GEN ZA ANGIOTENZIN I-KONVERTIRAJUĆI ENZIM U BOLESNIKA S ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE

Pešut, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:707601

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository

zir.nsk.hr

UNIRI DIGITALNA KNJIŽNICA

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Iva Pešut

GEN ZA ANGIOTENZIN I-KONVERTIRAJUĆI ENZIM U BOLESNIKA S ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE

Završni rad

Rijeka, 2019.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Iva Pešut

GEN ZA ANGIOTENZIN I-KONVERTIRAJUĆI ENZIM U BOLESNIKA S ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE

Završni rad

Rijeka, 2019.

Mentor rada: Izv. prof. dr. sc. Nada Starčević Čizmarević, dipl.ing.sanit.

Završni rad obranjen je dana 12.07.2019. u/na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Doc.dr.sc. Sergej Nadalin
2. Doc.dr.sc. JadrankaVraneković
3. Izv.prof.dr.sc. Nada Starčević Čizmarević

Rad ima 27 stranica, 6 slika, 8 tablica, 31 literaturni navod.

ZAHVALA

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem mojoj mentorici izv.prof. dr. sc. Nadi Starčević Čizmarević, dipl.ing.sanit. na neizmjernom strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi ovog završnog rada.

Također, zahvaljujem se svim svojim prijateljima što sam imala priliku s njima podijeliti mnoge lijepe trenutke u protekle tri godine.

I na kraju, najveće hvala mojim roditeljima i bratu koji su bili uvijek tu za mene bez obzira na sve, koji su mi pružali najveću podršku kada mi je bilo teško i kada ni sama nisam vjerovala da ću uspjeti.

Hvala Vam svima od srca!!

SAŽETAK

Prekomjerna uporaba alkohola utječu na milijune pojedinaca širom svijeta, uzrokuje povećane socijalne i ekonomske troškove, narušava zdrastveno stanje bolesnika, koje sve većom konzumacijom alkohola uzrokuje ozbiljna oštećenja jetre.

Alkoholna ciroza jetre je kronična bolest jetre uzrokovana dugotrajnom konzumacijom alkohola. Povezana je s izraženim morbiditetom, smrtnošću i skraćivanjem očekivanog trajanja života. Težina i prognoza alkoholom izazvane bolesti jetre ovise o količini, uzorku i trajanju konzumacije alkohola, kao i o prisutnosti upale jetre, prehrani, nutritivnom statusu i genetskoj predispoziciji pojedinca.

Ciroza jetre potencijalno se povezuje s povišenom koncentracijom angiotenzin I-konvertirajućeg enzima (ACE) u bolesnika kod kojih je prisutan I/D polimorfizam ACE gena. ACE katalizira hidrolizu angiotenzina I u angiotenzin II koji je snažan vazokonstriktor, te tako može biti uzrok hipertenzije, moždanog udara, dijabetičke nefropatije i dr.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi postoji li genetska predispozicija za nastanak ciroze jetre u pojedinaca u ovisnosti o ACE genu.

U istraživanje je bilo uključeno 128 oboljelih od alkoholne ciroze jetre i 128 kontrolnih ispitanika. Uspoređivala se učestalost II, ID i DD genotipova, te I i D alela među oboljelima i kontrolama, te kod muškaraca i žena. Rezultati nisu pokazali statistički značajnu razliku ACE I/D genotipova i alela među ispitivanim skupinama ($p \geq 0,05$).

Na kraju istraživanja možemo zaključiti kako genski polimorfizam I/D u ACE genu nije pokazao moguću predispoziciju za razvitak ciroze jetre u naših bolesnika, iako su potrebna daljnja istraživanja s većim brojem ispitanika kako bi se donijeli konačni zaključci.

Ključne riječi: Alkoholna ciroza jetre, Angiotenzin I-konvertirajući enzim (ACE), I/D genski polimorfizam

SUMMARY

Alcohol abuse affects millions of individuals around the world. Alcohol consumption, in addition to causing increased social and economic costs, also disturbs the health of the patient, which is increasingly caused by alcohol consumption, causing severe liver damage.

Alcoholic liver cirrhosis is a chronic liver disease caused by long-term alcohol consumption. It is associated with pronounced morbidity, mortality, and shortening life expectancy. The weight and the prognosis of the alcohol-induced liver disease depend on the amount, sample and duration of alcohol consumption, as well as the presence of liver inflammation, nutrition, nutritional status and genetic predisposition of the individual.

Liver cirrhosis is associated with elevated concentration of angiotensin I-converting enzyme (ACE) in patients with I / D polymorphisms of ACE genes. ACE catalyzes the hydrolysis of angiotensin I in angiotensin II which is a potent vasoconstrictor, so it can be the cause of hypertension, stroke, diabetic nephropathy and so on.

The aim of this study was to determine whether genetic predisposition to liver cirrhosis occurs in individuals with different ACE genotypes.

The study included 128 patients with alcoholic cirrhosis and 128 healthy patients. The frequency of II, ID and DD genotypes, and I and D alleles and controls, and in men and women were compared. The study did not establish a statistically significant ratio among the respondents to the groups regarding ACE I/D genotypes and alleles ($p \geq 0,05$). At the end of the study, it can be concluded that the genetic polymorphism I / D in ACE gene has not shown a possible predisposition to the development of liver cirrhosis in our patients, although further research with a larger number of subjects is needed to reach final conclusions.

Keywords: Alcoholic cirrhosis of the liver, Angiotensin I-converting enzyme (ACE), I / D gene polymorphism

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1 GRAĐA I FUNKCIJA JETRE 1
1.1.1 METABOLIČKE PROMJENE USLIJED KONZUMACIJE ALKOHOLA 2
1.2 CIROZA JETRE 3
1.2.1 PATOGENEZA 3
1.2.2 KLINIČKA SLIKA I DIJAGNOSTIKA 4
1.3 GENETSKI FAKTORI KAO ČIMBENICI U CIROZI JETRE 7
1.4 ANGIOTENZIN I – KONVERTIRAJUĆI ENZIM 9
1.5 ACE GEN 10
1.6 POVEZANOST ANGIOTENZIN I – KONVERTIRAJUĆEG ENZIMA S ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE 10
3. ISPITANICI I METODE RADA 12
3.1 ISPITANICI 12
3.2 METODE RADA 12
3.3 IZOLACIJA DNA 12
3.4 LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM - PCR 13
3.5 ELEKTROFOREZA 14
3.6 ANALIZA I/D POLIMORFIZMA ACE GENA 14
3.7 STATISTIČKA OBRADA REZULTATA 17
5. RASPRAVA 22
6. ZAKLJUČCI 23
7. LITERATURA 24
8. ŽIVOTOPIS 28

1. UVOD

Ciroza jetre je kronična bolest uzrokovana upalnim odgovorima i progresivnom fibrozom. Globalno, najčešći uzroci kronične bolesti jetre uključuju trajnu konzumaciju alkohola, nakon čega slijede infekcije virusnim hepatitisom i bezalkoholna masna bolest jetre. Međutim, na osjetljivost i stupanj oštećenja jetre mogu utjecati genski polimorfizmi koji su povezani s različitom etničkom pozadinom. Posljedično tome, na metaboličke gene utječu varijabilni čimbenici životnog stila okoliša, kao što su prehrana, tjelesna neaktivnost i emocionalni stres, koji su povezani s regionalnim razlikama među populacijama.[1]

Tako je prema učestalosti ciroza jetre peti uzrok smrti u Republici Hrvatskoj, te je prosječna životna dob bolesnika s cirozom jetre oko 50 godina. [2] [3]

1.1 GRAĐA I FUNKCIJA JETRE

Jetra je organ u tijelu čovjeka koji čini oko 2% ukupne tjelesne mase.

Osnovna funkcionalna jedinica jetre jest jetreni režnjić, cilindrična tvorba duljine nekoliko milimetara i promjera 0,8 do 2,0 mm. Jetru čine oko 100.000 pojedinačnih režnjića odnosno lobula u čijem se središtu nalazi centralna vena. Lobule su funkcionalne jedinice jetre i sastoje se od milijuna stanica koje se nazivaju hepatociti. [4]

Za razliku od većine organa, jetra ima dva glavna izvora krvi, portalnu venu koja donosi krv bogatu hranjivim tvarima iz probavnog sustava, te jetrenu arteriju koja dovodi krv bogatu kisikom, dok se krv uklanja pomoću tri hepatalne vene.

Osim jetrenih stanica ili hepatocita, koji su raspoređeni u gredice te ih sa obje strane okružuju sinusi ispunjeni krvlju, postoje još dvije vrste stanica koje oblazu sinuse i mogu fagocitirati bakterije i druge strane tvari, a to su endotelne i *Kupfferove stanice.*[4] [5]

Ispod endotelnog sloja nalaze se Disseovi prolazi, uski prostori koji su spojeni s limfnim žilama te na taj način sudjeluju u uklanjanju viška tekućine iz tih prostora.

