. Mapping of a minimal apolipoprotein(a) interaction motif conserved in fibrin(ogen) beta and gamma chains. *J Biol Chem* 200; 275:38206-12.
131. Karadi I, Kostner GM, Gries A i sur. Lipoprotein(a) and plasminogen are immunologically related. *Biochim Biophys Acta* 1988; 960:91-7.
132. Edelberg JM, Gonzales Gronow M, Pizzo SV. Lipoprotein(a) inhibits streptokinase mediated activation of human plasminogen. *Biochemistry* 1989; 28:2370-4.
133. Edelberg JM, Pizzo SV. Kinetic analysis of the effects of heparin and lipoproteins on tissue plasminogen activator mediated plasminogen activation. *Biochemistry* 1990; 29:5906-11.
134. Edelberg JM, Weissler M, Pizzo SV. Kinetic analysis of the effects of glycosaminoglycans and lipoproteins on urokinase-mediated plasminogen activator. *Biochemical J* 1991; 276:785-91.



135. Etingin OR, Hajjar DP, Hajjar KA, Harpel PC, Nachman RL. Lipoprotein (a) regulates plasminogen activator inhibitor 1 expression in endothelial cells. A potential mechanism in thrombogenesis. *J Biol Chem* 1991; 266:2459-38.
136. Levin EG, Miles LA, Fless GM i sur. Lipoproteins inhibits the secretion of the tissue plasminogen activator from human endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:438-42.
137. Doucet C, Huby T, Ruiz J, Chapman MJ, Thiller J. Non-enzymatic glycation of lipoprotein(a) in vitro and in vivo. *Atherosclerosis* 1995; 118:135-43.
138. Klaya F, Durlach V, Bertin E, Monier F, Monboisse JC, Gyllery P. Evaluatino of serum gycated lipoprotein(a) levels in noinsulin-dependent diabetic patients. *Clin Biochem* 1997; 30:227-30.
139. Zhang J, Ren S, Shen GX. Glycation amplifies lipoprotein(a)-induced alterations in the generation of fibrinolytic regulators from human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis* 2000;150:299-308.
140. Foody JM, Milberg JA, Robinson K, Pearce GL, Jacobson DW, Sprecher DL. Homocysteine and lipoprotein(a) interact to increase CAD risk in young men and women. *Arteriosler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:493-9.
141. McDowell IF, Lang D. Homocystein and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. *J Nutr* 2000; 130(Suppl):369S-72S.
142. Gazzaruso C, Garzaniti A, Buscaglia P i sur. Assotiacion between apolipoprotein(a) phenotypes and coronary heart disease at young age. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:157-63.
143. Marcovina SM, Koschynsky ML. Lipoprotein (a) concentration and apolipoprotein (a) size. A synergistic role in advanced atherosclerosis? *Circulation* 1999; 100:1151-3.

144. Evans RW, Spilberg O, Shaten BJ, Ali S, Kamboh MI, Kuller LH. Prospective association of lipoprotein(a) concentrations and apo(a) size with coronary heart disease among men in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *J Clin Epidemiol* 2001; 54:51-7.
145. Guerra R, Yu Z, Marcovina S, Peshock R, Cohen JC, Hobbs HH. Lipoprotein (a) and apolipoprotein (a) isoforms: no association with coronary artery calcification in the Dallas Heart Study. *Circulation* 2005; 111:1471-79.
146. Katsouras CS, Karabina SA, Tambaki AP i sur. Serum lipoprotein(a) concentrations and apolipoprotein(a) isoforms: association with the severity of clinical presentation in patients with coronary heart disease. *J Cardiovasc Risk* 2001; 8:311-7.
147. Ulrich S, Hingorani AD, Martin J, Vallance P. What is the optimal age for starting lipid lowering treatment? A mathematical model. *BMJ* 2000; 320:1134-40.
148. Cremer P, Nagel D, Labort B i sur. Lipoprotein(a) as predictor of myocardial infarction in comparison to fibrinogen, LDL cholesterol and other risk factors: results from the prospective Gottingen Risk Incidence and Prevalence Study (GRIPS). *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 444-53.
149. Lippi G, Guidi G. Lipoprotein (a): an emerging cardiovascular risk factor. *Clin Lab Sci* 2003; 40(1):1-42.
150. Assman G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996; 77:1179-84.
151. Dahlen G, Stenlund H. Lipoprotein(a) is a major risk factor for cardiovascular disease: pathogenic mechanism and clinical significance. *Clin Genet* 1997; 52:272-80.

152. Sechi LA, Catena C, Casaccio D, Zingaro L. Lipoprotein (a), haemostatic variables and cardiovascular damage in hypertensive patients. *J Hypertens* 2000;18:709-716.
153. Morishita E, Asakura H, Jokaji H i sur. Hypercoagulability and high lipoprotein(a) levels in patients with type II diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1996; 120:7-14.
154. Matsumoto Y, Daida H, Watanabe Y i sur. High level of lipoprotein(a) is a strong predictor for progression of coronary disease. *J Atheroscler Thromb* 1998; 5:47-53.
155. Kanemitsu S, Takekoshi N, Marsui S i sur. Short-term and long-term effects of low-density lipoprotein (LDL) apheresis on restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): is lowering Lp(a) by LDL apheresis effective on restenosis after PTCA? *The Apher* 1998; 2:65-70.
156. Mosca L. The role of hormone replacement therapy in the prevention of postmenopausal heart disease. *Arch Inter Med* 2000; 160:2263-72.
157. Sato H, Suzuki S, Ueno M i sur. Localization of apolipoprotein (a) and apo B-100 in various renal disease. *Kidney Int* 1993; 43:430-5.
158. Lip PI, Blann AD, Jones AF, Lip GY. Abnormalities in haemorheological factors and lipoprotein (a) in retinal vein occlusion: implications for insreased vascular risk. *Eye* 1998; 12:245-51.
159. Fortmann SP, Marcovina SM. Lipoprotein(a), a clinically elusive lipoprotein particle. *Circulation* 1997; 95:295-6.
160. Berg-Schilth E, Klausen IC, Kristensen SD, Lervang HH, Faergeman O, Dyerberd J. The effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on Lp(a). *Clin Chim Acta* 1991; 198:271-8.

161. Dobs AS, Prasad M, Glodberg A, Guccione M, Hoover DR. Changes in serum lipoprotein(a) in hyperlipidemic subjects undergoing long-term treatment with lipid-lowering drugs. *Cardiovasc Drug Ther* 1995; 9: 677-84.
162. Ramharack R, Spahr MA, Hicks GW i sur. Gemfibrozil significantly lowers cynomolgus monkey plasma lipoprotein(a)-protein and liver apolipoprotein(a) mRNA levels. *J Lipid Res* 1995; 36:1294-304.
163. Maggi FM, Biasi GM, Catapano AL. Reduction of Lp(a) plasma levels by bezafibrate. *Atherosclerosis* 1993; 100:127-8.
164. Seed M, O'Connor B, Perombelon N, O'Donnell M, Reaveley D, Knight BL. The effect of nicotinic acid and acipimox on lipoprotein (a) concentration and turnover. *Atherosclerosis* 1993; 101:61-8.
165. Tanaka K, Hayachi K, Shingu T i sur. Pentaerythritol tetranicotinate (niceritrol) decreases plasma lipoprotein(a) levels. *Metabolism* 1997; 46:355-8.
166. Guyton JR, Blazing MA, Hagar J i sur. Extended-release niacin vs gemfibrozil for the treatment of low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Niaspan-Gemfibrozil Study Group. *Arch Intern Med* 2000; 160:1177-84.
167. Goldberg A, Alagona P, Capuzza DM i sur. Multiple-dose and safety of the an extended-release form of niacin in the management of hyperlipidemia. *Am J Cardiol* 2000; 85:1100-5.
168. Gurakar A, Hoeg J, Kostner G, Papanndopoulos N, Brewer Jr H. Levels of lipoprotein (a) decline with neomycin and niacin treatment. *Atherosclerosis* 1985; 57:293.