Jetra su veliki, kemijski aktivan skup stanica koje izmjenjuju razne supstrate i energiju iz jednog do drugog metabolizma, obrađuju i sintetiziraju tvari koje se zatim prenose u druge dijelove tijela.

Hepatociti su odgovorni za sintezu mnogih proteina u tijelu koji su potrebni za mnoge funkcije, uključujući faktore zgrušavanja krvi i albumin, potrebne za održavanje tekućine u cirkulacijskom sustavu. Jetra je također odgovorna za proizvodnju kolesterola i triglicerida.

Jetra je odgovorna za pretvaranje glukoze u glikogen koji se može pohraniti i u jetri i u mišićnim stanicama, te je posebice važna za održavanje normalne koncentracije glukoze u krvi. Jetra također stvara žuč koja pomaže pri probavi hrane, sudjeluje u oksidaciji masnih kiselina, sintezi velikih količina kolesterola, fosfolipida te u sintezi masti iz bjelančevina i ugljikohidrata.

Jetra igra važnu ulogu u detoksifikaciji tijela pretvaranjem amonijaka, nusprodukta metabolizma u tijelu, u ureu koja se izlučuje u mokraći putem bubrega. Jetra također razgrađuje lijekove i toksine, uključujući alkohol, te pohranjuje vitamine B12, A, D i K, te folnu kiselinu i željezo koje pohranjuje u obliku feritina, a ono je potrebno za stvaranje crvenih krvnih stanica. [4][22]

1.1.1 METABOLIČKE PROMJENE USLIJED KONZUMACIJE ALKOHOLA

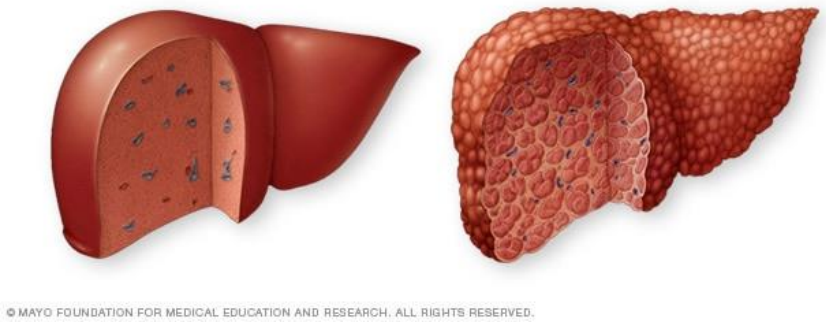
Alkohol se metabolizira kroz nekoliko procesa ili puteva. Najčešći od tih puteva uključuje dva enzima - alkohol dehidrogenazu (ADH) i aldehid dehidrogenazu (ALDH). Ovi enzimi pomažu u razgradnji molekula alkohola, što ga čini jednostavnijim za eliminaciju iz tijela. ADH metabolizira alkohol u acetaldehid, vrlo otrovnu tvar i poznati karcinogen, te se drugom koraku, acetaldehid dalje metabolizira do drugog, manje aktivnog nusprodukta zvanog acetat koji se zatim razlaže u vodu i ugljični dioksid radi lakše eliminacije.[6]

Postoje različiti oblici nekoliko enzima ADH i ALDH koji su kodirani genima pojedinca. Različiti aleli proizvode enzime s različitim svojstvima, što rezultira potencijalnim razlikama u brzini kojom se alkohol ili acetaldehid metaboliziraju. Kao rezultat toga određeni aleli mogu utjecati na odgovor osobe na alkohol, ponašanje pri konzumaciji istog i posljedični rizik razvoja poremećaja uporabe alkohola. Osobe koje posjeduju određene ADH ili ALDH alele imaju značajno nižu stopu ovisnosti o alkoholu.[7]

Alkohol uvelike utječe na pravilnu apsorpciju, probavu i korištenje hranjivih tvari kao što su vitamini, proteini i ugljikohidrati čiji nedostatak vodi ka razvoju bolesti, poremećaja u prehrani i slično. Razgradnjom alkohola u jetri nastaju toksični spojevi koji sadrže kisik, te oni ometaju normalan metabolizam masti što može doprinjeti oštećenju organa, zatim usporava se izlučivanje probavnih enzima iz gušterače. [3] [8]

1.2 CIROZA JETRE

Ciroza jetre je kronična bolest jetre koja je uzrokovana mnogim oblicima jetrenih bolesti i stanja, kao što su hepatitis i dugotrajna konzumacija alkohola. Cirozu jetre karakteriziraju nekroza i degeneracija hepatocita, fibroza i poremećaj u lobularnoj i vaskularnoj građi što posljedično dovodi do velikih komplikacija, kao što su ascites, krvarenje iz gornjeg dijela probavnog sustava, žutica i hepatična encefalopatija.[1][9]



Slika 1. Slika na lijevo prikazuje zdravu jetru, a slika na desno prikazuje cirozu jetre (vidljiva su oštećenja u lobularnij i vaskularnoj građi) [https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/cirrhosis/symptoms-causes/syc-20351487]

1.2.1 PATOGENEZA

Ciroza čini posljednji stadij kroničnih bolesti jetre, a bolest počinje hepatocelularnom nekrozom koju prati regeneracija hepatocita s razvojem nodula koji remete samu građu jetre, dok oštećenje jetre dovodi do procesa fibrogeneze te fibroza slijedi samu nekrozu hepatocita.[3]

Fibrogeneza jetre je ključni čimbenik za progresiju oštećenja jetre kao rezultat prekomjernog odgovora na regeneraciju izazvanu akutnim i kroničnim oštećenjem jetre povezanom s kontinuiranim odlaganjem fibrilarnog kolagena.[1]

Na ovaj način se dešava opstrukcija Disseovih prostora i vaskularnih kapilara, te sinusi gube svoju jedinstvenu strukturu što sve zajedno utječe na smanjenje metaboličke izmjene tvari između krvi i hepatocita.

Početni stupanj fibroze čini reverzibilni proces i mogućnost oporavka hepatocita, dok je ciroza s fibrilnim kolagenom i regeneracijskim nodulima ireverzibilan procesmkoji u konačnici može dovesti do hepatocelularnog karcinoma.[3]

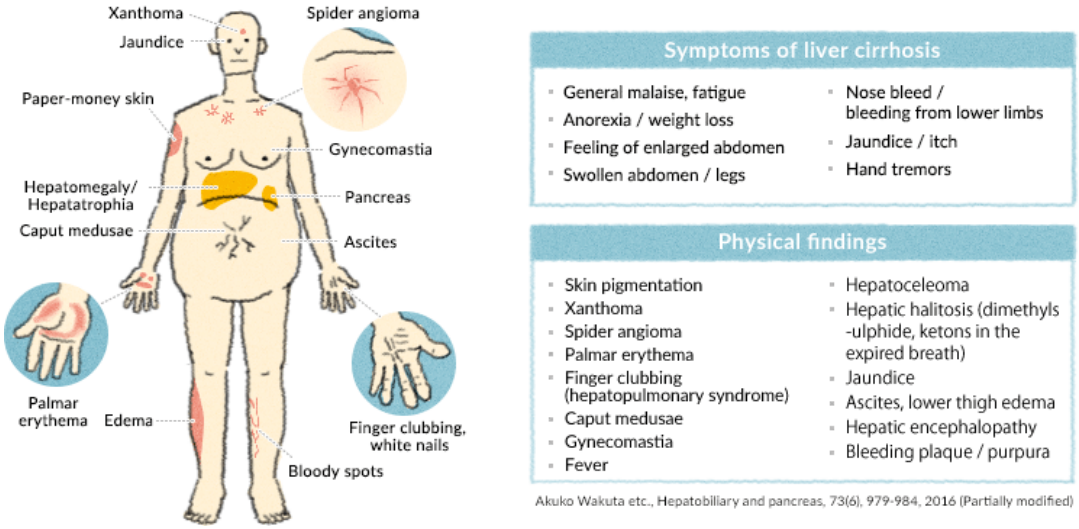
1.2.2 KLINIČKA SLIKA I DIJAGNOSTIKA

Slika 2. prikazuje kliničku sliku ciroze jetre koja je vrlo raznolika i kompleksna, te je za nju karakteristično pogoršanje općeg stanja bolesnika, dolazi do brzog umaranja, mučnine, povraćanja, može doći i do blagog povišenja tjelesne temperature, anoreksije i žutice.

Kakvu će kliničku sliku imati bolesnik uvelike ovisi i o stupnju oštećenja hepatocita kao i o protoku krvi kroz jetru koji je otežan nastankom kolagenskih niti, pa se stoga ciroza jetre može klinički manifestirati sindromom hepatocelularne insuficijencije i sindromom portalne hipertenzije, a kod težih oblika bolesti kombinacijom oba sindroma dolazi do pojave ascitesa i jetrene encefalopatije.[1]

Neki od preostalih znakova koji upućuju na cirozu jetre mogu biti karakterističan zadah iz usta (*foetor hepaticus*), zatim se mogu uočiti paukoliki angiomi (arterije koje poprimaju izgled pauka), palmarni eritremi (progresivna fibroza koja dovodi do ne fleksibilnosti tetive) i razne promjene na noktima kao što su Terryjeve nokti.