169. Bambauer R, Schiel R, Latza R. Low density lipoprotein apheresis in treatment of hyperlipidemia: experience with four different technologies. *Ther Apher* 2000; 4:213-7.
170. Kroon AA, van't Hof MA, Demacker PN, Stalenhoef AF. The rebound of lipoproteins after LDL-apheresis. Kinetics and estimation of mean lipoprotein levels. *Atherosclerosis* 2000; 152:519-526.
171. Dardik BN, Schwartzkopf CD, Stevens DE, Chalelain RE. A quantitative assay for non-covalent association between apolipoprotein (a) and apolipoprotein B: an alternative measure of Lp(a) assembly. *J Lipid Res* 2000; 41:1013-9.
172. Kagawa A, Azuma H, Akaihe M, Kanagawa Y, Matsumoto T. Aspirin reduces apolipoprotein(a) (apo(a)) production in human hepatocytes by suppression of apo(a) gene transcription. *J Biol Chem* 1999; 274:34111-5.
173. Urbina EM, Srinivasan SR, Tang RM, Bond MG, Kieltyka L, Berenson GS. Impact of multiple coronary risk factors on intima-media thickness of different segments of carotid artery in healthy young adults (The Bogalus Heart Study). *Am J Cardiol* 2002; 90:953-58.
174. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX i sur. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol* 2000; 151:478-487
175. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L i sur. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Inter Med* 1998; 128:262-9.
176. Niskanen L, Rauramaa R, Miettinen H, Haffner SM, Mercuri M, Uusitupa M. Carotid artery intima-media thickness in elderly patients with NIDDM and in non-diabetic subjects. *Stroke* 1996; 27:1986-1992.

177. Yamamoto M, Egusa G, Yamakido M. Carotid atherosclerosis and serum lipoprotein(a) concentrations in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20(5):829-31.
178. Boras J. Karotidna ateroskleroza i serumska koncentracija lipoproteina(a) u osoba s tipom 2 šećerne bolesti (magisterij). Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2000, str.63.
179. Yamasaki Y, Kodama M, Nishizawa H i sur. Carotid intima-media thickness in Japanese type 2 diabetes subjects. *Diabetes Care* 2000; 23(9):1310-5.
180. WHO study group on Diabetes mellitus, Geneva. Diabetes mellitus. Report of a WHO 1995; 724:9-20.
181. Lippi G, Veraldi GF, Dorucci V i sur. Usefulness of lipids, lipoprotein(a) and fibrinogen measurements in indentifying subjects at risk of occlusive complications following vascular and endovascular surgery. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58:497-504.
182. Pignoli P. Ultrasound B-Mode imaging for arterial wall thickness measurement. *Atheroscler Rev* 1984; 12:177-84.
183. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus media thickness of the arterial wall: A direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74:1399-406
184. Salonen J, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk if coronary heart disease. *Atheroscler Thromb* 1991; 11:1245-9.
185. Tate JR, Rifai N, Berg K i sur. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for the measurment op lipoprotein(a) assy system and commercial calibration. *Cl Chem* 1998; 44:1620-40.

186. Stein EA, Myers GL. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Second edition. Philadelphia: W:B-Saunders Company; 1994.
187. Nauck M, Maerz W, Haas B, Wieland H. Homogenous assay for direct determination of high-density lipoprotein cholesterol evaluated. Clin Chem 1996; 42:424-9.
188. Friedwald WT, Levy RI, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol without the use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18:499.
189. Vučić M, Petrović S, Mesić R, Ročić B. An automated immunoturbidimetric assay for HbA1c determination. Diab Croat 1998; 27:81-4.
190. Rowe DJF, Dawnay A, Watts GF. Microalbuminuria in diabetes mellitus: review and recommendation for the measurement of albumin in urine. An Clin Biochem 1990; 27: 297-312.
191. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. The JNC VII report. JAMA 2003; 289:2560-72.
192. 2003 European Society of Hypertension - European Society of Cardiology Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. J Hypertens 2003; 21:1011-153.
193. WHO Physical status: the use of interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva, World Health Organisation, Technical Report Series 1995; 854:368:9.
194. Renningen W, Wendtt GG, Weingand NH. Beitrag zur problematik der Lp-systems. Humangenetik 1965; 1:658-67.

195. Dahlen GH, Ericson C, Furberg C, Lundvist L, Svardsudd K. Angina of effort and an extra pre-beta lipoprotein fraction. *Acta Med Scand* 1972; 531:11-24.
196. Hoff HF, Beck GJ, Skibinski CI i sur. Serum lp(a) as predictor of vein stenosis after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 1998; 77:1238-44.
197. Desmarais RL, Sarembock IJ, Ayers CR, Vernon SM, Powers ER, Gimble LW. Elevated serum lipoprotein (a) is a risk factor for clinical recurrence after balloon coronary angioplasty. *Circulation* 1995; 91:1403-9.
198. Brown S, Morrisett J, Boerwinkle E, Hutchinson R, Patsch W. The relation of lipoprotein (a) concentrations and apolipoprotein (a) phenotypes with asymptomatic atherosclerosis in subjects of the Atherosclerosis Risk Communities (ARIC) Study. *Atheroscler Thromb* 1993; 13:558-66.
199. Jauhianen M, Koskinen P, Ehnholm C i sur. Lipoprotein (a) and coronary heart disease risk: a nested case-control study of Helsinki heart study participants. *Atherosclerosis* 1991; 89:59-67.
200. Alfthan G, Pekkanen, Jauhianen M i sur. Relation of serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations to atherosclerotic disease in Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994; 106:9-19.
201. Ridker PM, Hennekens ChH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and risk of myocardial infarction. *J Am Med Assoc* 1993; 270:2195-9.
202. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000; 102:1082-5
203. Cantin B, Gagon F, Moorjani S i sur. Is lipoprotein(a) an independent risk factor for ischaemic heart disease in men? The Quebec cardiovascular study. *J Am Cardiol Coll* 1998; 31:519-25.



204. Haffner SM, Moss SE, Klein BE i sur. Lack of association between lipoprotein(a) concentrations and coronary heart disease mortality in diabetes: The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Metabolism* 1992; 41:194-7.
205. Von Eckardstein A, Schulte H, Cullen P, Assman G. Lipoprotein (a) futher increases the risk of coronary events in men with high global cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:434-9.
206. Seman LJ, DeLuca C, Jenner JL i sur. Lipoprotein (a)-cholesterol and coronary heart disease in the Framingham Heart Study: *Clin Chem* 1999; 45:1039-46.
207. Rosergrén A, Wihelmsen L, Eriksson E, Risberg B, Wedel H. Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-control study in a general population sample of middle men. *Br Med J* 1990; 301:1248-51.
208. Sigurdsson G, Baldursdottir A, Sigvaldaston H, Agnarsson U, Thorgeirsson G, Sigfusson N. Predictive value of apolipoproteins in a prospective survey of coronary artery disease in man. *Am J Cardiol* 1992; 69:1251-4.
209. Shlipak MG, Simon JA, Vitnnghoff E i sur. Estrogen and progesterin, lipoprotein (a), and the risk of recurrent coronary heart disease after menopause. *JAMA* 2000; 283:1845-52.
210. Lippi G, Arosio E, Prior M, Guidi G. Biochemical risk factors for cardiovascular disease in an aged male population. Emphasis on emerging pathogens. *Angiology* 2001; 52:681-7.
211. Milionis HJ, Winder AF, Mikhailidis DP. Lipoprotein (a) and storke. *J Clin Pathol* 2000; 53:487-96.