Klinička slika ciroze se očituje i u endokrinom sustavu gdje kod muškaraca dolazi do ginekomastije, gubitka dlaka i atrofije testisa, dok se kod žena pojavljuje povećana dlakavost te poremećaj menstrualnih ciklusa i amenoreja. [3]



Slika 2. Ilustracija prikazuje prve simptome ciroze jetre [https://www.otsuka.co.jp/en/health-and-illness/liver-cirrhosis-nutritional-therapy/early-detection/]

Ciroza jetre je u ranoj fazi često asimpstomatska stoga se pacijenti jave liječniku kada je ona uznapredovala, te su jasno vidljivi simptomi.

Dijagnostički postupak se sastoji od četiri dijela: kliničke procjene, laboratorijskih pretraga, radioloških, endoskopskih i nuklearnomedicinskih pretraga te histološke procjene.[3]

Prilikom prvog pregleda pacijenta nužno je napraviti dobru kliničku procjenu pacijenta koja je temeljena na nizu elemenata koji daju uvid u opće stanje pacijenta, dosadašnji tijek bolesti, fazu oštećenja jetre i detekciju komplikacija. Jedan od glavnih čimbenika koje treba utvrditi u ranoj dijagnozi ciroze je količina i trajanje konzumacije alkohola, zatim tu je još moguća infekcija hepatitisom B i C kod koje je važno utvrditi izvor infekcije (mjesto rođenja u endemskom području, ne odgovorno spolno ponašanje, intravenska uporaba droga, slučajna kontaminacija krvlju ili tjelesnim tekućinama). Također, treba uzeti u obzir i osobnu ili obiteljsku anamnezu autoimunih ili jetrenih bolesti, kao i povijest transfuzije. [10] [11]

Prva faza u dijagnostici gotovo svih oboljenja pa tako i kod ciroze jetre su laboratorijski testovi. Inicijalni dijagnostički postupak u procjeni jetrenih funkcija je određivanje „jetrenih serumskih enzima“, a to su aminotransferaze (AST i ALT), alkalna fosfataza (ALP), y-glutamiltransferaza (GGT) i bilirubin. Uvidom u dobivene nalaze može se ustvrditi uzrok i stupanj oštećenja jetre.[3]

Razvoj tehnologije omogućio je primjenu raznih radioloških tehnika, kao što su ultrazvuk, kompjuterizirana tomografija (CT), magnetna rezonancija (MR) i/ili angiografija za precizniju dijagnostiku bolesti.

Konvencionalni transabdominalni ultrazvuk (UTZ) je uobičajena tehnika u kliničkoj dijagnostici. Ultrazvučna dijagnoza alkoholne jetre obično dijagnosticira stanje bolesti, učinkovito procjenjuje stupanj bolesti i omogućava nam ciljanu biopsiju žarišnih promjena u jetri. Druge prednosti, kao što su jednostavna operacija, ne uzrokuje traumu pacijentu i visoka sigurnost, čine UTZ široko primjenjivim.[12]

Kompjutorizirana tomografija (CT) koristi se za dijagnosticiranje stanja koja smanjuju difuznu gustoću jetre. Snimanje se također koristi kako bi se prikazala distribucija infiltracije jetrenih masnoća, grubo određuje stupanj difuzne masne jetre i ukazuje na prisutnost ili odsutnost ciroze. [12]

Dinamički spiralni CT jetre izvodi se kako bi se detektirale jetrene imbibicije jodnim kontrastnim sredstvom. CT angiografija sve više zamjenjuje klasičnu angiografiju zbog svoje visoke osjetljivosti i specifičnosti.

Treća po redu radiološka pretraga je magnetna rezonancija (MR) ona omogućuje praćenje prolaska kontrasnog sredstva kroz pojedine dijelove jetre te pokazuje kontrastni prikaz jetrenih krvnih žila.

Posljednja metoda koja se koristi je angiografija celijačnog trunkusa s prikazom venske faze koja omogućava dobar prikaz portalne cirkulacije. Također, razvojem digitalne suptrakcijske angiografije omogućeno je snimanje kontrastnim sredstvom. Kontrastno sredstvo koje se često koristi je kelat mangana koji se selektivno nakuplja isključivo u normalnim jetrenim stanicama.[3]

Endoskopija je postupak koji se koristi za pregledavanje probavnog trakta osobe. Korištenjem endoskopa, fleksibilne cijevi sa svjetlom i fotoaparatom, liječnik može pregledati gornji dio probavnog trakta. Ovaj postupak se koristi kako bi se utvrdila mogućnost varikozitetnost jednjaka i portalne hipertenzivne gastropatije.[13]

Scintigrafija galijevim citratom je nuklearnomedicinska pretraga koja se često upotrebljava kod identificiranja žarišnih promjena jetre. Galij posjeduje svojstvo da se pojačano nakuplja u tkivima čije se stanice ubrzano umnožavaju kao što je slučaj kod tumorskih stanica.

Ova pretraga se koristi u dijagnostici primarnog hepatocelularnog karcinoma u cirotično promijenjenoj jetri i u praćenju bolesnika nakon kirurškog zahvata na jetri koji je vršen zbog karcinoma iste.[3][14]

Posljednja vrsta dijagnostičkih pretraga je histološka pretraga, koja je od ključne važnosti kod bolesnika s nejasnom simptomatologijom, te je kod takvih bolesnika potrebno je napraviti biopsiju jetre. Biopsija jetre je najbolja metoda u dijagnostici mnogih jetrenih bolesti, a ona omogućuje patohistološku i biokemijsku analizu uzoraka jetrenog tkiva što omogućuje uspostavljanje prave dijagnoze difuznih i žarišnih promjena u jetri, te promjena žučnih kanalića. Postupak se provodi u lokalnoj anesteziji.[12][14]

1.3 GENETSKI FAKTORI KAO ČIMBENICI U CIROZI JETRE

Tijelo metabolizira samo određenu količinu alkohola po jedinici vremena, no to ne ovisi o količini popijenog alkohola, već količina koju će tijelo metabolizirati varira među pojedincima i ovisi o nizu čimbenika, uključujući veličinu jetre, tjelesnu masu ali i pojedine genske varijante.

Neka istraživanja pokazuju da različiti ljudi nose različite varijacije enzima ADH i ALDH, te se njihove varijacije mogu pratiti u istom genu. Neke od ovih enzimskih varijanti rade više ili manje učinkovito od drugih; to znači da neki ljudi mogu brže od drugih razgraditi alkohol do acetaldehida ili acetaldehida u acetat. Brzi enzimi ADH ili spori enzim ALDH mogu uzrokovati nakupljanje toksičnog acetaldehida u tijelu, stvarajući opasne i neugodne učinke koji također mogu utjecati na rizik pojedinca od različitih problema povezanih s alkoholom, kao što je razvoj alkoholizma. Visoke razine reaktivnog kisika koje nastaju metaboliziranjem alkohola smanjuju antioksidacijsku aktivnost, što dovodi do oksidativnog oštećenja proteina, lipida i DNA, koji služe kao antigeni za izazivanje imunološkog odgovora domaćina što može dovesti do mutageneze i kancerogenosti.

Pokazalo se da određena vrsta ADH i ALDH koje pojedinac nosi utječe na to koliko on ili ona pije, što pak utječe na njegov ili njezin rizik za razvoj alkoholizma. Visoka razina acetaldehida

čini piće neugodnim, što dovodi do crvenila lica, mučnine i ubrzanog otkucaja srca što se može primjetiti čak i kada se konzumira samo umjerena količina alkohola. Prema tome, ljudi koji nose varijante gena za brzi ADH ili spor ALDH, koji odgađaju obradu acetaldehida u tijelu, mogu piti manje i stoga su donekle "zaštićeni" od alkoholizma.[1][6][14]

Osim s alkoholizmom, mnogi genetski polimorfizmi povezani su s ranim početkom alkoholne bolesti jetre uključujući alkoholnu cirozu jetre. Tako je primjerice nekoliko studija sugeriralo moguću uključenost genetskih polimorfizama gena CYP2E1, APOE i FABP2 s višom aktivnošću enzima i akumulacijom toksičnih tvari, kao što je acetaldehid, koji oštećuje tkivo jetre.[25][26][27][28] No, međutim sva istraživanja su dokazala kako su enzimi koji metaboliziraju alkohol uključeni u sklonost pojedinca prema alkoholizmu, ali ne i na alkoholnu bolest jetre, jedino su Pirmohamed i suradnici pokazali značajno povećanje učestalosti alela CYP2E1 * c2, gena CYP2E1, kod ALD pacijenata u usporedbi sa kontrolama. [29]