212. Willeit J, Kiechl S, Santer P i sur. Lipoprotein(a) and asymptomatic carotid artery disease. Evidence of prominent role in the evolution of advanced carotid plaques: the Bruneck Study. *Stroke* 1995; 26:1582-7.
213. Cheng SW, Ting AC, Wong J. Lipoprotein (a) and its relationship to risk factors and severity of atherosclerotic peripheral vascular disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 14:17-23.
214. Von Depka M, Nowak-Gottl U, Eister R i sur. Increased lipoprotein (a) levels as an independent risk factor for venous thromboembolism. *Blood* 2000; 96:3364-8.
215. Lippi G, Bassi A, Brocco G, Manzato F, Marini M, Guidi G. Lipoprotein (a) concentration is not associated with venous thromboembolism in a case control study. *Haematologica* 1999; 84:729-9.
216. McColl MD, Sattar N, Ellison J i sur. Lipoprotein(a), cholesterol and triglycerides in women with venous thromboembolism. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000; 11:225-9.
217. Orem A, Deger O, Cimist G, Karahan SC, Akyol N, Yildirmis S. Plasma lipoprotein (a) and relationship with disease activity in patients with Behcet's disease. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33:473-8.
218. Atsumi T, Khamashta MA, Andujar C i sur. Elevated plasma lipoprotein (a) level and its association with impaired fibrinolysis in patients with antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1998; 25:69-73.
219. Mooser V, Scheer D, Marcovina SM i sur. The apo(a) gene is the major determinant of variation in plasma Lp(a) levels in African Americans. *Am J Hum Gen* 1997; 61:402-17.
220. Barkley RA, Brown AC, Hanis CL, Kardia SL, Turner ST, Boerwinkle E. Lack of genetic linkage evidence for a trans-acting factor having a large effect

on plasma lipoprotein(a) levels in African Americans. *J Lipid Res* 2003; 44:1301-05.

221. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340:14-22.

222. Cheng K, Mikhailidis D, Hamilton G, Seifalian A. A review of the carotid and femoral intima media thickness as an indicator of the presence of peripheral vascular disease and cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Res* 2002; 54:528-38.

223. Salonen R, Salonen JT. Progression of carotid atherosclerosis and its determinants: a population-based ultrasonography study. *Atherosclerosis* 1990; 81:33-40.

224. Yamasaki Y, Kawamori R, Matsushima H i sur. Atherosclerosis in carotid artery of young IDDM patients monitored by ultrasound high-resolution B-mode imaging. *Diabetes* 1994; 43:634-9.

225. Koskinen P, Manttari M, Manninen V, Hutunen JK, Heinonen OP, Frick MH. Coronary heart disease incidence in NIDDM patients in the Helsinki Heart Study. *Diabetes Care* 1992; 15:820-5.

226. Haffner SM , D'Agostino Rjr, Mykkanen L i sur. Insulin sensitivity in subjects with tipe 2 diabetes: relationship to cardiovascular risk factors: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 1999; 22:562-8.

227. Bjorkegren J, Karpe F, Milne RW, Hamsten A. Differences in apolipoprotein and lipid composition between human chylomicron remnants and very low density lipoproteins isolated from fasting and postprandial plasma. *J Lip Res* 1998; 39:1412-20.

228. Teno S, Uto Y, Nagashima H i sur. Assotiation of postprandial hypertriglyceridemia and carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23:1401-6.

229. Visona A, Luisiani L, Bonanome A i sur. Wall thickening of common carotid arteries in patinets affected by noninsulin-dependent diabetes mellitus: relationship to microvascular complications. *Angiology* 1995; 46:793-9.

230. Iwamoto T, Fukuda S, Shimizu S, Takasaki M. Long-term effect of lipoprotein(a) on carotid atherosclerosis in elderly Japanese. *Journal of Gerontology Series A-Biological Sciences&Medical Sciences* 2004; 59:62-7.

231. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR i sur. Assotiation of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickenss and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*; 146:483-94.

232. Schreiner PJ, Heiss G, Tyroler HA i sur. Race and gender difference in the association of Lp(a) with carotid artery wall thickness. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:471-8.

233. Moliterno DJ, Jokinen EV, Miserez AR i sur. No association between plasma lipoprotein (a) concentrations and the presence of absence of coronary atherosclerosis in African-Americans. *Aterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:850-5.

234. Kroneberg F, Kroneberg MF, Kiechl S i sur. Role of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotipe in atherogenesis:prospective results from Bruneck Study. *Circulation* 1999; 100:1154-60.

235. Paultre F, Tuck CH, Borden-Abala B i sur. Relation of apo(a) size to carotid atherosclerosis in an elderly multiethnic population, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:141-6.

236. Haffner SM. Lipoprotein(a) and diabetes. *Diabetes Care* 1993; 16:835-40.
237. Velmurung K, Deepa R, Ravikumar R i sur. Relationship of lipoprotein(a) with intimal medial thickness of the carotid artery in Type 2 diabetic patients in south India. *Diabet Med* 2003; 20:455-61.
238. Hiraga T, Kobayachi T, Okuba M i sur. Prospective study of lipoprotein(a) as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1995; 18:241-4.
239. Tostad S, Joakimsen O, Stensland-Bugge E i sur. Risk factoris related to carotid intima-media thickness and plaque in children with familiar hypercholesterolemia and control subjects. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:984-91.
240. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in Type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2003; 348:2294-303.
241. Zannad F, Benetos A. Genetics of intima-media thickness. *Current Opin Lipidol* 2003; 14:191-200.
242. McGill HC, McMahan CA, Herderick EH i sur. Effects of coronary heart disease risk factors on atherosclerosis of selected regions of tha aorta and right coronary artery: PDAY research group: Pathobiological Determinations of Atherosclerosis in Youth. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:836-45.
243. Simon A, Gariepy J, Chironi G i sur. Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatmen of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002; 20:159-69.

244. Zanchetti A, Bond G, Henning G i sur. Calcium antagonist lacipidine slows down progression of asymptomatic carotid atherosclerosis. Principal results of the European Lacipidine Study on Atherosclerosis (ELSA), a randomized, double-blind, long-term trial. *Circulation* 2002; 106:r47-r52.

245. Lonn EM, Yusuf S, Dzavik V i sur. Effects of ramipril and vitamin E on atherosclerosis: The Study od Evaluate Carotid Ultrasound changes in patients treated with Ramipril and vitamin E (SECURE). *Circulation* 2001; 103:919-25.

246. Hedblad B, Wikstrand J, Janzon L i sur. Low-dose metopprolol CR/XL and fluvastatin slow progression of carotid intima-media thickness: main results from the  $\beta$ -Blocker Cholesterol-Lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS). *Circulation* 2001; 103:1721-6.

247. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workchop on lipoprotein (a) and cardiovascular disease: recent advances and future directions. *Clin Chem* 2003; 49:1785-96.

248. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive summary of the third report of the National Cholesterol Edfucation Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of Higt Blood Cholesterol in Adults (ATP III). *JAMA* 2001; 285:2486-97.

249. White AL, Lanford RE. Biosynthesis and metabolism of lipoprotein (a). *Curr Opin Lipidol* 1995; 6:75-80.

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 15. ožujka 1959. godine u Hardomilju, općina Ljubuški, Republika Bosna i Hercegovina. Osnovnu i srednju školu završio sam u Ljubuškom. U Zagrebu sam upisao Medicinski fakultet 1978. godine gdje sam diplomirao 1984. godine. Stručni ispit položio sam u Varaždinu 1986. godine, a od 1986. do 1995. radio sam u Bolnici za plućne bolesti i TBC Klenovnik. Specijalistički ispit iz interne medicine položio sam 1993. godine u Zagrebu. Od 1995. do 1997. godine radio sam u Domu zdravlja MUP-a Republike Hrvatske. Poslijediplomski studij iz Kardiovaskularnih bolesti završio sam u Zagrebu. Stupanj magistra znanosti iz područja medicine (kardiovaskularne bolesti) stekao sam 2000. godine. Od 1997. godine radim u Sveučilišnoj klinici za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac. Subspecijalistički ispit iz kardiologije položio sam 2005. godine. Aktivno sam sudjelovao na više domaćih i međunarodnih kongresa. Do sada sam objavio devet stručnih i znanstvenih radova.