Neke studije su ukazale na povezanost ljudske rase i pojavnost određenog alela u bolesnika, pa je tako zanimljivo je da je alel APOE * 2 vrlo čest u bijelaca, dok alel CYP2E1 * c2 prevladava među stanovništvom Srednje i Južne Amerike.[24]

Table 1 Genetic polymorphisms associated with alcohol dependence, alcohol abuse and liver disease

Gene	Risk allele	Association	Population	Ref.
Alcohol-metabolizing enzymes				
CYP2E1	CYP2E1*c2	Higher susceptibility to LC; decompensated liver function	Mexican (Mestizo), West Mexico	[110]
ADH1B	ADH1B*2	Higher risk to LC	Japanese	[111]
ADH1B	ADH1B*1	Alcohol dependence	European, Asian	[112-114]
ALDH2	ALDH2*1	Higher susceptibility to LC	Japanese	[111]
Alcohol dependence genes				
DRD2	Taq I A1	Alcohol dependence	European, East Asian	[115]
TAS2R38	AVV haplotype	Higher alcohol intake	Mexican, (Mestizo), West Mexico	[39]
Lipid metabolism				
APOE	APOE*2	Hypertriglyceridemia and increased development of early LC	Mexican (Mestizo), West Mexico	[36]
FABP2	Ala54	Earlier onset of LC	Mexican (Mestizo), West Mexico	[116]
PNPLA3	M148	Alcoholic liver disease and clinically evident LC	Mixed European and Native American, Mexico City	[117,118]
PPAR-γ2	Ala12	Increased risk to develop severe steatohepatitis and fibrosis	German	[119]
Immune response				
TNF-α	-238 A	Higher prevalence of LC	Spanish	[120]
NF-KB	ATTG deletion	Higher prevalence of LC	Spanish	[121]
CXCL1	rs4074 A	Higher prevalence of LC	German	[122]
CD14	-159 T	Advanced liver disease, hepatitis and especially with LC	Finnish	[123,124]

LC: Liver cirrhosis.

Slika 3. Prikazani su neki od genetski polimorfizama za koje se smatra da su povezani sa ovisnošću o alkoholu i bolestima jetre. [Omar Ramos-Lopez, Erika Martinez-Lopez, Sonia Roman, Nora A Fierro, Arturo Panduro. **Genetic, metabolic and environmental factors involved in the development of liver cirrhosis in Mexico;** *World J Gastroenterology* 21(41):**11552-11566.** Published online Nov 7, 2015.]

Jedan od genetski određenih čimbenika koji utječe na rizik za alkoholnu cirozu jetre je i ženski spol. Tako je poznato da žene razvijaju cirozu pri manjem unosa alkohola nego li muškarci. Moguće obajašnjenje je da žene imaju višu koncentraciju alkohola u krvi zbog manjeg volumena distribucije alkohola uslijed manjeg indeksa tjelesne mase, te zbog većeg udjela masnog tkiva u organizmu u odnosu na muški spol. Pojedini dokazi upućuju i na sam mehanizmima razvoja bolesti, te je na životinjskom modelu pokazano da estrogen povećava propusnost crijeva za endotoksine zbog čega se poveća stanični odgovor, zatim broj receptora na Kupfferovim stanicama što vodi do povećane proizvodnje TNF-α i upalnog odgovora. [23]

1.4 ANGIOTENZIN I – KONVERTIRAJUĆI ENZIM

Angiotenzin I – konvertirajući enzim (ACE) je primarna katalitička proteaza u renin – angiotenzin sustavu, te je odgovoran za koverziju Angiotenzina I u Angiotenzin II koji je snažan vazokonstriktor, te stimulira lučenje aldosterona. ACE enzim također može inaktivirati bradikinin koji je snažan vazodilatator. Sustav renin-angiotenzin (RAS) je cirkulatorni sustav primarno uključen u regulaciju krvnog tlaka i serumskih elektrolita. Pokazalo se da RAS ima ulogu u patogenezi nekoliko bolesti, uključujući fibrozu srca, bubrega, pluća i jetre. Tijekom kronične upale putem regulacije staničnog rasta, oksidativnog stresa i angiogeneze posreduje u regulaciji volumena krvi, arterijskog tlaka, srčane i vaskularne funkcije i metabolizma elektrolita.[15]

Povišene razine renalnog ACE-a sveobuhvatno su proučavane u vezi s razvojem kardiovaskularnih bolesti i kod ljudi i kod glodavaca. Koncentracija angiotenzin I – konvertirajućeg enzima u serumu i u tkivima se mijenja ovisno o insercijsko/delecijskom (I/D) polimorfizmu koji je odbovoran za 14-50% interindividualne varijabilnosti enzima, pa je tako delecija 287-bp fragmenta introna 16 na jednom ili oba alela zaslužna za povišenu koncentraciju enzima u krvi. [16] [17]

Insercija ili delecija određenog dijela ACE gena rezultira jednim od tri moguća genotipa: DD homozigot, II homozigot i ID heterozigot. Istraživanja su pokazala kako osobe nosioci homozigotnog D/D genotipa u odnosu na osobe sa genotipom I/I imaju dva puta viši rizik infarkta miokarda ili moždanog udara.[17][18]

1.5 ACE GEN

ACE gen nalazi se unutar kromosomske regije 17q23 i sadrži 26 egzona i 25 introna koji su veličine od 88 do 481 bp, te je dugačak 21 kb. Kodirajuća DNA sastoji se od 4020 bp.
ACE gen se nalazi u jednoj kopiji humanog haploidnog genoma, te su na njemu prisutna dva promotorska mjesta. Prvi je somatski promotor koji se nalazi na 5´ kraju prvog egzona, a drugi je germinativni intragenski promotor smješten na 5´ kraju specifične testikularne glasničke ACE RNA. Oba promotora specifična su za određene stanice, pa je tako somatski promotor aktivan u endotelnim, epitelnim i živčanim stanicama, dok je germinativni promotor aktivan isključivo u određenom stadiju razvoja muških spolnih stanica.[18]
Kolika će biti koncentracija ACE u serumu i tkivima ovisi o prisutnosti I/D polimorfizma za kojega se smatra da je odgovoran za 14-15% interindividualne varijabilnosti aktivnosti enzima, pa je stoga delecija dijela introna 16 na jednom ili oba alela odgovorna za povišenu koncentraciju enzima u krvi. te zato koncentracija ACE u serumu i tkivima varira ovisno o I/D polimorfizmu. [16]

1.6 POVEZANOST ANGIOTENZIN I – KONVERTIRAJUĆEG ENZIMA SA ALKOHOLNOM CIROZOM JETRE

Sustav renin – angiotenzin je fiziološki regulator krvnog tlaka, ravnoteže elektrolita i fluidne homeostaze. Međutim, on je također uključen u disfunkciju organa i kronično oštećenje tkiva, putem vazoaktivnih i profibrotičkih učinaka angiotenzina II, glavnog efektorskog oktapeptida, te u patogenezi fibroze jetre i portalne hipertenzije.
Dosadašnja istraživanja serumske aktivnosti ACE-a su pokazala da se aktivnost ovog enzima mijenja u različitim bolestima jetre. Schweisfurth i Wenze prvi su dokazali promjenu serumske aktivnosti ACE-a u bolesnika s virusnim hepatitisom i u bolesnika s cirozom jetre.
Ovi rezultati ukazuju na mogućnost kliničke primjene određivanja serumske aktivnosti ACE kao jednog od tumorskih obilježivača za ranu detekciju hepatocelularnog karcinoma, posebice u skupini bolesnika s cirozom jetre. [20]

2. CILJ RADA

Iako je konzumacija alkoholna nužan čimbenik u razvoju alkoholne bolesti jetre, činjenica da manje od 20% osoba koje prekomjerno konzumiraju alkohol razvije cirozu jetre ukazuje na značaj genetičkih čimbenika u razvoju bolesti. Istraživanja pokazuju da sustav renin-angiotenzin ima ulogu u patogenezi bolesti jetre, a produkt ACE gena važna je sastavnica i regulator ovog sustava. Dio molekularno-genetičkih studija u ovom području nije pokazao značajnu povezanost između polimorfizma I/D ACE gena i ciroze jetre dok su, s druge strane, pojedina istraživanja sugerirala vezu između ovog polimorfizma s obzirom na spol.

Stoga je cilj ovoga rada bio utvrditi sljedeće:

- postoji li značajna razlika u učestalosti genotipova i alela za I/D polimorfizam ACE gena između odboljelih od alkoholne ciroze jetre i kontrolnih ispitanika
- postoji li značajna razlika u učestalosti genotipova i alela za I/D polimorfizam ACE gena s obzirom na spol u skupinama ispitanika
- ima li gen za angiotenzin I – konvertirajući enzim ulogu u predispoziciji za alkoholnu cirozu jetre

3. ISPITANICI I METODE RADA

3.1 ISPITANICI

U ovom istraživanju sudjelovalo je 128 ispitanika oboljelih od alkoholne ciroze jetre, od toga 106 (82,8%) muškaraca i 22 (17,2%) žena. Svi ispitanici žive u Primorsko-goranskoj županiji te su bili zaprimljeni na odjel Interne klinike Kliničkog bolničkog centra Rijeka. Svi bolesnici konzumirali su alkohol u količinama većim od 80 g/dan kroz razdoblje od 5 i više godina.

Kontrolnu skupinu činilo je 128 zdravih, dobrovoljnih darivatelja krvi na Zavodu za transfuziju KBC Rijeka također sa područja Primorsko-goranske županije. Dobrovoljni darivatelja krvi nisu u srodstvu, klinički su zdravi i nemaju bolest jetre ili anemiju, te su usklađeni prema spolu s bolesnicima s alkoholnom cirozom jetre. Njihovi DNA uzorci pohranjeni su u DNA bazi Laboratorija za molekularnu genetiku Zavoda za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta u Rijeci.

Svi ispitanici su bili upoznati s istraživanjem a nakon potpisivanja informiranog pristanka odobrenog od etičke komisije ustanove u kojima su prikupljeni uzorci anketirani su i izvađena im je krv za potrebe istraživanja poštujući bioetičke principe te je osigurana privatnost ispitanika uključenih u istraživanje.

3.2 METODE RADA

Svakom od ispitanika izvađeno je 3-6 ml periferne krvi te je ista zamrznuta u epruvetama s antikoagulansom (EDTA) na -20°C do DNA izolacije.

3.3 IZOLACIJA DNA

Za molekularno-genetičku analizu izolirali smo genomsku DNA iz periferne krvi ispitanika pomoću komercijalnog kita za izolaciju (FlexiGene DNA Kit, Qiagen), prema uputama proizvođača. Izolirana DNA pohranjena je na -20°C na Zavodu za biologiju i medicinsku genetiku Medicinskog fakulteta u Rijeci.

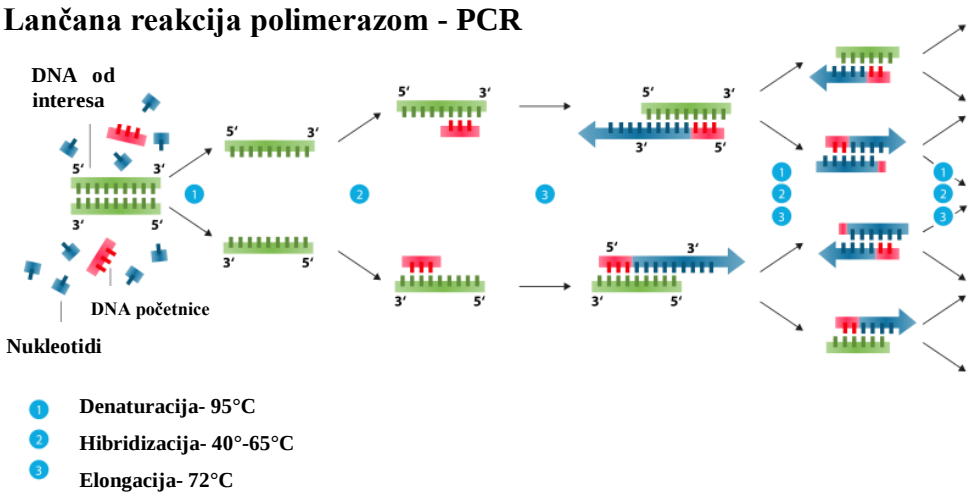
3.4 LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM- PCR

Lančana reakcija polimeraze (PCR) je laboratorijska tehnika koja se koristi za kloniranje specifičnih ili ciljanih dijelova DNA.

Kako bi se PCR reakcija odvila potrebne su dvije kratke DNA sekvence nazvane početnice koje se vežu na početak i kraj DNA od interesa, zatim potrebno je dodati slobodne nukleotide i magnezijeve ione koji za svoju aktivnost trebaju enzim nazvan DNA polimeraza, te reakcijski pufer. Najčešće se upotrebljava Taq polimeraza, to je termostabilna polimeraza izolirana iz termofilnih bakterija. Uzorci za PCR se pripremaju po točno određenom protokolu te se nakon dodatka svih potrebnih sastavnica uzorci stavljaju u uređaj na analizu.

PCR reakcija se odvija u tri stupnja:

1. Denaturacija - ovaj proces se odvija pri 95°C gdje se dvostruka uzvojnica DNA razdvaja na dvije jednolančane uzvojnice pod utjecajem visoke temperature
2. Hibridizacija – druga faza PCR reakcije; početnice se vezuju na 3´kraj jednolančane DNA; ova reakcija se odvija na temperaturama od 40°C do 65°C
3. Elongacija – zadnja faza PCR reakcije odvija se pri 72°C gdje Taq polimeraza počinje sintetizirati novi lanac DNA



Slika 4. Shematski prikaz lančane reakcije polimerazom – PCR [https://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction]

3.5 ELEKTROFOREZA

Elektroforeza na agaroznom gelu je najlakši i najpopularniji način odvajanja i analize DNA. Molekule DNA razdvajaju na temelju naboja primjenom električnog polja, te tako kraće molekule lakše migriraju i kreću se brže kroz pore gela od dužih molekula. Za pripremu 2%-tnog agaroznog gela koristilo se 1 g agaroze i 50 ml TAE pufera. Elektroforeza se može upotrijebiti kako bi se kvantificirao ili izolirao određeni fragment DNA. Vizualizacija se može postići dodavanjem etidij bromida u gel koji postaje vidljiv nakon što gel obasjamo ultraljubičastim svjetlom.

Većina agaroznih gelova nastaje između 0,7% i 2% agaroze. 0,7% gel pokazat će dobro odvajanje za velike fragmente DNA (5-10kb) dok će 2% gel pokazati dobru razlučivost za male fragmente s rasponom veličina od 0.2-1kb.

3.6 ANALIZA I/D POLIMORFIZMA ACE GENA

Prilikom analize korišten je termocikler za lančanu reakciju polimerazom a potom smo utvrdili prisutnost I/D polimorfizma u ACE genu. Korištene početnice te reakcijska smjesa za konačni volumen od 10 µl dane su u tablicama 1. i 2.

Tablica 1. Slijed oligonukleotida u početnicama i njihova temperatura vezivanja

POČETNICE	SLIJED OLIGONUKLEOTIDA (5´- 3´)	Ts (°C)
ACE- *forward*	CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT	60,0
ACE- *reverse*	GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT	60,0

Tablica 2. Reakcijska smjesa za konačni volumen od 10 µl

Stok	Količina za 1 uzorak (10 µl)
10 x PCR pufer	1,00 µl
25 mM MgCl	0,60 µl
10 mM dNTP	0,20 µl
10 x primer ACE - F	0,50 µl
10 x primer ACE - R	0,50 µl
Bidestilirana voda	6,57 µl
Taq polimeraza	0,13 µl
DNA	0,50 µl

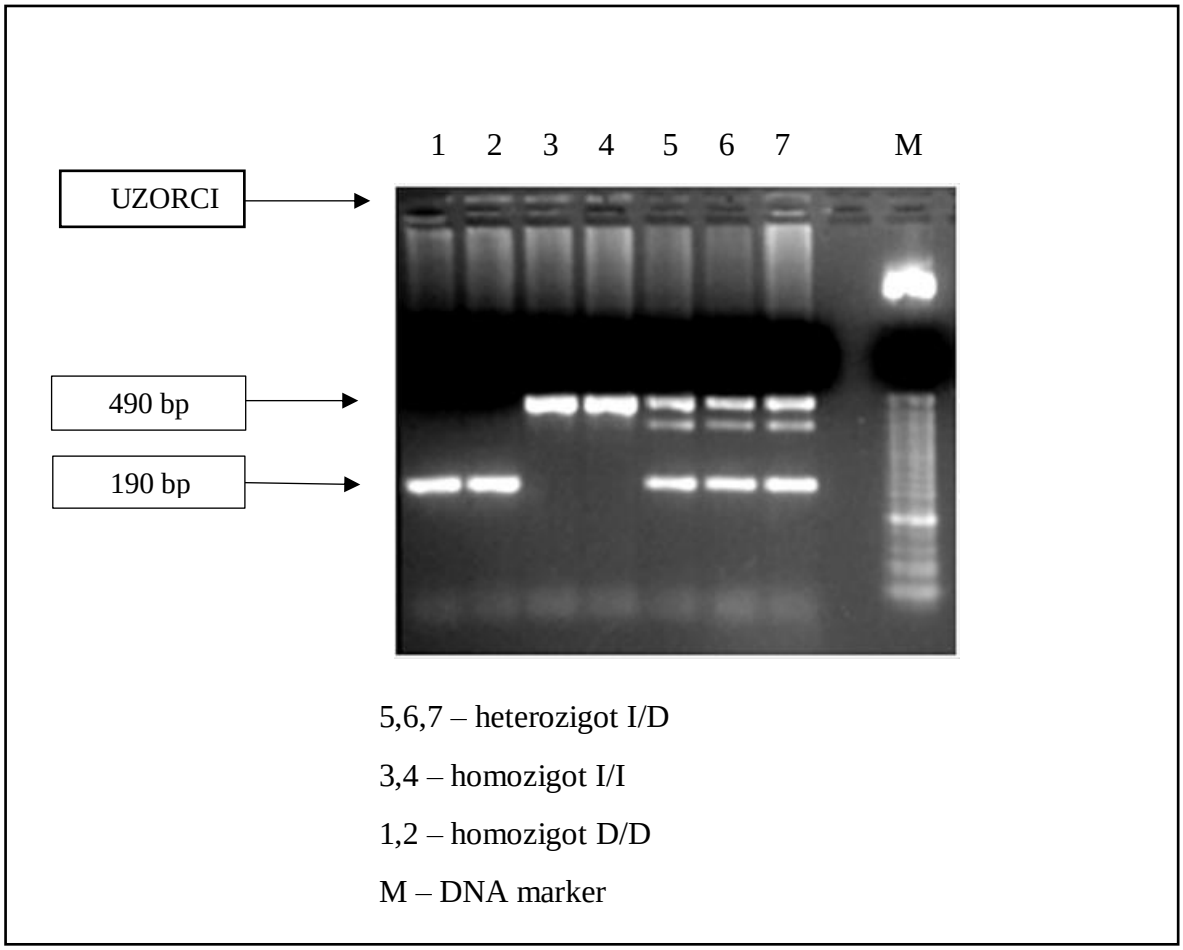
Reakcija se odvijala u tri koraka i 30 ciklusa. Denaturacija ciljane DNA se odvijala na 94°C kroz 1 minutu, vezivanje početnica na 60°C također 1 minutu, te sinteza novog lanca DNA na 72°C kroz 2 minute.

Razdvajanje umnoženih fragmenata vrši se elektroforezom na 2%-tnom agaroznom gelu u koji je dodano 2,5 µl etidij bromida. PCR produktu dodamo brom-fenol modrilo te se tako pripremljen uzorak nanosi u jažice gela zajedno sa pozitivnom ili negativnom kontrolom.

Elektroforeza se provodi 45 minuta na 80 V u 1xTBE puferu nakon čega se izvadi iz pufera i fotografira pod UV svjetlom.

Polimorfizam I/D u intronu 16 ACE gena je najzastupljeniji polimorfizam. Taj polimorfizam se temelji na umetanju ili odsutnosti 287-bp Alu sekvence, što dovodi do promjene razine ACE u plazmi.

Budući da ljudi imaju dvije kopije svakog gena, svaki pojedinac može imati dva I alela (II), dva D alela (DD) ili jedan alel svakog (ID), te su tako nakon vizualizacije gela vidljiva tri moguća genotipa (slika): II genotip – vidljiv kao fragment od 490 bp, DD genotip - vidljiv kao fragment od 190 bp i ID genotip – vidljiva su dva fragmenta, jedan od 190 bp i jedan od 490 bp.



Slika 5. Gel elektroforeza: identifikacija I/D polimorfizma u ACE genu

3.7 STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

Statistička analiza provedena je računalnim programom Statistica for Windows 13.3. za koju Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci posjeduje licencu.

Kako bi odredili učestalost pojedinog genotipa i alela u oboljelih od alkoholne ciroze jetre u usporedbi s kontrolnim ispitanicima, te kako bi oboljele ispitanike usporedili po spolu korišten je χ^2- test i Fisherov egzaktni test.

4. REZULTATI

U ovom istraživanju sudjelovalo je 128 bolesnih i 128 zdravih ispitanika iz Republike Hrvatske. Ispitanici su uspoređivani međusobno kao bolesnici i kontrole te po spolu. Od ukupnog broja oboljelih bilo je 106 (82,8%) muškaraca i 22 (17,2%) žene. Utvrđeno je prisustvo 39 (30,5%) homozigota genotipa II, 54 (42,2%) heterozigota sa genotipom ID te 35 (27,3%) drugih homozigota genotipa DD.

Tablice 3. i 4. prikazuju učestalost određenog ACE genotipa kod oboljelih i zdravih ispitanika, te frekvenciju pojedinog alela u ove dvije skupine ispitanika.

Utvrđeno je kako ne postoji statistički značajna razlika ($p \geq 0,05$) između dviju skupina u pojavnosti određenog ACE genotipa kao ni u frekvenciji ACE I/D alela ($p=0,930$).

Tablica 3. Učestalost određenog ACE genotipa kod oboljenih od alkoholne ciroze jetre (N=128) te kontrolnih ispitanika (N=128)

Genotipovi	**Bolesnici**		**Kontrola**		**OR (95% CI)**	**p**
	N	**%**	**N**	**%**		
II	**39**	**30,5**	**32**	**25**	**1,31 (0,76-2,28)**	**0,329**
ID	**54**	**42,2**	**67**	**52,3**	**0,66 (0,41-1,09)**	**0,104**
DD	**35**	**27,3**	**29**	**22,7**	**1,28 (0,73-2,27)**	**0,387**
Ukupno	**128**		**128**			

Tablica 4. Frekvcija alela I i D ACE gena (%) u oboljelih od alkoholne ciroze jetre (N=128) te kontrolnih ispitanika (N=128)

Aleli	**Bolesnici N (%)**	**Kontrola N (%)**	**Ukupno %**	**OR (95% CI)**	**p**
I	51,6	51,2	51,4	1,016 (0,72-1,44)	0,930
D	48,4	48,8	48,6	0,985 (0,70-1,39)	0,930

U Tablici 5. prikazana je usporedba bolesnika prema spolu. Od 106 oboljelih muškaraca koji su bili uključeni istraživanje u njih 45 (42,4%) je dokazana prisutnost oba alela odnosno ti muškarci su nosioci ID genotipa, te su heterozigoti, kod njih 32 (30,2%) utvrđeno je postojanje dva ista alela, II genotipa pa su oni stoga homozigoti i u njih 29 (27,4%) je utvrđen homozigotni DD genotip.

Istraživanju su pristupile 22 oboljele žene od kojih su njih 9 (40,9%) bile heterozigoti odnosno nosioci ID genotipa, zatim kod 7 (31,8%) žena je utvrđen II genotip, te je kod preostalih 6 (27,3%) žena dokazan DD genotip što ih čini homozigotima. Ni u ovoj usporedbi nije dokazana statistički značajna razlika između dvije skupine ($p \geq 0,05$).

Tablica 5. Učestalost određenog ACE genotipa u oboljelih od alkoholne ciroze jetre prema spolu

Genotipovi	**Muškarci**		**Žene**		**Ukupno**		**OR (95% CI)**	**p**
	N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**		
II	32	30,2	7	31,8	39	30,5	0,93 (0,34-2,49)	0,880
ID	45	42,4	9	40,9	54	42,2	1,06 (0,42-2,71)	0,894
DD	29	27,4	6	27,3	35	27,3	1,00 (0,36-2,82)	0,993
Ukupno	106 (82,8%)		22 (17,2%)		128			

U Tablici 6. prikazana je pojavnost odnosno frekvencija pojedinog I i D alela kod oboljelih muškaraca i žena. Frekvencija I alela kod muškaraca izlosi 51,4%, a kod žena 52,3%, dok frekvencija D alela kod muškaraca iznosi 48,6%, kod žena je to 47,7%.
Nije utvrđena statistički značajna razlika u frekvenciji alela između dviju skupina (p=0,917).

Tablica 6. Frekvencija alela I i D ACE gena (%) u oboljelih od alkoholne ciroze jetre prema spolu

Aleli	**Muškarci; N=106 %**	**Žene; N=22 %**	**Ukupno %**	**OR (95% CI)**	**p**
I	51,4	52,3	51,8	0,96 (0,50-1,85)	0,917
D	48,6	47,7	48,2	1,04 (0,54-1,98)	0,917

U Tablici 7. prikazana je pojavnost pojedinog ACE genotipa u kontrolnih ispitanika prema spolu. U istraživanju je sudjelovalo 128 kontrolnih ispitanika od kojih 106 (82,8%) muškaraca i 22 (17,2%) žene. Kod muškaraca je bilo 54 prisutna heterozigota odnosno nositelja ID genotipa, a kod žena 13. Jednog homozigota sa genotipom II je kod muškaraca bilo 25, a kod žena 7, dok je drugog homozigota sa genotipom DD kod muškaraca bilo 27, a kod žena 2. Također nije utvrđena značajna statistička razlika ($p \geq 0,05$).

Tablica 7. Učestalost određenog ACE genotipa u kontrolnih ispitanika (N=128) prema spolu

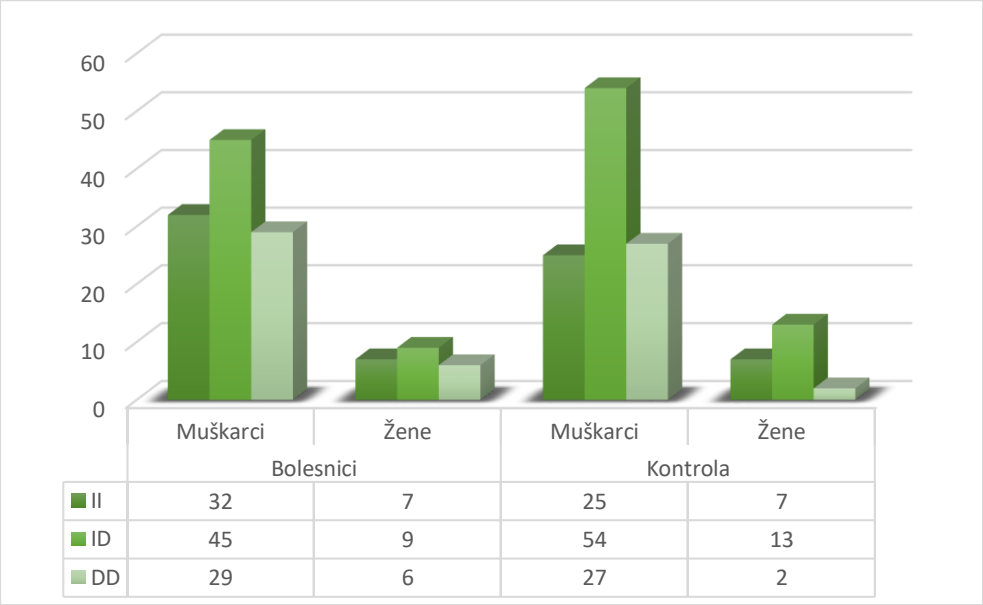
Genotipovi	**Muškarci**		**Žene**		**Ukupno**		**OR (95% CI)**	**p**
	N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**		
II	25	23,4	7	31,8	32	25,0	0,66 (0,24-1,80)	0,419
ID	54	50,1	13	59,1	67	52,3	0,72 (0,28-1,82)	0,487
DD	27	25,5	2	9,1	29	22,7	3,42 (0,75-15,59)	0,113
Ukupno	106 (82,8%)		22 (17,2%)		128			

Tablica 8. prikazuje frekvenciju I odnosno D alela ACE gena kod kontrolnih ispitanika. Frekvencija I alela kod muškaraca iznosi 49,1%, a kod žena 61,4%, dok frekvencija D alela kod muškaraca izlosi 50,9%, a kod žena samo 38,6%. Razlika nije statistički značajna (p=0,139).

Tablica 8. Frekvencija alela I i D ACE gena (%) u kontrolnih ispitanika (N=128) prema spolu

Aleli	**Muškarci; N=106 %**	**Žene; N=22 %**	**Ukupno %**	**OR (95% CI)**	**p**
I	49,1	61,4	55,3	0,61 (0,31-1,18)	0,139
D	50,9	38,6	44,7	1,65 (0,85-3,21)	0,139

Prikaz slike 5. objedinjuje učestalost svih ACE genotipova u 128 bolesnika s alkoholnom cirozom jetre i isto toliko kontrolnih ispitanika prema spolu, pri čemu kao što je prethodno prikazano u tablicama 5. i 7. nije utvrđena statistički značajna razlika (p≥0,05).



Slika 6. Učestalost određenog ACE genotipa u oboljelih od alkoholne ciroze jetre (N=128) i kontrolnih ispitanika (N=128) prema spolu

5. RASPRAVA

Ciroza jetre je kronična bolest jetre obilježena oštećenjem parenhima jetre, stvaranjem fibroznih ožiljaka i progresivnim propadanjem jetrene funkcije. Ta je bolest peti uzrok smrti kod osoba u dobi od 45 do 65 godina, a procjenjuje se da u Hrvatskoj godišnje zbog ciroze jetre umire 600-800 ljudi. Jedan od osnovnih razloga naglog napredovanja bolesti jetre, kasna je dijagnoza bolesti i zanemarivanje važnosti općih biokemijskih analiza koje treba obaviti na samom početku bolesti. Na početak, napredovanje i klinički ishod ciroze jetre utječu i genetski čimbenici uključujući polimorfizme gena koji su povezani s određenim etničkim porijeklom i čimbenicima okoliša, kao što je način života. [1][18] ACE gen je jedan od gena uključenih u regulaciju renin-angiotenzin sustava koji se povezuje s patogenezom bolesti jetre.

Već u prvom istraživanju koje su proveli Rigat i suradnici [21] uspjeli su identificirati i ukazati na značaj poliformnog DNA biljega, insercijsko/delecijskog (I/D) polimorfizam, koji se nalazi unutar introna 16 ACE gena. I/D polimorfizam predstavlja 47% ukupne fenotipske varijacije serumskog ACE-a, pokazujući da je lokus ACE gena glavno mjesto koje određuje koncentraciju ACE u serumu. Nakon toga usljedila su i mnoga druga istraživanja u većini kojih je dokazano kako nositelji genotipa DD imaju dva puta višu koncentraciju plazmatskog ACE, te ujedno veći rizik za oboljenje.

Cilj istraživanja postavljen je kako bi utvrdili postoji li genska predispozicija za nastanak alkoholne bolesti jetre, postoji li statistički značajna razlika u učestalosti ACE I/D genotipova i alela među oboljelima od alkoholne ciroze jetre i kontrolnih ispitanika, te razlikuju li se frekvencije gena i alela oboljeli po spolu.

Neke od provedenih genetičkih studija u ovom području nisu pokazale korelaciju polimorfizma I/D ACE gena s alkoholnom ciroze jetre dok su, s druge strane, pojedina istraživanja sugerirala vezu ovog polimorfizma s obzirom na spol. Tako je pokazano kako žene nosioci I/I genotipa imaju pet puta veću vjerojatnost ciroze jetre nego nositeljice I/D heterozigotnog i D/D homozigotnog genotipa.[18][30] Nadalje, utvrđena je povezanost ACE gena s rizikom hepatocelularnog karcinoma (HCC). U jednom istraživanju provedenom u bolesnika s alkoholnom cirozom jetre utvrđena je značajno viša učestalost nosioca I alela među bolesnicima koji su imali varikozitete jednjaka [31]. Navedeno ukazuje na potrebu daljnjih istraživanja ove problematike.

U naše istraživanje je bilo uključeno 128 ispitanika oboljelih od alkoholne ciroze jetre i 128 kontrolnih ispitanika iz opće populacije. Rezultati su pokazali kako nema statistički značajne razlike ($p \geq 0,05$) u frekvenciji ACE I/D genotipova i alela među oboljelim i zdravim ispitanicima, pri čemu je heterozigotni ID genotip najviše zastupljen (42,3% i 52,3%). Gledajući usporedbu muškaraca i žena za ACE I/D genotipove i alele razlike gotovo da i nema, pojavnost određenog genotipa je sličnih vrijednosti ($p=0,880$ do 0,993). Slične rezultate studije dobili su i Turhan i suradnici [18] u čije je istraživanje bilo uključeno 418 ispitanika koji su imali fibrozu jetre različite etiologije, te također nisu uočili statistički značajnu razliku među ispitanicima osim što je pojavnost ID genotipa bila veća od pojavnosti II i DD genotipova.

Na kraju možemo reći kako dobiveni rezultat ne ukazuju na povezanost ACE I/D polimorfizma s alkoholnom cirozom jetre u našem uzorku ispitanika, premda valja napomenuti da se radi o relativno malom broju ispitanika, te bi za konačne zaključke istraživanje valjalo provesti na većem broju bolesnika iz različitih populacija.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata istraživanja uloge ACE I/D polimorfizma na genetsku podložnosti pojedinca za razvoj alkoholne ciroze jetre došli smo do sljedećih zaključaka:

1. Učestalost ACE I/D genotipova u oboljelih od alkoholne ciroze jetre se nije značajno razlikovala od učestalosti kod kontrolnih ispitanika ($p \geq 0,05$)
2. Frekvencija ACE I i D alela se također nije statistički značajno razlikovala između skupine bolesnika s alkoholnom cirozom jetre i kontrolnih ispitanika ($p=0,930$)
3. Učestalost ACE genotipova i alela među bolesnim muškarcima i ženama također nije pokazala statistički značajnu razliku obzirom na spol ($p \geq 0,05$)
4. I/D polimorfiza ACE gena nema utjecaj na podložnost pojedinca za nastanak alkoholne ciroze jetre

7. LITERATURA

[1] Omar Ramos-Lopez, Erika Martinez-Lopez, Sonia Roman, Nora A Fierro, Arturo Panduro. Genetic, metabolic and environmental factors involved in the development of liver cirrhosis in Mexico; *World J Gastroenterology* 21(41):11552-11566. Published online Nov 7, 2015.

[2] http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/bolesti-jetre-i-zuci/fibroza-i-ciroza/ciroza

[3] Božidar Vrhovac, Branimir Jakšić, Željko Reiner, Boris Vucelić. Interna madicina, Naklada Ljevak, Zagreb, 2008.

[4] Arthur C. Guyton, John E. Hall. Medicinska fiziologija, Medicinska naklada , 12. Izdanje, Zagreb, 2012.

[5] https://www.medicalnewstoday.com/articles/305075.php

[6] https://pubs.niaaa.nih.gov/publications/aa72/aa72.htm

[7] Wall TL, Luczak SE, Hiller-Sturmhöfel S., Biology, Genetics, and Environment: Underlying Factors Influencing Alcohol Metabolism. Department of Psychiatry at the University of California, San Diego, California., Alcohol Res. 2016;38(1):59-68.

[8] https://vitamini.hr/zdravlje-z/jetra-i-zuc/alkohol-i-prehrana-2318/

[9] https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/cirrhosis/symptoms-causes/syc-20351487

[10] https://www.aafp.org/afp/2006/0901/p756.html

[11] https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/cirrhosis/diagnosis-treatment/drc-20351492

[12] Joel J. Heidelbaugh, Michael Bruderly, Cirrhosis and Chronic Liver Failure: Part I. Diagnosis and Evaluation. University of Michigan Medical School, Ann Arbor, Michigan. Am Fam Physician. 2006 Sep 1;74(5):756-762

[13] https://www.webmd.com/digestive-disorders/digestive-diseases-endoscopy#1

[14] Johannes Wiegand, Thomas Berg; The Etiology, Diagnosis and Prevention of Liver Cirrhosis; Dtsch Arztebl Int. 2013 Feb; 110(6): 85–91.;Published online 2013 Feb 8. doi: 10.3238/arztebl.2013.0085, Review Article

[15] Yumna Fazal, Syeda Nuzhat Fatima, Syed Muhammad Shahid, Tabassum Mahboob; Effects of curcumin on angiotensin-converting enzyme gene expression, oxidative stress and anti-oxidant status in thioacetamide-induced hepatotoxicity. Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System, 2015,Vol. 16(4) 1046-1051

[16]http://www.medri.uniri.hr/files/FAKULTET/STRUCNA_DJELATNOST/ZAVOD_ZA_BIOLOGIJU_I_MEDICINSKU_GENETIKU/LABORATORIJ_ZA_MOLEKULARNU_GENETIKU/ace.pdf

[17] Syed Muhammad Shahid, Syeda Nuzhat Fatima, Tabassum Mahboob; Angiotensin converting enzyme (ACE) gene expression in experimentally induced liver cirrhosis in rats. Pak J Pharm Sci. 2013 Sep;26(5):853-7

[18] Turhan NK, Ilikhan SU, Hamamcioglu AC, Ustundag Y, Dursun A, Kokturk F. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism (insertion/deletion) and liver fibrosis in Turkish patients from the western Black Sea region, Turkey. Genet Mol Res. 2015 Dec 16;14(4):17079-90.

[19] Christine Hubert, Anne-Marie Houot, Pierre Corvol, Florent Soubrier. Structure of the Angiotensin I-converting Enzyme Gene; The journal of biological chemistry, 1991 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology; Inc Vol. 266, No. 23, Issue of August 15, pp. 15377-15383, 1991 Printed in U.S.A.

[20] Schweisfurth H, Werntze H.; Changes of serum angiotensin i converting enzyme in patients with viral hepatitis and liver cirrhosis. Acta Hepatogastroenterol 1979;26:207- 10

[21] Rigat B[1], Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. J Clin Invest. 1990 Oct;86(4):1343-6.

[22] Benjamin Wedro, MD, FACEP, FAAEM; Anatomy and Function of the Liver; Medically Reviewed on 9/20/2018 https://www.medicinenet.com/liver_anatomy_and_function/article.htm#liver_definition_and_facts

[23] Enomoto N, Yamashina S, Schemmer P i sur. Estriol sensitizes rat Kupffer cells via gut-derived endotoxin. Am J Physiol. 1999;277:G671-7

[24] Mónica Marcela Gaviria C., Biol., MSc ,Gonzalo Correa Arango, MD, María Cristina Navas N., MSc, PhD. Alcohol, Cirrhosis, and Genetic Predisposition; Gastrohepatology Group of the Faculty of Medicine at the Universidad de Antioquia in Medellín, Colombia

[25] Hayashi S, Wantanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphism in the 5`- flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P4502E1 gene. J Biochem. 1991;110:559-65

[26] Wong NACS, Rae F, Simpson KJ, Murray GD; Harrison DJ. Genetic polymorphisms of cytochrome P4502E1 and susceptibility to ALD and hepatocellular carcinoma in a white population: a study and literature review, including meta-analysis. J Clin Pathol Mol Pathol. 2000;53:83-95.

[27] Gordillo-Bastidas E, Panduro A, Gordillo-Bastidas D, Zepeda-Carrillo EA, García-Bañuelos JJ, Muñoz-Valle JF, Bastidas-Ramírez BE; Polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in indigenous Mexican population: unusual high frequency of CYP2E1*c2 allele. Alcohol Clin Exp Res. 2010 Jan; 34(1):142-9.

[28] Hernández-Nazará ZH, Ruiz-Madrigal B, Martínez-López E, Roman S, Panduro A Association of the epsilon 2 allele of APOE gene to hypertriglyceridemia and to early-onset alcoholic cirrhosis. Alcohol Clin Exp Res. 2008; 32(4):559-66.

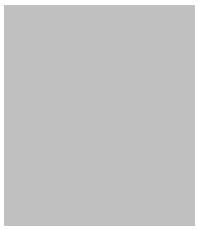
[29] http://www.openthesis.org/documents/Genetic-polymorphism-in-alcohol-dependence-600961-s2.html

[30] Fabris C, Smirne C, Fangazio S, Toniutto P, et al. (2009). Influence of angiotensin-converting enzyme I/D gene polymorphism on clinical and histological correlates of chronic hepatitis C. Hepatol. Res. 39: 795-804.

[31] Coto E1, Rodrigo L, Alvarez R et al. Variation at the Angiotensin-converting enzyme and endothelial nitric oxide synthase genes is associated with the risk of esophageal varices among patients with alcoholic cirrhosis. J Cardiovasc Pharmacol. 2001;38(6):833-9.

8. ŽIVOTOPIS

OSOBNE INFORMACIJE **Iva Pešut**



Škrljevo 59a, 51223, Bakar, Hrvatska

+385 95 808 68 11

iva.pesut12@gmail.com

Spol Žensko | Datum rođenja 01.03.1997.| Državljanstvo Hrvatsko

RADNO ISKUSTVO

04.2019.-danas	Administrativni poslovi- Zagrebačka pivovara d.o.o. (Podružnica Rijeka) Ilica 224 10 000 Zagreb
09.-12.2018.	Administrativni poslovi- Zagrebačka pivovara d.o.o. (Podružnica Rijeka) Ilica 224 10 000 Zagreb
07.-08.2018.	Fakturni odjel / Telesales- Tia partner d.o.o. Kukuljanovo 409 51227 Kukuljanovo
04.-06.2018.	Administrativni poslovi- Zagrebačka pivovara d.o.o. (Podružnica Rijeka) Ilica 224 10 000 Zagreb
2017.-sad	Poduke iz kemije
2016.-2017.	Razne promocije

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

2015.-sad	Medicinski fakultet Rijeka Sanitarno inženjerstvo
2011.-2015.	Gimnazija Andrije Mohorovičića Rijeka

Materinski jezik: Hrvatski

Ostali jezici

	RAZUMIJEVANJE		GOVOR		PISANJE
	Slušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
Engleski jezik	B2	B2	B2	B2	B2

Računalne vještine
- dobro vladanje alatima Microsoft Office™

Vozačka dozvola
- B

DODATNE INFORMACIJE

Izdanja
Prezentacije
Projekti
Konferencije
Seminari
Priznanja i nagrade
Članstva
Preporuke

- sudjelovanje u 1. kongresu Okolišnog zdravlja(2017.)
- sudjelovanje u izradi Eko otoka na Medicinskom fakultetu u Rijeci (2017.)
- sudjelovanje na 1. Ljetnoj školi CSI na Medicinskom fakultetu u Rijeci (2017.)
- član organizacijskog odbora 2. studentskog kongresa Okolišnog zdravlja s međunarodnim sudjelovanjem (2018.)
- sudjelovanje na 3. Ljetnoj školi CSI na Medicinskom fakultetu u Rijeci (2019.)
- predsjednica Organizacijskog odbora 3. studentskog kongresa Okolišnog zdravlja s međunarodnim sudjelovanjem (2019.)